



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Dissertação de Mestrado**

**Determinação voltamétrica do ácido aminometilfosfônico  
(AMPA) em amostras de água**

**Josiely Simões da Silva**

João Pessoa – PB – Brasil

Agosto /2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

## Dissertação de Mestrado

### Determinação voltamétrica do ácido aminometilfosfônico (AMPA) em amostras de água

Josiely Simões da Silva\*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Sherlan Guimarães Lemos

\* Bolsista CNPq

João Pessoa – PB – Brasil

Agosto /2016

S586d Silva, Josiely Simões da.  
Determinação voltamétrica do ácido aminometilfosfônico (AMPA) em amostras de água / Josiely Simões da Silva.- João Pessoa, 2016.  
72f. : il.  
Orientador: Sherlan Guimarães Lemos  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN  
1. Química. 2. Ácido aminometilfosfônico. 3. Glifosato.  
4. Eletrodo de cobre. 5. Eletrodo de cobalto.

UFPB/BC

CDU: 54(043)

## **Folha de Aprovação**

**A Deus**  
**Aos meus pais Edvaldo e Maria das Graças**  
**À meus irmãos Joelly, Edvaldo e Jhomara**  
**A meu noivo Rafael**  
**Aos meus avós**  
**Aos meus amigos**  
**Dedico**

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus, por fortalecer a minha fé nos momentos de fraqueza e dúvidas.

Em especial agradeço aos meus pais, Edvaldo Alves e Maria das Graças, por ser meu modelo de integridade e por toda a educação que me proporcionaram. A eles todo o meu carinho e admiração.

A meu irmão Edvaldo Júnior e sua esposa Priscilla, que me deram muita força, sempre me incentivando com carinho e sempre estiveram presentes nessa caminhada.

As minhas irmãs Joelly e Jhomara pelas sinceras palavras nas horas certas.

A meu noivo Rafael Araújo, pelo carinho, companheirismo, paciência e apoio nessa jornada.

Ao Professor Sherlan Guimarães Lemos, pela orientação, paciência, dedicação e pelos seus conselhos que foram fundamentais para concretizar esta dissertação.

Aos Professores do LEQA, Kátia Messias Bichinho e Teresa Cristina Bezerra Saldanha, pela companhia agradável durante o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço a Emmanuel Uchoa, pela amizade e pela colaboração na concretização desta dissertação.

Agradeço a Carol e Amália por toda força, incentivo e principalmente por nunca me deixarem desistir e por toda a ajuda que fortaleceu e enriqueceu esta dissertação.

Aos Amigos que conquistei e sem dúvida vou levar para a vida inteira pois esta caminhada não seria a mesma sem essas pessoas: Janete, Romário, Tony, Cristiano, Alan, Caio.

Aos amigos de grupo, Dayvison, Aline, Cleilson, Taís, Jefferson e Mikeas, pelo apoio que deram em todo o desenvolvimento do trabalho, no qual dividimos angústias e os momentos felizes.

Aos Amigos de laboratório do LCCQS, LAQA e LACOM que compartilharam direta ou indiretamente da elaboração desse trabalho.

Ao CNPq e PPGQ-UFPB pela bolsa concedida.

“Ainda que eu tivesse o dom da profecia,  
o conhecimento de todos os mistérios e de toda a ciência  
ainda que eu tivesse toda a fé,  
a ponto de transportar montanhas  
se não tivesse o amor,  
eu não seria nada.  
**(I Coríntios 13:3)**

## SUMÁRIO

RESUMO.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XIV
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XV
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivos.....	3
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Herbicidas.....	4
2.2 O glifosato e o ácido aminometilfosfônico (AMPA).....	7
2.3 Determinação eletroquímica de glifosato e AMPA.....	12
<b>3 PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>15</b>
3.1 Reagentes e soluções.....	15
3.2 Instrumentação.....	15
3.3 Limpeza dos eletrodos e ativação da superfície.....	16
3.4. Desenvolvimento do método de determinação.....	17
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1 Determinação voltamétrica do AMPA empregando eletrodo de cobre.....</b>	<b>19</b>
4.1.1 Estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo de cobre por voltametria cíclica.....	19
4.1.2. Desenvolvimento do método voltamétrico de determinação.....	27
<b>4.2. Determinação voltamétrica do AMPA empregando eletrodo de cobalto</b>	<b>33</b>
4.2.1 Estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo de cobalto por voltametria cíclica.....	33
4.2.2. Desenvolvimento do método voltamétrico de determinação.....	37
<b>4.3 Comparação das condições analíticas do método proposto com valores reportados na literatura para a determinação do AMPA.....</b>	<b>46</b>
<b>5. CONCLUSÕES PROPOSTAS FUTURAS.....</b>	<b>47</b>
<b>6. PROPOSTAS FUTURAS.....</b>	<b>48</b>
REFERÊNCIAS.....	49

## RESUMO

Silva, J. S., **Determinação voltamétrica do ácido aminometilfosfônico (AMPA) em amostras de água. 2016. 71 f.** Dissertação de mestrado em química. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

O ácido aminometilfosfônico (AMPA) é o principal metabólito do glifosato, um dos herbicidas mais utilizados no Brasil e no mundo. Muitos estudos apontam os níveis de toxicidade do glifosato e, desta forma, vários países possuem legislações que determinam a quantidade máxima permitida em alimentos. Porém, poucos estendem as restrições ao seu metabólito, desconsiderando seu potencial toxicológico. Nesta pesquisa, foram desenvolvidos métodos voltamétricos de determinação do AMPA utilizando eletrodo de cobre e de cobalto como eletrodos de trabalho. Inicialmente, o comportamento voltamétrico do AMPA no eletrodo de cobre foi estudado em tampão fosfato entre os pH 6,0 e 9,0 e no eletrodo de cobalto, entre os pH 7,0 e 10, utilizando voltametria cíclica. O pH ideal foi 7,0 para ambos os eletrodos considerando a maior sensibilidade na detecção do complexo metal-AMPA. Para a determinação com o eletrodo de cobre a voltametria de onda quadrada foi a técnica escolhida, enquanto que a voltametria de pulso diferencial foi a técnica utilizada para a determinação com eletrodo de cobalto. Os parâmetros das técnicas voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial foram avaliados em pH 7,0 de modo a aumentar a sensibilidade da detecção. Com o eletrodo de cobre foram encontrados limites de detecção e quantificação de  $6,51 \text{ nmol L}^{-1}$  e  $21,7 \text{ nmol L}^{-1}$ , respectivamente, e com o eletrodo de cobalto limites de detecção e quantificação de  $11,7 \text{ nmol L}^{-1}$  e  $39,1 \text{ nmol L}^{-1}$ , respectivamente. A exatidão dos métodos foi avaliada por meio da recuperação aparente em amostras de água potável fortificadas com o AMPA empregado o método da adição de padrão, sem a troca do eletrólito-suporte. As recuperações medias foram de 93% a 104% para o eletrodo de cobre, e 97% a 113% para o eletrodo de cobalto, indicando que ambos os eletrodos podem ser empregados para a determinação do AMPA nesses tipos de amostras.

**Palavras-chave:** química, ácido aminometilfosfônico, glifosato, eletrodo de cobre, eletrodo de cobalto.

## ABSTRACT

Silva, J. S., **Voltammetric determination of Aminomethylphosphonic acid (AMPA) in water samples**. 2016. 71 p. Dissertação de mestrado em Química. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

The aminomethylphosphonic acid (AMPA) it is the main metabolic product of glyphosate, one of most used herbicide in Brazil and worldwide. A lot of studies shows the toxicity level of glyphosate and, in this way, many countries have laws who determines the maximum quantities allowed in food. However, just a few of them extend their restriction to the metabolite, not considering his toxicological potential. In this work, it was developed voltammetric methods of AMPA's determination using cooper and cobalt electrodes as work electrode. Initially, the AMPA's voltammetric behavior on the cooper electrode was studied under phosphate buffer between pH 6,0-9,0 and on cobalt electrode, pH 7,0-10,0, using cyclic voltammetric. The ideal pH was 7,0 for both electrodes considering the highest sensibility on the metal-AMPA complex detection. For the determination with cooper electrode the square wave voltammetric was the chosen technique, while differential pulse voltammetric it was the chosen technique for the determination with cobalt electrode. The parameters of square wave voltammetric and differential pulse voltammetric techniques was evaluated on pH 7,0 to increase the detection sensibility. With the cooper electrode it was found detection and quantification limits of 6.51 nmol L<sup>-1</sup> and 21.7 nmol L<sup>-1</sup>, respectively, and with the cobalt electrode, 11.7 nmol L<sup>-1</sup> and 39.1 nmol L<sup>-1</sup>, respectively. The methods accuracy it was evaluated through apparent recovery on potable water samples fortified with AMPA using the standard addition method, without the change of the support-eletrolyte. The averages recoveries was from 93% to 104% to the cooper electrode, and from 97% to 113% for the cobalt electrode, pointing that both electrodes can be applied to AMPA's determination in water samples.

**Keywords:** Chemistry, aminomethylphosphonic acid, glyphosate, cooper electrode, cobalt electrode.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Dados de comercialização brasileira dos agrotóxicos distribuídos por classe. Fonte: BRASIL (2013). .....	6
<b>Figura 2</b> – Quantidade de ingredientes ativos nos herbicidas comercializados no Brasil em 2013. Fonte: BRASIL (2013). .....	6
<b>Figura 3</b> – Fórmula estrutural do herbicida glifosato.....	7
<b>Figura 4</b> – Clivagem da ligação fósforo-carbono por ação bacteriana. Pi: fosfato inorgânico. Adaptado de SVIRIDOV et al, 2015.....	9
<b>Figura 5</b> – Clivagem oxidativa da ligação carbono-nitrogênio, formando AMPA e glioxilato. FAD <sup>+</sup> : dinucleótido flavina-adenina. Adaptado de SVIRIDOV et al., 2015...	9
<b>Figura 6</b> – Mecanismo de degradação do AMPA. Pi: fosfato inorgânico. Adaptado de SVIRIDOV et al., 2015. ....	10
<b>Figura 7</b> – Fluxos anuais de glifosato e AMPA estimados em algumas cidades de passagem do rio Ruhr. Fonte: MONSANTO, 2012. (Adaptado).....	10
<b>Figura 8</b> – Avaliação da ocorrência de compostos em águas superficiais da Itália. Fonte: MEFFE e BUSTAMANTE, 2014.....	12
<b>Figura 9</b> – Esquema de montagem dos eletrodos de trabalho. A: eletrodo de cobre; B: eletrodo de cobalto. ....	16
<b>Figura 10</b> – Voltamogramas cíclicos obtidos sem polarização do eletrodo de cobre, em tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> pH 7, após sucessivas adições de AMPA. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	20
<b>Figura 11</b> – Voltamogramas cíclicos obtidos após polarização do eletrodo de cobre, em tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> pH 7 e após sucessivas adições de AMPA; $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	20
<b>Figura 12</b> – Relação entre a concentração de AMPA e as correntes dos picos A1 (a) e C2 (b) a partir do uso do eletrodo sem pré-tratamento (●) e com pré-tratamento por polarização (●). ....	23
<b>Figura 13</b> – Voltamogramas cíclicos do eletrodo de cobre obtidos após sucessivas adições de AMPA em tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> preparado em pH 6,0 (a), 8,0 (b) e 9,0 (c). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .....	25

<b>Figura 14</b> – Voltamogramas de onda quadrada ( $10 \text{ mV s}^{-1}$ ) do eletrodo de cobre em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7. $f = 20 \text{ Hz}$ , $A_m = 50 \text{ mV}$ , $\Delta E_s = 0,5 \text{ mV}$ . .....	27
<b>Figura 15</b> – Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo de cobre em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , com adições sucessivas de AMPA a pH 7. $f = 20 \text{ Hz}$ , $A_p = 50 \text{ mV}$ , $\Delta E_s = 0,5 \text{ mV}$ , $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ . Inset: curva analítica obtida a partir dos voltamogramas.....	28
<b>Figura 16</b> – Voltamogramas de onda quadrada para AMPA $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ com eletrodo de cobre em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7 em função de diferentes valores de $\Delta E_s$ . $f = 20 \text{ Hz}$ , $A_p = 50 \text{ mV}$ . .....	29
<b>Figura 17</b> – Voltamogramas de onda quadrada para AMPA $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ com eletrodo de cobre em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7 em função de diferentes valores de $f$ . $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ , $A_p = 50 \text{ mV}$ . .....	30
<b>Figura 18</b> – Voltamogramas de onda quadrada para AMPA $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ com eletrodo de cobre em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7 em função de diferentes valores de $A_p$ . $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ , $f = 25 \text{ Hz}$ , $v = 125 \text{ mV s}^{-1}$ .....	30
<b>Figura 19</b> – Curva analítica para determinação de AMPA com eletrodo de cobre em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7. $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ , $f = 25 \text{ Hz}$ , $A_p = 75 \text{ mV}$ , $v = 125 \text{ mV s}^{-1}$	31
<b>Figura 20</b> – Curvas analíticas para determinação de AMPA em quatro amostras de água de abastecimento com eletrodo de cobre em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7. $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ , $f = 25 \text{ Hz}$ , $A_p = 75 \text{ mV}$ , $v = 125 \text{ mV s}^{-1}$ . .....	32
<b>Figura 21</b> – Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de cobalto em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ nos pHs 7 (a), 8 (b), 9 (c) e 10 (d). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . .....	34
<b>Figura 22</b> – Voltamogramas cíclicos do eletrodo de cobalto obtidos após sucessivas adições de AMPA em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparado em pH 7,0(a), 8,0 (b), 9,0 (c) e 10 (d). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .....	36
<b>Figura 23</b> – Voltamogramas de pulso diferencial do eletrodo de cobalto em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com adições sucessivas de AMPA em pH 7 (a) Sentido direto e (b) sentido reverso, pH 8 (c) Sentido direto e (d) sentido reverso pH 9. (e) Sentido direto; (f) sentido reverso. $A_p = 25 \text{ mV}$ , $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ ; $t_s = 0,5 \text{ s}$ ; $t_p = 0,05 \text{ s}$ ; $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ . .....	38
<b>Figura 24</b> – Voltamogramas de pulso diferencial para AMPA $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ com eletrodo de cobalto em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7 em função de diferentes valores de $\Delta E_s$ . $A_p = 25 \text{ mV}$ , $t_s = 0,5 \text{ s}$ ; $t_p = 0,05 \text{ s}$ . .....	40

<b>Figura 25</b> – Voltamogramas de pulso diferencial para AMPA $1\mu\text{mol L}^{-1}$ com eletrodo de cobalto em tampão fosfato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ pH 7 em função de diferentes valores de $t_s$ . $A_p = 25\text{ mV}$ , $\Delta E_s = 7,5\text{ mV}$ ; $t_p = 0,05\text{ s}$ .....	40
<b>Figura 26</b> – Voltamogramas de pulso diferencial para AMPA $1\mu\text{mol L}^{-1}$ com eletrodo de cobalto em tampão fosfato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ pH 7 em função de diferentes valores de $t_p$ . $A_p = 25\text{ mV}$ , $\Delta E_s = 7,5\text{ mV}$ ; $t_s = 0,75\text{ s}$ .....	41
<b>Figura 27</b> – Voltamogramas de pulso diferencial para AMPA $1\mu\text{mol L}^{-1}$ com eletrodo de cobalto em tampão fosfato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ pH 7 em função de diferentes valores de $A_p$ . $\Delta E_s = 7,5\text{ mV}$ ; $t_s = 0,75\text{ s}$ ; $t_p = 0,15\text{ s}$ .....	42
<b>Figura 28</b> – Curva analítica para determinação de AMPA com eletrodo de cobalto em tampão fosfato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ pH 7. $\Delta E_s = 7,5\text{ mV}$ , $A_p = 100\text{ mV}$ , $t_s = 0,75\text{ s}$ e $t_p = 0,15\text{ s}$ .....	43
<b>Figura 29</b> – Curvas analíticas para determinação de AMPA em quatro amostras de água de abastecimento com eletrodo de cobalto em tampão fosfato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ pH 7. $\Delta E_s = 7,5\text{ mV}$ , $A_p = 100\text{ mV}$ , $t_s = 0,75\text{ s}$ e $t_p = 0,15\text{ s}$ .....	44

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Propriedades físico-químicas do herbicida glifosato. Fonte: DORES e FREIRE, 2001.....	7
<b>Tabela 2</b> – Parâmetros das curvas apresentadas na Figura 12.....	23
<b>Tabela 3</b> – Parâmetros das curvas obtidas para a relação entre a concentração de AMPA e as correntes dos picos A1 e C2 em função do pH. ....	25
<b>Tabela 4</b> – Resultados de ensaio de recuperação aparente para análise de amostras de água de abastecimento com método que emprega eletrodo de cobre e VOQ.....	33
<b>Tabela 5</b> – Parâmetros das curvas obtidas para a relação entre a concentração de AMPA e as correntes de picos em função do pH e do sentido da varredura por voltametria de pulso diferencial com eletrodo de cobalto. a: intercepto; b: coeficiente angular. ....	39
<b>Tabela 6</b> – Parâmetro de otimização para a técnica de VPD.....	42
<b>Tabela 7</b> – Resultados de ensaio de recuperação aparente para análise de amostras de água de abastecimento com método que emprega eletrodo de cobalto e VDP...	45
<b>Tabela 8</b> – Comparação entre os métodos de determinação de AMPA .....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPA	Ácido Aminometilfosfônico
$A_p$	Amplitude de Pulso
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
$I_{pa}$	Corrente de pico anódico
$I_{pc}$	Corrente de pico catódico
$f$	Frequência
LD	Limite de Detecção
LMR	Limite Máximo de Resíduo
LQ	Limite de Quantificação
$R^2$	Coefficiente de correlação
Sd	Desvio-Padrão
USEPA	Agencia de Proteção Nacional dos Estados Unidos
VC	Voltametria cíclica
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
$\Delta E_s$	Incremento de potencial

# 1 Introdução

---

Apesar de toda a controvérsia sobre seus efeitos nocivos ao meio ambiente e à saúde humana, o uso de pesticidas tem aumentado intensamente nos últimos 50 anos, o que é preocupante. Uma possível explicação para esse fato é que não existem alternativas economicamente viáveis que possibilitem o controle das pragas e ervas daninhas que infestam as lavouras e prejudicam a produtividade agrícola. Frente a esse cenário, tem-se que a utilização de pesticidas é ainda a forma mais comum para o controle de pragas e ervas daninhas, justificando assim, a crescente produção mundial de pesticidas, sendo a classe dos herbicidas a que mais tem se destacado neste ramo (CABRAL et al., 2003).

Os pesticidas são frequentemente empregados com o propósito de aumentar a produtividade das diversas atividades agrícolas, sendo responsáveis pelo controle de pragas e de doenças que acabam afetando a produção, o armazenamento, o processamento e o transporte de diversos produtos (NI et al., 2004). Entretanto, seu uso inadequado pode ocasionar danos à saúde humana, sendo relatados efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos, além de ocasionar problemas neurológicos, desregulações endócrinas e alterações nos sistemas imunológico e reprodutivo (SPADOTTO, 2006). Adicionalmente, quando presentes no solo, estes compostos podem ser lixiviados para as águas de rios, lagos e mananciais levando à contaminação de lençóis freáticos e, conseqüentemente, ocasionando desequilíbrios biológicos e ecológicos (RIBEIRO e LOURENCETTI, 2007).

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com o uso. Entre as classes de pesticidas estão os herbicidas, que são utilizados para controle das ervas daninhas, atuando na inibição da atividade enzimática, desencadeando uma série de eventos que promovem lentamente a mortalidade da planta em poucos dias ou semanas. (COUTINHO, 2008).

Um dos herbicidas mais utilizados no Brasil e no mundo é o glifosato [N-(fosfometil)glicina], conhecido como um herbicida não seletivo, sistêmico e pós-emergente (JUNIOR E SANTOS, 2002). Este tipo de herbicida, quando absorvido pelo organismo, por via oral ou dérmica, pode causar danos hepáticos e renais,

conjuntivite, choque cardiogênico, edema pulmonar não cardiogênico, pneumonia, necrose tubular aguda, arritmias cardíacas e câncer (JUNIOR et al., 2002).

É importante salientar que esse herbicida apresenta dois produtos de degradação microbiana, a sarcosina e o ácido aminometilfosfônico (AMPA). A sarcosina não apresenta um risco elevado ao meio ambiente ou à saúde humana, visto que a sarcosina entra no metabolismo dos microrganismos e degrada-se (FERREIRA, 2013), enquanto que o AMPA possui praticamente as mesmas características do produto que o originou, e possui um tempo de vida maior na natureza (SOUZA et al., 2006; FERRARO, 2009).

Segundo Ferreira (2013), a degradação do AMPA é geralmente mais lenta do que aquela atribuída ao glifosato, possivelmente porque o AMPA pode adsorver mais facilmente às partículas do solo. Não se sabe qual a porcentagem de AMPA que é formada a partir da degradação do glifosato, pois ela ocorre em função do tempo, condições ambientais favoráveis como matriz e temperatura, dentre outras características.

Por existir vários relatos da presença do glifosato e do AMPA em solo e em ambientes aquáticos, têm aumentado as preocupações sobre seus potenciais efeitos adversos. A presença de AMPA no ambiente torna-se hoje um problema real devido a sua persistência, toxicidade ( $DL_{50} = 8.300 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e suas múltiplas origens (metabólito do glifosato e produto de degradação de produtos de cuidados pessoais) (PENSEL et al., 2016).

A presença de glifosato no meio ambiente demanda a utilização de técnicas sofisticadas para sua determinação, pois a molécula do glifosato apresenta propriedades que dificultam essa tarefa: caráter anfótero, alta solubilidade em meio aquoso, baixa solubilidade em compostos orgânicos, alta polaridade, baixa volatilidade e ausência de grupos cromóforos. Dessa forma, devido ao nível de toxicidade desse herbicida, o desenvolvimento de metodologias analíticas viáveis e de baixo custo torna-se importante e necessário. Vários métodos têm sido utilizados para quantificar o glifosato, dentre os quais pode-se citar a espectrofotometria de infravermelho, eletroforese, cromatografia em fase gasosa, cromatografia em fase líquida de alta eficiência, cromatografia em camada delgada e cromatografia de troca iônica (QUEIROZ et al., 2011). Sendo assim, frente às semelhanças químicas entre o herbicida glifosato e seu principal metabólito, e o fato deste último

permanecer por mais tempo no meio ambiente, a presente proposta visa a realização de um estudo eletroquímico com foco na determinação do principal AMPA, utilizando técnicas voltamétricas.

### **1.1. Objetivos**

O objetivo principal deste estudo é desenvolver metodologias eletroanalíticas para a determinação do AMPA, utilizando os eletrodos de cobalto e cobre.

Para o alcance do objetivo principal, alguns objetivos específicos podem ser destacados:

- Confeccionar os eletrodos de cobre e cobalto;
- Avaliar o perfil voltamétrico do eletrodo metálico de cobre na presença do AMPA empregando as técnicas de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada;
- Avaliar o perfil voltamétrico do eletrodo de cobalto na presença do AMPA utilizando as técnicas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial;
- Otimizar os parâmetros da técnica voltamétrica escolhida para a determinação do AMPA para cada eletrodo;
- Validar o método eletroquímico para determinação de AMPA para amostras de águas.

# 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

## 2.1 Herbicidas

De acordo com a legislação brasileira, nos termos da Lei Federal no 7.802, de 11 de julho de 1989, atualmente regulamentada pelo Decreto 4.074, de 4 de janeiro de 2002 que revogou o Decreto 98.816, de 11 de janeiro de 1990, informa que os agrotóxicos são substâncias, ou mistura de substâncias, de natureza química quando destinadas a prevenir, destruir ou repelir, direta ou indiretamente, qualquer forma de agente patogênico ou de vida animal ou vegetal, que seja nociva às plantas e animais úteis, seus produtos e subprodutos e ao homem.

A utilização dessas substâncias no Brasil é uma das principais causas da contaminação dos sistemas aquáticos, e sendo a agricultura um dos setores da economia que mais consome água doce, pode-se dizer que além dos graves problemas para a saúde dos seres vivos, essas substâncias também se transformaram em um grave problema ambiental no país. O termo agrotóxico inclui várias classes de produtos (classes de uso), tais como inseticidas, fungicidas, fumigantes, moluscidas, reguladores de crescimento, desfoliantes, dissecentes e herbicidas (SILVA e FAY, 2004; BAIRD e CANN, 2005).

Os herbicidas ocupam uma posição de destaque entre os agrotóxicos, uma vez que são adicionados ao ambiente a fim de controlar o crescimento populacional de plantas que são consideradas indesejáveis e que representam uma grande ameaça para a agricultura e também para a saúde pública (VEIGA et al., 2006), pois esses compostos podem ser lixiviados para as águas de rios proporcionando sua contaminação (RIBEIRO e LOURENCETTI, 2007).

Essas substâncias químicas reduzem ou impedem o desenvolvimento de plantas indesejadas (ervas daninhas) na plantação. O surgimento dessas plantas traz prejuízos à lavoura, à medida que drenam os nutrientes e a água do solo, comprometendo o desenvolvimento da espécie cultivada e, conseqüentemente, causando perdas nas culturas (BRASIL, 2010).

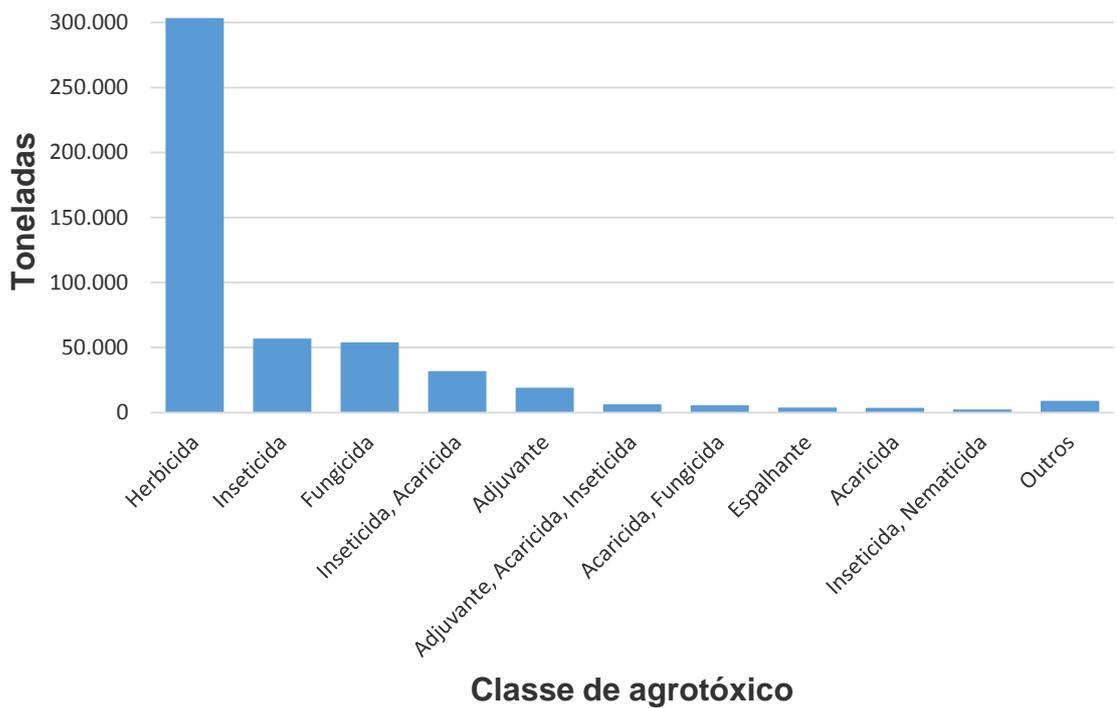
O termo erva daninha apresenta vários significados, a depender da situação. Cientificamente, esse termo é usado apenas para as plantas não lenhosas, onde

suas partes aéreas (folhas e caules) possuem longevidade inferior a um ano. No cotidiano, esse termo é empregado a qualquer espécie de planta indesejável presente em um determinado local, a exemplo de ferrovias, estradas, aeroportos e represas, onde grande parte da vegetação é considerada como erva daninha (TEÓFILO, 2003).

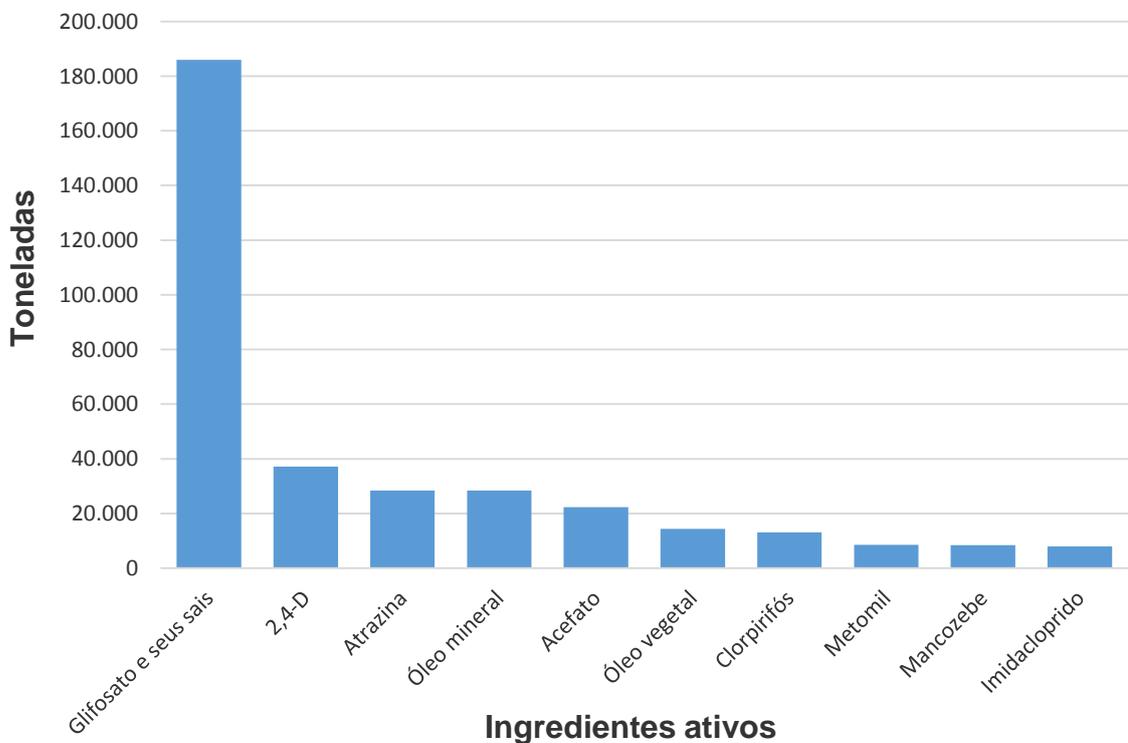
Historicamente, até a Segunda Guerra Mundial, a eliminação de vegetais nocivos era realizada por meios químicos, através da utilização de soluções a base de ácidos e sais inorgânicos (BUCHTEL, 1983). Porém, o surgimento de problemas relacionados com a segurança na aplicação, somados à necessidade de uma certa seletividade no controle dessas plantas, provocaram o desenvolvimento dos herbicidas orgânicos (MÍDIO e MARTINS, 1997).

No Brasil, a venda de agrotóxicos cresce a cada ano, principalmente a classe dos herbicidas, chegando a 300.000 toneladas no ano de 2013 (BRASIL, 2013). Ainda tomando como base o ano de 2013, constata-se que a comercialização de herbicidas foi muito elevada, principalmente quando comparada às quantidades de outras classes de agrotóxicos no mesmo período (BRASIL, 2013), como apresentado na Figura 1, representando um total de aproximadamente 60% dos agrotóxicos comercializados, enquanto os fungicidas e inseticidas, por exemplo, representaram apenas 10% cada um.

Em sua composição, os herbicidas apresentam vários ingredientes ativos, e dentre eles, um tem chamado muita atenção pela quantidade expressiva comercializada no Brasil: o glifosato. O gráfico da comercialização dos agrotóxicos no Brasil, apresentado na Figura 2, mostrar-se a distribuição da quantidade dos ingredientes ativos nos herbicidas comercializados no Brasil no ano de 2013. A partir da análise da Figura 2, pode-se observar que foram comercializadas aproximadamente 186 mil toneladas de herbicidas à base de glifosato, evidenciando sua importância para a agricultura brasileira.



**Figura 1** – Dados de comercialização brasileira dos agrotóxicos distribuídos por classe. Fonte: BRASIL (2013).



**Figura 2** – Quantidade de ingredientes ativos nos herbicidas comercializados no Brasil em 2013. Fonte: BRASIL (2013).

## 2.2 O glifosato e o ácido aminometilfosfônico (AMPA)

O glifosato (Figura 3) apresenta fórmula molecular  $C_3H_8NO_5P$  e foi desenvolvido em 1950 pelo químico suíço Dr. Henri Marin, da indústria química Cilag. Alguns anos depois, em 1970, o Dr. E. Franz, da Companhia Monsanto, sintetizou novamente a molécula e confirmou a atividade herbicida do glifosato, cuja primeira formulação comercial foi lançada nos Estados Unidos em 1974 com o nome de Roundup® (AULING, 2009; FERRARO, 2009). Desde então, o glifosato é o herbicida mais comercializado no mundo para o controle de ervas daninhas (MINK et al., 2011). Na tabela 1 estão relacionadas algumas propriedades físico-químicas do glifosato.

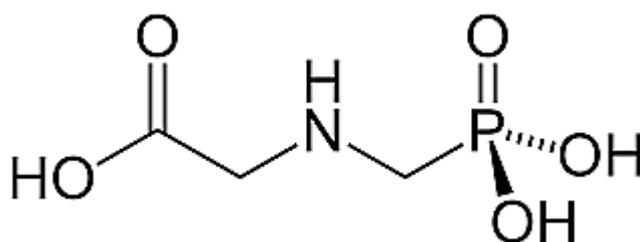


Figura 3 – Fórmula estrutural do herbicida glifosato.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do herbicida glifosato. Fonte: DORES e FREIRE, 2001.

PROPRIEDADES	CARACTERÍSTICAS
<b>Aparência</b>	Sólido incolor
<b>Nomenclatura (IUPAC)</b>	[N-(fosfonometil)-glicina]
<b>Peso molecular</b>	169,1 g mol <sup>-1</sup>
<b>Solubilidade em água</b>	12 g L <sup>-1</sup> (20°C)
<b>Solubilidade em solventes orgânicos</b>	Insolúvel
<b>Ponto de fusão</b>	200°C
<b>Pressão de vapor</b>	Desprezível
<b>Categoria iônica</b>	Anfótero
<b>Classe toxicológica</b>	III

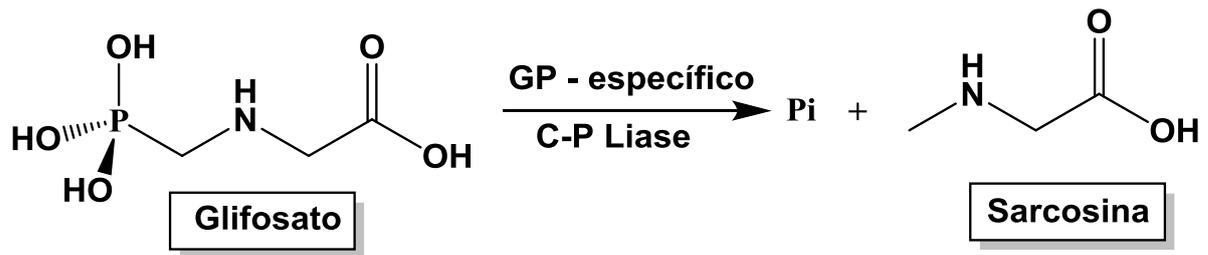
O glifosato é conhecido como um herbicida pós-emergente, pertencente ao grupo químico das glicinas, classificado como não-seletivo e de ação sistêmica.

Assim, apresenta largo espectro de ação, o que possibilita um excelente controle das plantas daninhas anuais ou perenes (ÇAĞLAR e KOLANKAYA, 2008). O herbicida glifosato é classificado quimicamente como um aminoácido fosfonado que é utilizado para o controle de ervas daninhas nas entrelinhas de culturas de ameixas, cacau, café, citrus, nectarinas, pêra, soja, uva, arroz, algodão, milho e pastagens. Também é utilizado como dessecante em plantios diretos, como agente maturador de cana-de-açúcar e na eliminação de plantas aquáticas (JUNIOR et al., 2002).

A aplicação do herbicida em áreas agrícolas deve ser feita de forma cuidadosa, pois seu uso pode contaminar o ambiente aquático através de derramamentos acidentais, por meio da erosão, lixiviação no solo pela chuva, lavagem de equipamentos e recipientes utilizados nessas pulverizações (MARTINEZ e CÓLUS, 2002). Quando presente no meio aquático, essa substância pode ser adsorvida pela matéria orgânica em suspensão podendo depositar-se no sedimento ou até mesmo ser absorvida pelos organismos aquáticos ali presentes, ocasionando impactos em vários níveis (GRISOLIA, 2005). A elevada utilização deste herbicida, na agricultura brasileira, tem provocado uma série de efeitos e modificações negativas no ambiente, como a contaminação e a acumulação nos componentes bióticos e abióticos dos ecossistemas (CALDAS, 2005).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) estabelece limite de  $700 \mu\text{g L}^{-1}$  de glifosato em água (USEPA 2007). Na legislação brasileira, a portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde estabelece o valor máximo permitido em água potável é de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  para a soma de glifosato e AMPA (BRASIL 2011). Já o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) em sua resolução de nº 430/2011 estabeleceu um limite máximo de glifosato em águas superficiais igual a  $65 \mu\text{g L}^{-1}$  para águas de classe 1 ou 2, e  $280 \mu\text{g L}^{-1}$  para águas de classe 3.

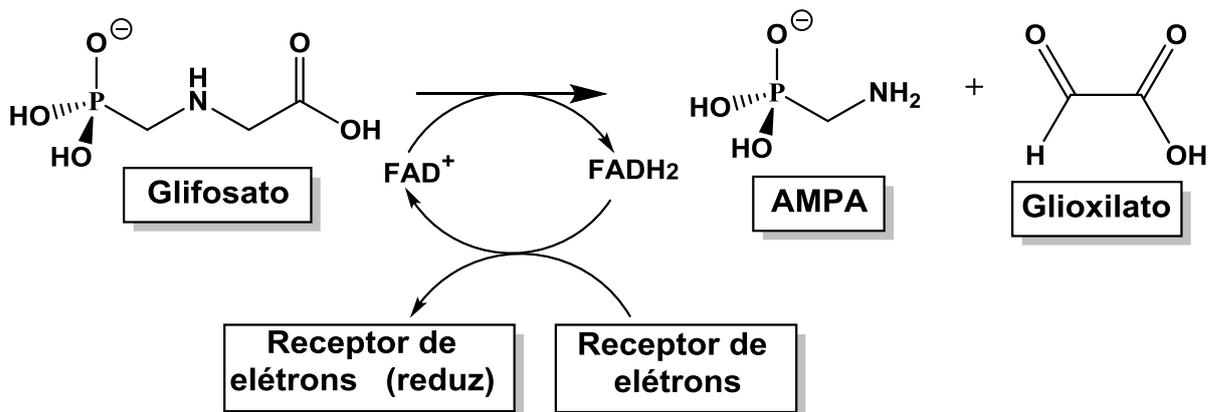
O glifosato dá origem a dois principais metabólitos de degradação microbiológica advindos de duas diferentes rotas metabólicas. A primeira rota (Figura 4) consiste na clivagem da ligação fósforo-carbono por ação da bactéria *Agrobacterium radiobacter* ou da *Enterobacter aeroneges* (enzima C-P liase), produzindo a sarcosina (JUNIOR et al., 2002).



**Figura 4** – Clivagem da ligação fósforo-carbono por ação bacteriana. Pi: fosfato inorgânico. Adaptado de SVIRIDOV et al, 2015

O mecanismo de degradação do glifosato através da C-P liase é ainda pouco compreendido, tanto da parte bioquímica quanto do ponto de vista biológico e molecular. De fato, sua discussão é apenas por analogias com as reações já conhecidas da C-P-liase. (HOVE-JENSEN et al., 2014; SVIRIDOV et al., 2015).

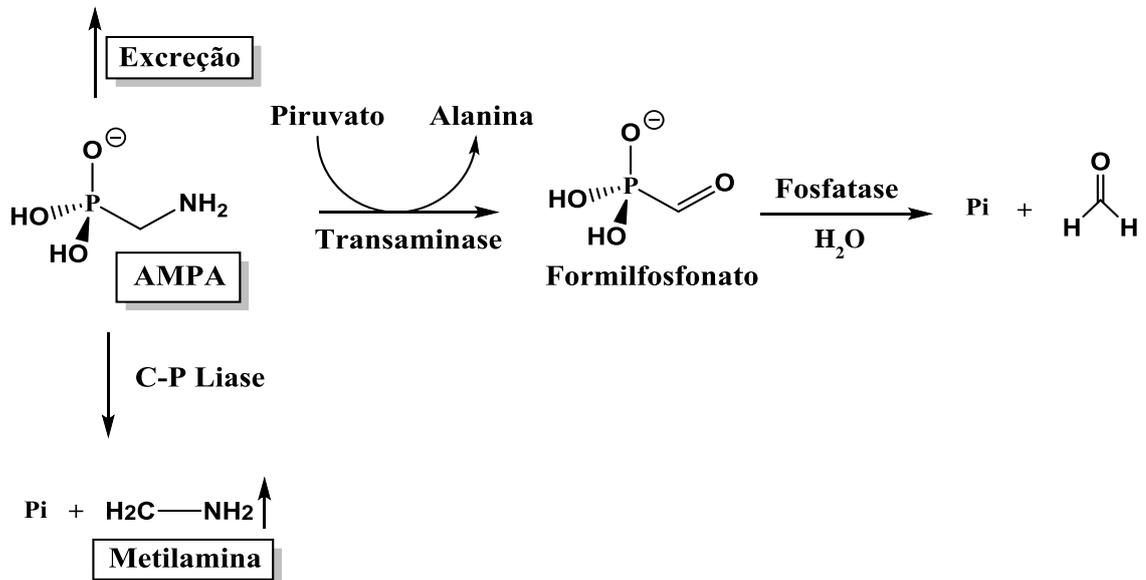
A segunda rota (Figura 5) consiste na clivagem oxidativa da ligação carbono-nitrogênio produzindo o ácido aminometilfosfônico (AMPA).



**Figura 5** – Clivagem oxidativa da ligação carbono-nitrogênio, formando AMPA e glioxilato. FAD<sup>+</sup>: dinucleótido flavina-adenina. Adaptado de SVIRIDOV et al., 2015

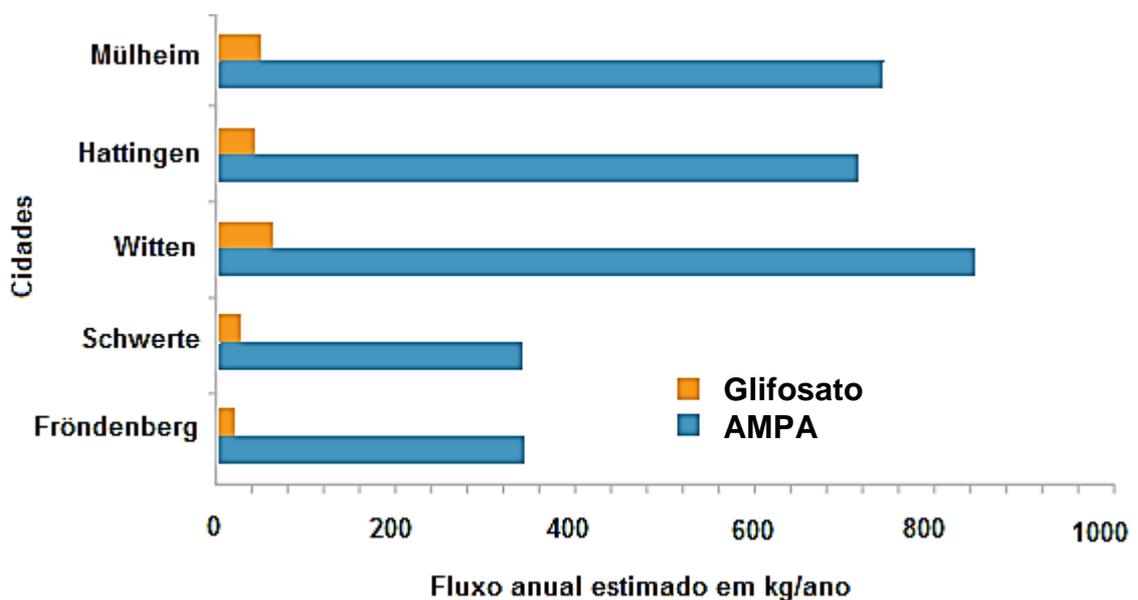
Estudos mostram que o AMPA, principal metabólito do glifosato, é mais persistente no solo, com duração de 76 a 240 dias, do que o glifosato que é 2 a 197 dias, algo preocupante, pois já existem evidências que esse metabólito pode alcançar lençóis freáticos profundos (FERRARO, 2009), sendo sua degradação representada na Figura 6.

## Acumulação de AMPA no ambiente



**Figura 6** – Mecanismo de degradação do AMPA. Pi: fosfato inorgânico. Adaptado de SVIRIDOV et al., 2015.

No meio ambiente, estudos mostram que o AMPA é mais facilmente encontrado que o próprio glifosato, como pode ser visto na Figura 7, onde são apresentadas as quantidades anuais dessas duas substâncias ao longo do rio Ruhr, na Alemanha, que passa por várias cidades, e evidencia que a quantidade de AMPA é muito maior que a do glifosato.



**Figura 7** – Fluxos anuais de glifosato e AMPA estimados em algumas cidades de passagem do rio Ruhr. Fonte: MONSANTO, 2012. (Adaptado)

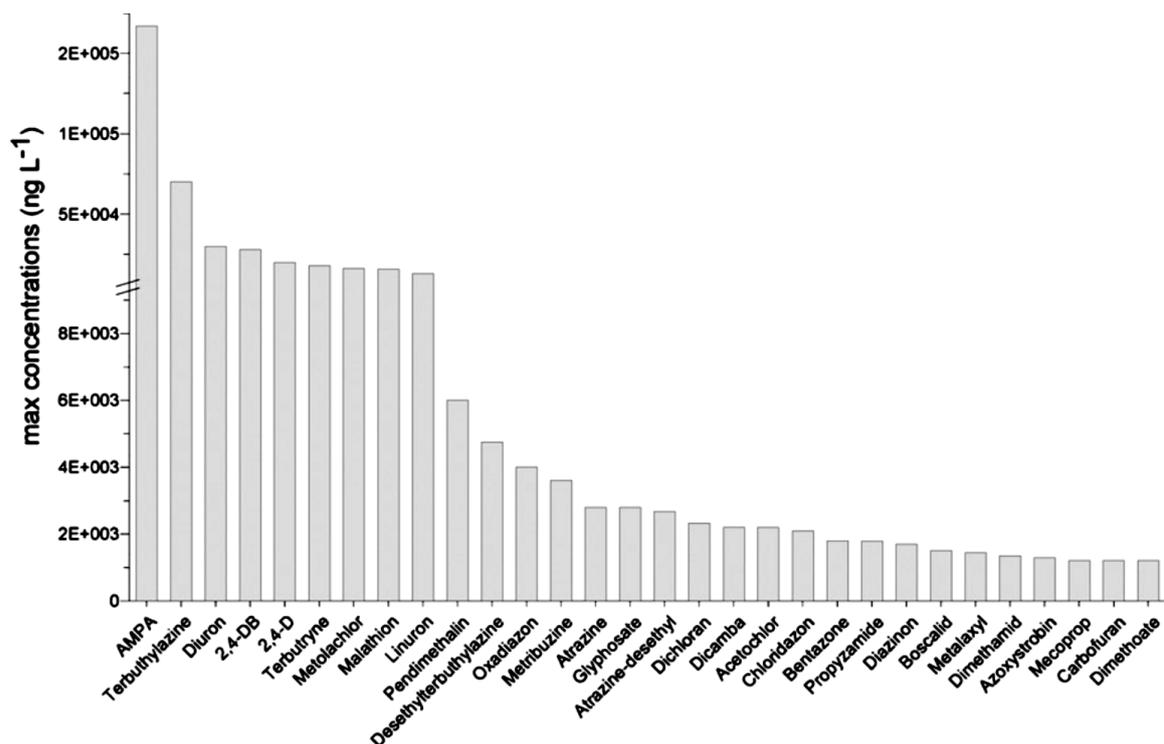
Independentemente dos trechos do rio analisados nessas cinco cidades, os resultados mostraram que o AMPA se encontra em quantidade significativamente superior. Considerando-se a cidade de Witten como exemplo, o fluxo anual de glifosato no rio Ruhr não ultrapassa 55 kg por ano, enquanto que o fluxo anual de AMPA é de aproximadamente 850 kg por ano, evidenciando uma quantidade maior que 15 vezes a de glifosato, o que confirma a necessidade da criação de políticas públicas para o controle dessa substância. Contudo, várias nações ainda não consideram o potencial toxicológico do AMPA e, por isso, não estabeleceram o limite máximo de resíduo (LMR) em culturas onde o glifosato é usado. Apenas alguns países já estabeleceram os limites para o AMPA, pois o mesmo atua como um marcador de exposição ao herbicida glifosato, principalmente nas culturas tolerantes a esse composto (GOLDFRANK e FLOMENBAUM, 2006).

As propriedades físico-químicas do AMPA são semelhantes às do glifosato e sua toxicidade aguda comparada à do composto original é menor para os mamíferos, porém maior para seres aquáticos.

A maioria dos estudos que analisaram o glifosato e o AMPA em amostras de água têm assumido que o AMPA é derivado da degradação do glifosato, principalmente. Recentemente, alguns investigadores relataram que a detecção de AMPA em água de superfície não é de diagnóstico como um marcador para o glifosato porque AMPA também é um metabólito de outros compostos de fosfonato, tais como detergentes (BOTTA et al., 2009; HANKE et al., 2010).

Uma recente revisão na literatura apresenta dados sobre a ocorrência de vários contaminantes emergentes orgânicos em águas superficiais e subterrâneas da Itália. As concentrações mais elevadas em águas de superfície têm sido referentes ao AMPA Figura 8 (MEFFE e BUSTAMANTE, 2014).

Em um outro trabalho realizado por Battaglin et al., o AMPA, o glifosato e a atrazina foram os compostos mais frequentemente encontrados nas amostras de água, ocorrendo em 33%, 21% e 18% das amostras, respectivamente, evidenciando que essas substâncias estão entre os pesticidas mais frequentemente detectados em águas de superfície (BATTAGLIN et al., 2014, BATTAGLIN et al., 2016).



**Figura 8** – Avaliação da ocorrência de compostos em águas superficiais da Itália. Fonte: MEFFE e BUSTAMANTE, 2014.

### 2.3 Determinação eletroquímica de glifosato e AMPA

Para que ocorra a determinação eletroquímica de um analito, mais especificamente a determinação voltamétrica, uma reação redox do analito deve ocorrer na superfície do eletrodo de trabalho. Portanto, a escolha do material que irá compor o eletrodo de trabalho deve ser feita considerando as características do analito e do material utilizado, bem como a interação entre eles.

A molécula do glifosato não possui grupos funcionais que possam ser oxidados ou reduzidos, nos eletrodos utilizados nesta pesquisa. Sendo assim, esta molécula é considerada eletroquimicamente inativa. Entretanto, é sabido que seus grupos funcionais (amino, carboxilato e fosfonato) podem se coordenar com íons metálicos, especialmente os de transição, formando complexos (SANTOS et al., 2014), possibilitando assim sua identificação. Portanto, a formação de um complexo possibilita a determinação do seu efeito sobre a intensidade da corrente do pico anódico do eletrodo de trabalho (GARCIA et. al., 2007).

Entre os íons metálicos que formam complexos com o glifosato, os íons cúpricos são os mais estudados em eletroquímica e por isso, o eletrodo de cobre é o

muito utilizado na determinação de glifosato. Para que ocorra a formação do complexo, é necessário que haja íons  $\text{Cu}^{2+}$  na interface eletrodo-solução. Assim, um pré-tratamento eletroquímico é realizado para produzir uma camada ativa de cobre e, posteriormente, uma camada de óxidos e hidróxidos de cobre, chamada de camada passivadora, sobre a superfície do eletrodo, possibilitando assim que o glifosato coordene esses íons presentes na interface, formando um complexo. A formação dessa camada é dependente das condições da superfície do eletrodo, do meio iônico e do pH, geralmente alcalino (GARCIA et al., 2007). Apesar de todos os estudos a respeito da oxidação eletroquímica do cobre, ainda há muitos trabalhos recentes que mostram que a constituição da superfície do eletrodo de cobre é complexa (GIRI, SARKARZ, 2016; VVEDENSKII et al., 2014).

O AMPA possui dois dos três grupos funcionais presentes no glifosato (amino e fosfonato). Portanto, o eletrodo de cobre também pode ser empregado para sua determinação. Coutinho et al (2009) estudaram a comportamento eletroquímico dos complexos de  $\text{Cu}^{2+}$  formados com o glifosato e com o AMPA e observaram que a interação do AMPA com o eletrodo de cobre é menor que a do glifosato, embora, ainda sendo possível determinar o AMPA através da formação de complexo com íons  $\text{Cu}^{2+}$ .

Uma revisão realizada por Coutinho et. al. (2009) apresenta a formação dos complexos metálicos com o glifosato e são discutidos os termos da sua síntese, identificação, estabilidade e propriedades estruturais, com base em dados da literatura, na qual dois dos metais a bordados são o cobre e o cobalto.

Estudos eletroquímicos com eletrodo de cobalto em soluções tamponadas evidenciam a formação de camadas ativas e passivas (óxidos e hidróxidos de cobalto) na superfície do eletrodo, mais um indicativo que o eletrodo de cobalto também pode ser utilizado na determinação de glifosato e AMPA, a partir da formação de seus respectivos complexos com os íons  $\text{Co}^{2+}$ . Essas camadas são fortemente dependentes do pH, sendo que a camada passiva é estável em pHs neutros e básicos (BADAWI et al, 2000).

O eletrodo de cobalto possui uma resposta seletiva a grupos fosfatos, sendo utilizado na determinação de fosfato inorgânico (ENGBLOM, 1998), fósforo orgânico (PARRA et al., 2005) e também na determinação indireta de cálcio e magnésio, através da redução do fosfato livre em solução (CHEN et al, 1998). Mais

recentemente, Bataller et al. (2012) desenvolveram uma língua eletrônica utilizando eletrodos de Co, Cu e Pt. Observaram um aumento significativo nas correntes de pico dos eletrodos de Co e Cu na presença de glifosato, provavelmente devido a formação de complexos com  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Co}^{2+}$ .

Teófilo (2003) desenvolveu dois métodos de determinação de glifosato em diversos tipos de amostras (água, solo e vegetais) empregando eletrodo de gota pendente de mercúrio após nitração do glifosato. O limite de detecção encontrado para o método baseado em VOQ foi de  $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$  e o limite de quantificação foi de  $60 \mu\text{g L}^{-1}$ . Já para o método baseado em VPD, os limites de detecção e quantificação foram de  $22,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $53,8 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

Coutinho et al. (2008) estudaram a complexação em solução aquosa entre glifosato e os íons  $\text{Cu}^{2+}$  por meio de técnicas eletroanalíticas e espectroscópicas. Foi desenvolvida também uma metodologia eletroanalítica para glifosato em amostras ambientais e/ou alimentos utilizando detecção coulométrica com microeletrodo de cobre aliada à cromatografia em fase líquida.

Em 2014, Santos et al. propuseram uma metodologia eletroanalítica empregando a VOQ e eletrodo pendente de mercúrio para a determinação de glifosato em amostras de águas naturais. Os limites de detecção e de quantificação obtidos foram de  $22,04 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $73,46 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Foram realizados também testes de adição e recuperação que apresentaram valores de 100,3 % em água pura de laboratório e 99,1 % em amostra de água natural. Os autores mencionam que glifosato não apresenta características eletroativas frente ao eletrodo de gota pendente de mercúrio e concluem que a determinação do pesticida foi por meio da complexação com o metal  $\text{Cu}^{2+}$ , eliminando, assim, etapas de derivação, as quais aumentam o tempo das análises.

Em 2009, Hsu e Whang utilizaram partículas eletromagnéticas com afinidade para o glifosato e o AMPA para promover a pré-concentração desses analitos em amostras de água e frutas. As análises foram realizadas em sistema eletroforético seguida de detecção por eletroquimioluminescência. Os limites de detecção para o glifosato e para o AMPA foram de  $0,3$  e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

# 3 PARTE EXPERIMENTAL

---

## 3.1 Reagentes e soluções

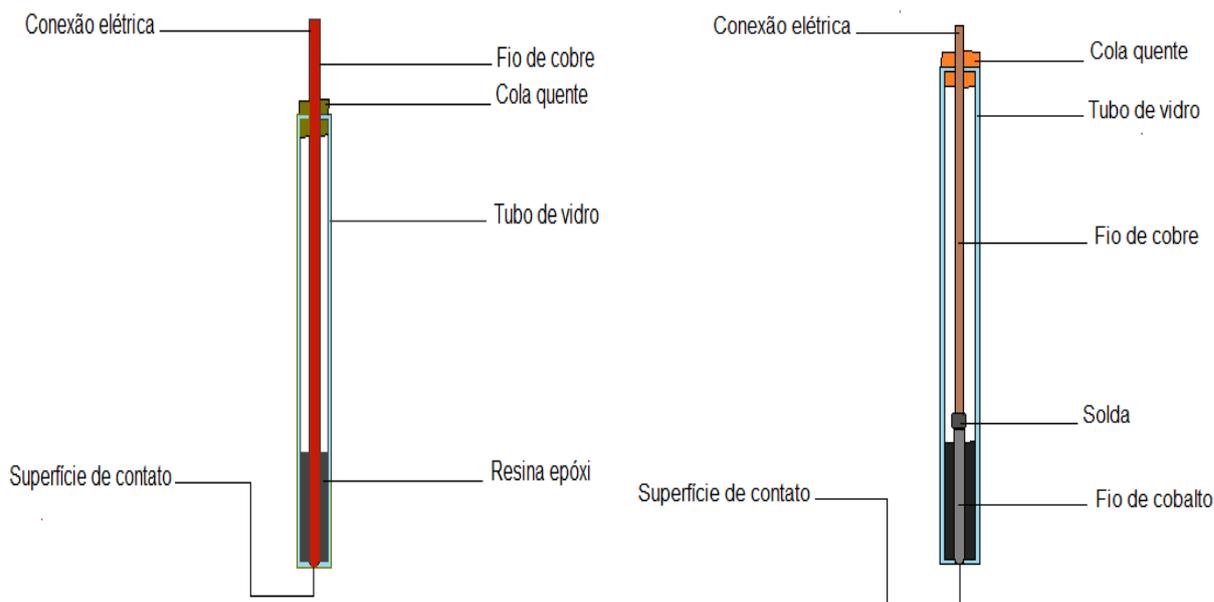
O ácido aminometilfosfônico (AMPA) foi adquirido da Sigma-Aldrich, com pureza de 99%. Foi preparada uma solução de AMPA a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  para estoque com água ultrapura (Milli-Q,  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Esta foi empregada na preparação das demais soluções-padrão do AMPA a  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $0,001 \text{ mol L}^{-1}$  e  $0,0001 \text{ mol L}^{-1}$ .

Como eletrólito-suporte, foram utilizadas soluções-tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  na concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , cujo pH foi ajustado ao valor desejado com uma solução de NaOH (concentração de  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ ) com o auxílio de um pHmetro da Digimed e eletrodo combinado de vidro.

## 3.2 Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando uma cela eletroquímica de 20 mL contendo três eletrodos: um eletrodo de Ag/AgCl (KCl,  $3 \text{ mol L}^{-1}$ ) como referência, um eletrodo de platina como contra eletrodo e um eletrodo metálico de cobre ou de cobalto como eletrodo de trabalho. O conjunto de eletrodos estava conectado a um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 101, controlado por um microcomputador através do software Nova 1.10.

O eletrodo de cobre foi confeccionado a partir de um fio de cobre com 2 mm de diâmetro, de pureza desconhecida, colocado em um tubo de vidro e fixado com resina epóxi de modo a isolar o fio, deixando apenas uma parte superior para o contato com o equipamento e uma inferior para contato com a solução de análise (Figura 9a). O eletrodo de cobalto foi construído utilizando uma barra cilíndrica do metal com 2 mm de diâmetro e 15 cm de comprimento, com 99,8% de pureza (Sigma-Aldrich). A barra do metal foi soldada em um fio de cobre para formar o contato elétrico e o conjunto foi colocado em um tubo de vidro, fixado com resina epóxi, deixando uma área de contato do cobalto com a solução em análise (Figura 9b).



**Figura 9** – Esquema de montagem dos eletrodos de trabalho. A: eletrodo de cobre; B: eletrodo de cobalto.

### 3.3 Limpeza dos eletrodos e ativação da superfície

Antes de cada medida, o eletrodo de trabalho era submetido a um procedimento de limpeza e renovação da superfície. Este procedimento foi dividido em 4 etapas que consistem em:

- Etapa 1 – polimento com lixa d'água (granulação 1400);
- Etapa 2 – polimento com lixa d'água (granulação 2500);
- Etapa 3 – polimento com suspensão aquosa de alumina (0,3  $\mu\text{m}$ );
- Etapa 4 – limpeza em banho de ultrassom por 15 minutos

As etapas de 1, 2 e 3 foram realizadas com o auxílio de uma politriz Arotec Aropol 2V. A primeira etapa era realizada para uma renovação mais profunda da superfície. Logo, a segunda etapa foi realizada com a finalidade de retirar os arranhões decorrentes da realização da primeira etapa. Quando visivelmente a superfície do eletrodo torna-se mais brilhante e com menos ranhuras a etapa três é usada para finalizar a parte de polimento. Quando usada à suspensão aquosa de alumina a superfície do eletrodo tornasse espelhada e não é observada nenhuma

ranhura o eletrodo é submetido a limpeza em ultrassom utilizando água É essencial que os eletrodos estejam bem polidos.

Para o eletrodo de cobre um pré-tratamento baseado na polarização em potencial de -0,30 V durante 15 minutos foi empregado (STULÍK, PACÁKOVÁ, 1987). Da mesma forma, para comparação foram realizados ensaios sem polarização, ambos em solução-tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> a pH 7.

Depois da limpeza e renovação da superfície (seguida ou não da polarização em -0,30 V), 10 varreduras cíclicas consecutivas na janela de potencial de -0,8 V a +0,8 V eram realizadas até obtenção de um voltamograma estável do eletrólito-suporte. Esta foi uma forma de garantir que quaisquer mudanças no perfil voltamétrico ocorridas após adição de AMPA estariam relacionadas à presença do AMPA. A varredura foi realizada em uma velocidade de 100 mV s<sup>-1</sup>.

### **3.4. Desenvolvimento do método de determinação**

Inicialmente, utilizou-se a técnica de voltametria cíclica para observação do comportamento eletroquímico do AMPA empregando tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> e velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>. Para o eletrodo de cobre, os ensaios foram realizados em uma janela de potencial de -0,8 V até 0,8 V, nos pHs 6,0, 7,0, 8,0, e 9,0. Para o eletrodo de cobalto, os ensaios foram realizados em uma janela de potencial de -1,1 V até 0,0 V, nos pHs 7,0, 8,0, 9,0 e 10,0.

Após a observação dos resultados obtidos na análise por voltametria cíclica, experimentos de VOQ foram realizados no mesmo intervalo de potencial empregado pela técnica de VC, porém restringindo-se o pH a 7,0 para o eletrodo de cobre. Para o eletrodo de cobalto, experimentos de VPD foram realizados nos pHs 7,0, 8,0 e 9,0.

A otimização dos parâmetros da técnica escolhida para a determinação foi realizada de forma univariada buscando o aumento intensidade da corrente de pico relativo ao complexo com o analito.

Após a otimização dos parâmetros, curvas analíticas foram obtidas usando-se uma solução estoque de AMPA com adições sucessivas e concentração variando de 1,0 x 10<sup>-8</sup> mol L<sup>-1</sup> a 4,0 x 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup>. O limite de detecção (LD) foi calculado usando a relação 3(sd)/b, na qual (sd) é o desvio-padrão dos valores do branco e (b) é o coeficiente angular da reta. O limite de quantificação (LQ) foi estimado a relação 10(sd)/b.

Como etapa de validação dos métodos desenvolvidos para ambos os eletrodos, foram realizados testes de recuperação aparente baseados na fortificação de amostras de água de abastecimento (água de torneira) com concentrações conhecidas de AMPA. As amostras foram coletadas diretamente de torneiras em locais diferentes e analisadas sem nenhum pré-tratamento.

Os voltamogramas obtidos foram sempre submetidos à correção de linha de base pela média móvel com janela de 2 pontos, existente no software Nova 1.11.

# 4 Resultados e discussão

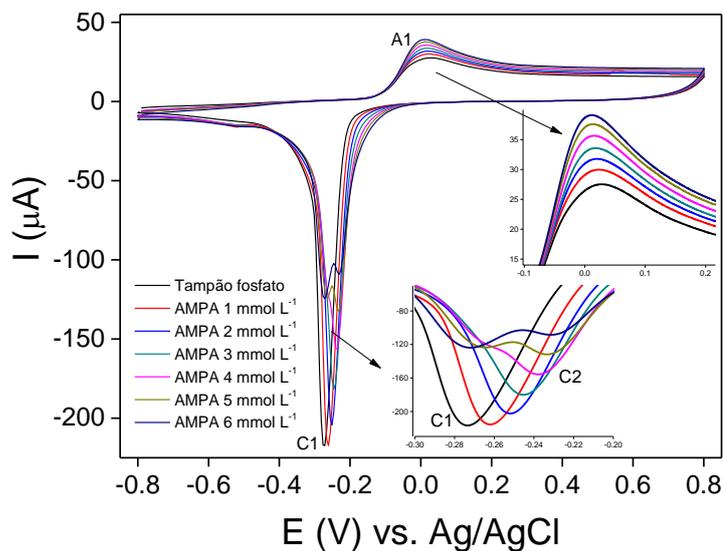
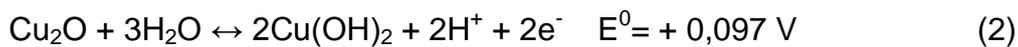
---

## 4.1 Determinação voltamétrica do AMPA empregando eletrodo de cobre

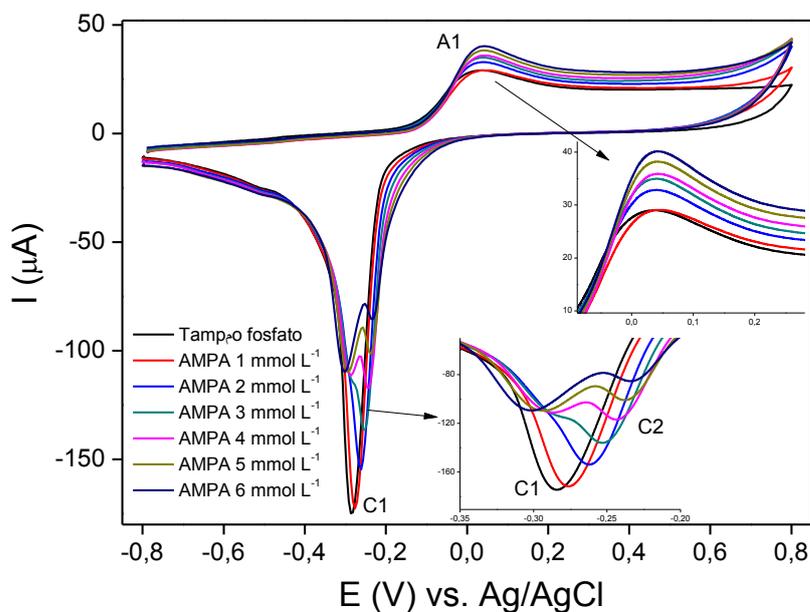
### 4.1.1 Estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo de cobre por voltametria cíclica

A primeira etapa do desenvolvimento do método voltamétrico de determinação de AMPA com eletrodo de cobre consistiu na avaliação do perfil voltamétrico do eletrodo por voltametria cíclica. O objetivo foi de observar que mudanças ocorrem no perfil após a introdução do AMPA na célula de medida e identificar o processo redox de maior sensibilidade para a determinação. Considerando-se que a detecção voltamétrica do AMPA com eletrodo de cobre segue o mesmo princípio da detecção voltamétrica do glifosato, baseado na formação de complexos com  $\text{Cu}^{2+}$  (GARCIA, ROLLEMBERG, 2007), espera-se que a adição de AMPA provoque um aumento do pico de oxidação do eletrodo de cobre. Entretanto, Garcia e Rollemberg (2007) relatam que o eletrodo de cobre deve ser submetido a um pré-tratamento eletroquímico para produzir uma camada ativa do cobre necessária à formação do complexo com o glifosato.

Nas figuras 10 e 11, estão apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos sem e com polarização, respectivamente, após a estabilização do voltamograma do eletrólito-suporte e após adições sucessivas de AMPA. Observa-se em ambas as figuras que os voltamogramas do eletrólito-suporte obtidos com e sem polarização apresentam um pico anódico (pico A1) na varredura direta em +0,03 V e um pico catódico em -0,28 V na varredura reversa (pico C1). O processo anódico é referente à oxidação do cobre e conseqüente passivação da superfície do eletrodo pela formação de um filme de compostos insolúveis de  $\text{Cu}^+$  e  $\text{Cu}^{2+}$ , a saber:  $\text{Cu}_2\text{O}$ ,  $\text{CuO}$  e  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  (STREHBLOW, TITZE, 1980, SOUTO et al., 1992). O pico C1 foi atribuído à redução dos óxidos e hidróxidos na superfície (COUTINHO et al., 2007; SIERRA et al., 2008). A formação dos compostos insolúveis pode ser descrita pelas seguintes reações de oxidação:



**Figura 10** – Voltamogramas cíclicos obtidos sem polarização do eletrodo de cobre, em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7, após sucessivas adições de AMPA.  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 11** – Voltamogramas cíclicos obtidos após polarização do eletrodo de cobre, em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7 e após sucessivas adições de AMPA;  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Laz et al. (1992) relatam que a passivação do eletrodo de cobre também pode ocorrer em função da formação anódica de  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$  em soluções de fosfato com valores de pH entre 6,0 e 8,0. Coutinho et al. (2007), além de detectar os óxidos/hidróxidos de cobre, também detectaram a presença de  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$  depositado sobre a superfície do eletrodo em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,5 por meio de análise do filme com espectrometria de raios X por dispersão em energia (EDX).

Observa-se, nas Figuras 10 e 11, que o comportamento eletroquímico do eletrodo de cobre sem pré-tratamento frente às adições de AMPA é semelhante ao observado para o eletrodo com tratamento com polarização, o que indica que o pré-tratamento com polarização a  $-0,3 \text{ V}$  produz os mesmos processos eletroquímicos na presença de AMPA que o eletrodo não polarizado. Em ambas as figuras, observa-se que a adição de AMPA promove um aumento na corrente do pico anódico em função do aumento da concentração de AMPA. A presença do AMPA gera uma dissolução da camada de óxidos de cobre na superfície do eletrodo, resultando num deslocamento dos equilíbrios representados nas reações de 1 a 4 no sentido da formação dos produtos provocando, assim, um aumento na corrente do eletrodo proporcional à quantidade de óxidos de cobre dissolvidos.

A dissolução da camada passivadora de óxidos do eletrodo de cobre pela presença de substâncias complexantes como o AMPA foi comprovada nos experimentos de Glass (1984), que monitorou espectrofotometricamente a reação entre  $\text{CuO}$  e glifosato em meio aquoso. Nesse estudo, foi observado um aumento da absorção em  $226 \text{ nm}$ , usada para indicar o avanço da reação de formação do complexo glifosato-Cu, uma vez que o glifosato e o  $\text{CuO}$  absorvem na região do UV. Ele também observou uma mudança da cor da solução de incolor para azul, característica da formação de um complexo de  $\text{Cu}^{2+}$ . A complexação do cobre pelo AMPA via dissolução da camada passivadora também foi verificada por Coutinho et al. (2009). Os autores imergiram uma placa de cobre metálico em uma solução de AMPA  $4 \text{ mmol L}^{-1}$  e observaram que após 4 dias a solução se tornava azul e a placa continha um filme depositado sobre a mesma, bem como muitos pontos de corrosão. Eles concluíram que havia ocorrido uma competição entre a reação de formação do filme de fosfato de cobre e a reação de formação do complexo AMPA- $\text{Cu}^{2+}$ , uma vez

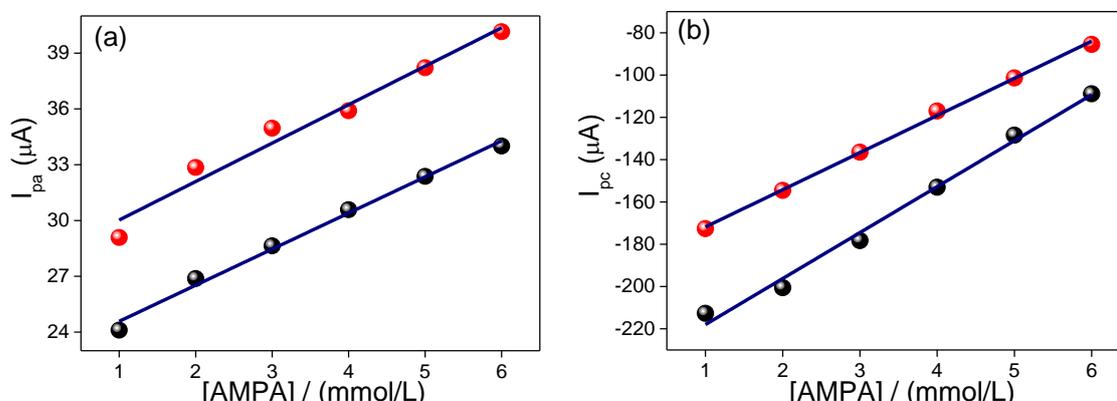
que a solução de AMPA apresentava 5 vezes mais  $\text{Cu}^{2+}$  que a solução de controle (sem AMPA).

Nas varreduras negativas das figuras 10 e 11, observa-se primeiramente o deslocamento do pico C1 para potenciais menos negativos e o aparecimento de um segundo pico catódico (pico C2) em potencial ligeiramente maior que o pico C1 à medida que a concentração de AMPA em solução aumenta. O aumento da concentração também provoca a diminuição gradual deste segundo pico, com deslocamento do potencial de pico para valores menos negativos e, conseqüentemente, aumentando a resolução entre os picos C1 e C2. Estes picos estão relacionados aos processos de redução do  $\text{Cu}_2\text{O}$  à  $\text{Cu}$ , e  $\text{CuO}$  ou  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  a  $\text{Cu}_2\text{O}$ , respectivamente (STREHBLOW, TITZE, 1980, SOUTO et al., 1992). Assim, na ausência de AMPA (somente eletrólito-suporte) os dois processos de redução (redução do  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^+$  e redução do  $\text{Cu}^+$  a  $\text{Cu}^0$ ) podem estar ocorrendo simultaneamente no pico C1, e os picos C1 e C2 estão sobrepostos. Como as adições sucessivas de AMPA provocam o deslocamento do pico C2 e diminuição do seu tamanho, pode-se concluir que a presença do AMPA causa a diminuição da quantidade de  $\text{CuO}$  e  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  na camada passivadora, por formação do complexo AMPA- $\text{Cu}^{2+}$ .

Esta sequência de reações é possível dada a morfologia da camada passivadora descrita como sendo da forma  $\text{Cu}/\text{Cu}_2\text{O}/\text{CuO},\text{Cu}(\text{OH})_2$  (LORIMER et al., 2004), ou seja, pelo arranjo em forma de subcamadas, com uma camada de  $\text{Cu}_2\text{O}$  depositada sobre o metal, e uma camada de  $\text{CuO}$  e  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  sobre a camada de  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Durante a varredura anódica é depositada primeiramente sobre o eletrodo de  $\text{Cu}$  uma camada de  $\text{Cu}_2\text{O}$ , cuja espessura aumenta até aproximadamente o potencial do pico A1 e depois permanece constante (STREHBLOW, TITZE, 1980). Essa camada é compacta, porém contém poros causados pela inserção de  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$  (COUTINHO et al., 2007), e permite tanto a sua posterior oxidação parcial à  $\text{CuO}$  ou  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ , quanto a formação de  $\text{CuO}$  e  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  por precipitação sobre a camada de  $\text{Cu}_2\text{O}$  após difusão do  $\text{Cu}^{2+}$  através da camada. À medida que o potencial avança até o potencial de inversão (+0,80 V) ocorre o aumento da espessura da camada de  $\text{CuO},\text{Cu}(\text{OH})_2$  sobre a camada de  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Essa camada é 4 a 5 vezes mais espessa que a camada de  $\text{Cu}_2\text{O}$  (STREHBLOW, TITZE, 1980).

A Figura 12 apresenta a relação entre a concentração de AMPA e as correntes do pico A1 e C2, respectivamente, pois esses picos podem ser empregados como sinais analíticos na determinação do AMPA. O objetivo foi permitir a comparação das sensibilidades associadas a esses processos em função do uso ou não do pré-tratamento com polarização. Observa-se que não há diferença significativa entre as sensibilidades para o pico A1. Entretanto, para o pico C2, observa-se que o emprego do eletrodo sem polarização leva a um sinal analítico ligeiramente mais sensível à variação da concentração do AMPA do que o uso do eletrodo polarizado previamente à medida. Estas conclusões podem ser confirmadas pela observação dos valores das inclinações das retas apresentadas na Tabela 1.

A partir dos resultados obtidos é possível observar que o eletrodo de cobre apresenta voltamogramas bem parecidos sem polarização e com polarização, levando a conclusão de que a formação da camada ativa do cobre pode ocorrer sem a polarização do eletrodo. Assim, optou-se por não adicionar a etapa de polarização à preparação do eletrodo de cobre, de forma a deixar mais simples e rápido o método de determinação.



**Figura 12** – Relação entre a concentração de AMPA e as correntes dos picos A1 (a) e C2 (b) a partir do uso do eletrodo sem pré-tratamento (●) e com pré-tratamento por polarização (●).

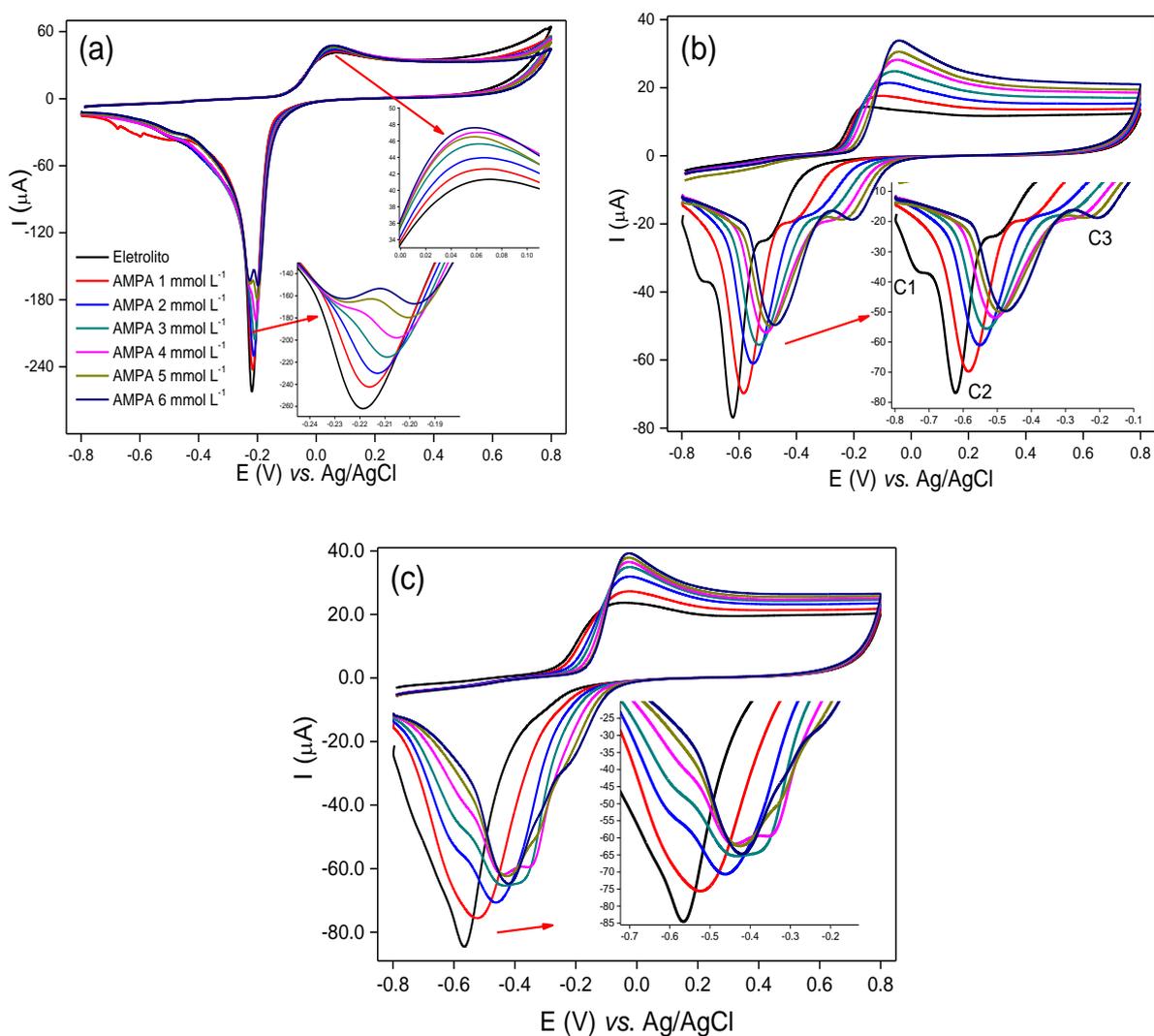
**Tabela 2** – Parâmetros das curvas apresentadas na Figura 12.

Tratamento	Pico	R <sup>2</sup>	a (µA)	b (µA L mmol <sup>-1</sup> )
Sem polarização	A1	0,9907	22,7	1,92
	C2	0,9898	-227	19,0
Com polarização	A1	0,9633	28,5	1,95
	C2	0,9983	-183	16,0

\* a: intercepto; b: coeficiente angular.

Nos resultados a seguir foram realizados experimentos de voltametria cíclica para observar o comportamento dos picos A1 e C2 frente a adições de AMPA em diferentes pH, dado que a produção da camada passivadora e a formação do complexo AMPA-Cu<sup>2+</sup> com consequente dissolução desta camada dependem do pH do meio. Na Figura 13, estão apresentados os voltamogramas cíclicos do eletrodo de cobre obtidos após sucessivas adições de AMPA em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> preparado em pH 6,0 (Figura 13a), 8,0 (Figura 13b) e 9,0 (Figura 13c). Observa-se para todos os pH estudados um aumento da intensidade do pico A1 em função do aumento da concentração de AMPA, da mesma forma como ocorrido em pH 7. Isso indica que o processo de formação da camada passivadora é similar na faixa de pH de 6 a 9, em acordo com o que está descrito na literatura (STREHBLOW, TITZE, 1980, SOUTO et al., 1992). Entretanto, o processo de formação do complexo AMPA-Cu<sup>2+</sup> parece ser mais favorável a pH 8, dada à maior variação observada da corrente de A1 em função da mudança de concentração. Um exame do coeficiente angular das curvas que representam a relação entre a corrente do pico A1 com a concentração de AMPA confirma a maior sensibilidade do pico A1 para o pH 8. Na Tabela 2, esta apresentada a compilação dos parâmetros das curvas obtidas para a relação entre a concentração de AMPA e as correntes dos picos A1 e C2 em função do pH.

Se o processo descrito pelo pico A1 parece ser o mesmo independentemente da mudança de pH, o mesmo não se pode se dizer dos processos catódicos e, portanto, do pico C2. A pH 6, o pico C2 apresenta comportamento similar ao descrito quando o meio tem pH igual a 7,0. Porém, nos pHs 8 e 9, o pico catódico é mais largo, podendo apresentar dois pequenos picos (ombros) associados a ele (Figura 13b).



**Figura 13** – Voltamogramas cíclicos do eletrodo de cobre obtidos após sucessivas adições de AMPA em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  preparado em pH 6,0 (a), 8,0 (b) e 9,0 (c).  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

**Tabela 3** – Parâmetros das curvas obtidas para a relação entre a concentração de AMPA e as correntes dos picos A1 e C2 em função do pH.

pH	Pico	$R^2$	a ( $\mu\text{A}$ )	b ( $\mu\text{A L mmol}^{-1}$ )
<b>6</b>	A1	0,8704	421	1,04
	C2	0,9962	-2,64	17,0
<b>7</b>	A1	0,9907	22,7	1,92
	C2	0,9898	-227	19,0
<b>8</b>	A1	0,9953	147	3,37
	C2	0,8498	-707	4,24
<b>9</b>	A1	0,9172	269	2,45
	C2	-	-	-

\* a: intercepto; b: coeficiente angular.

Assumindo-se que o processo de formação da camada passivadora é o mesmo em pH 6 – 9, a diferença no comportamento catódico pode refletir uma mudança na proporção dos componentes CuO e Cu(OH)<sub>2</sub> na parte superior da camada passivadora. As adições sucessivas de AMPA provocam no pico catódico em pH 8 e 9 um deslocamento de todo o pico para potenciais menos negativos, ao mesmo tempo em que causa uma diminuição do pico catódico, bem como dos ombros. Em pH 8, observa-se uma diminuição significativa do pico catódico principal e definição do pico C3 à medida que a concentração de AMPA aumenta. Este último pico não apresenta diminuição do seu tamanho com o aumento da concentração de AMPA, o que pode indicar uma espécie de Cu<sup>2+</sup> mais refratária à formação do complexo AMPA-Cu<sup>2+</sup>. Esse pico pode ser atribuído à redução do CuO a Cu<sub>2</sub>O, dado o maior potencial de oxidação apresentado na reação 4 entre as espécies consideradas. Assim, o pico C2 pode estar relacionado à redução do Cu(OH)<sub>2</sub> a Cu<sub>2</sub>O, sendo o Cu(OH)<sub>2</sub> o composto que é majoritariamente removido durante a formação do complexo com AMPA. Esses processos também ocorrem a pH 9, mas não é possível a identificação exata dos picos C1-C3 dada a baixa resolução entre eles.

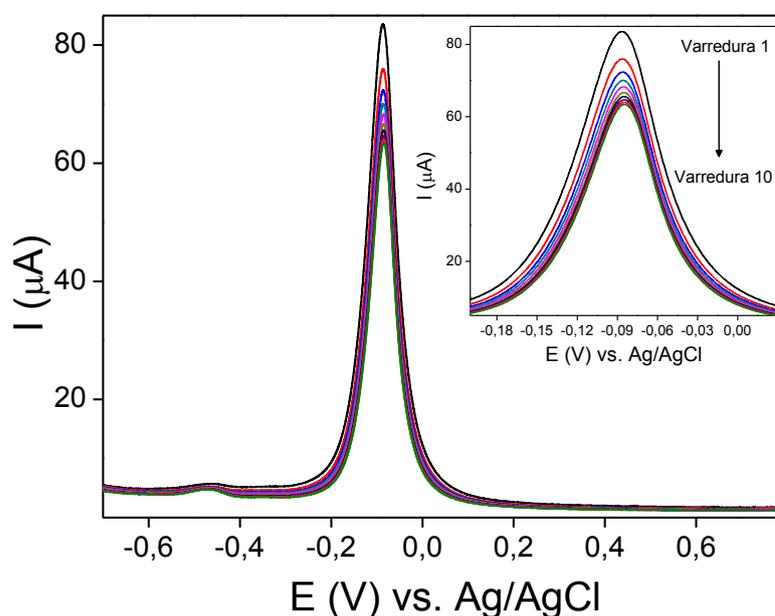
Com base nos estudos realizados até agora, através dos voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes pHs, é evidente que a eletroquímica da superfície do eletrodo de cobre é bastante complexa, uma vez que com a variação do pH, observa-se um comportamento eletroquímico distinto para cada voltamograma cíclico obtido, tanto para as repostas apenas com eletrólito-suporte, como para as adições de AMPA.

A partir da observação dos parâmetros das curvas obtidas para a relação entre a concentração de AMPA e as correntes dos picos A1 e C2 em função do pH (Tabela 2), verifica-se que a relação linear não é significativa para o processo anódico em pH 6 e 9, e para o processo catódico a pH 8. Em pH 9 não foi possível a obtenção da curva em relação ao pico C2 em função da baixa resolução entre os picos. O exame do coeficiente angular das curvas confirma a maior sensibilidade do pico C2 para o pH 7. Essa sensibilidade é inclusive a maior entre todos os processos nos valores de pH avaliados. Portanto, como a intenção é a determinação de baixas concentrações de AMPA em amostras de água, optou-se pela continuação do estudo e desenvolvimento do método voltamétrico empregando tampão fosfato pH 7.

#### 4.1.2. Desenvolvimento do método voltamétrico de determinação

Considerando que o processo catódico foi mais sensível à variação da concentração do AMPA em pH 7 em velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , optou-se por avaliar a técnica de voltametria de onda quadrada nesse pH. A voltametria de onda quadrada foi avaliada para determinação do AMPA no sentido direto da varredura de potencial de  $-0,8 \text{ V}$  à  $+0,8 \text{ V}$ , assim como realizado nas análises por voltametria cíclica. Os parâmetros utilizados inicialmente para obtenção dos voltamogramas foram: frequência ( $f$ ) de  $20 \text{ Hz}$ , amplitude ( $A_p$ ) de  $50 \text{ mV}$  e incremento de potencial ( $\Delta E_s$ ) de  $0,5 \text{ mV}$ .

A Figura 14 apresenta os voltamogramas de dez varreduras consecutivas do eletrodo de cobre em eletrólito-suporte. Observa-se que o pico relativo à região de interesse analítico (entre  $-0,2 \text{ V}$  e  $+0,1 \text{ V}$ ) diminui de tamanho com o número de varredura consecutivas até chegar a um tamanho constante em torno de 10 varreduras.

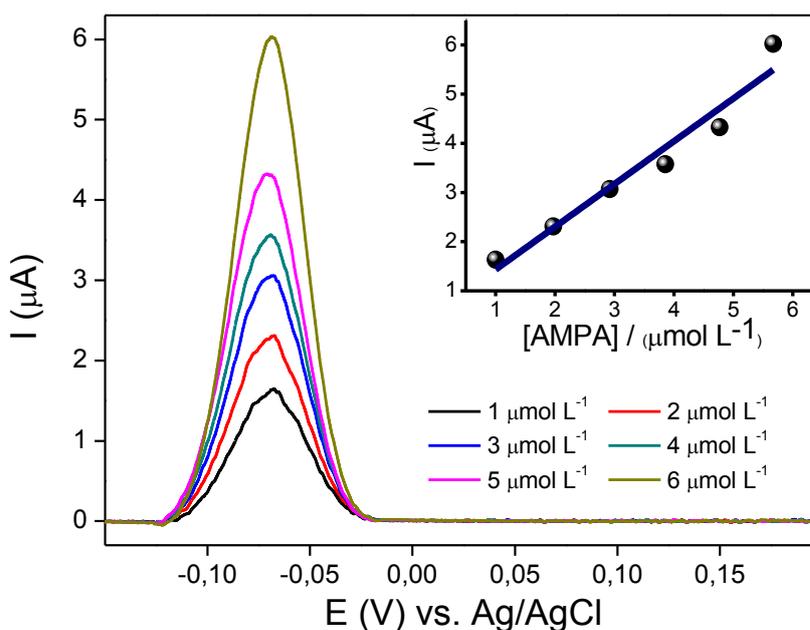


**Figura 14** – Voltamogramas de onda quadrada ( $10 \text{ mV s}^{-1}$ ) do eletrodo de cobre em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7.  $f = 20 \text{ Hz}$ ,  $A_m = 50 \text{ mV}$ ,  $\Delta E_s = 0,5 \text{ mV}$ .

Quando adicionado o AMPA, a corrente de pico tendeu a aumentar a cada adição. Os voltamogramas obtidos após cada adição do AMPA na faixa de concentração de  $1$  a  $6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  estão apresentados na Figura 15. Os voltamogramas da medida do AMPA foram subtraídos do voltamograma do eletrólito-suporte. Essa

forma de representação foi adotada para todos os ensaios com o eletrodo de cobre, pois não afeta o valor absoluto da intensidade da corrente de pico, nem a precisão das medidas. Na Figura 15 também está ilustrada a curva analítica obtida a partir dos voltamogramas. Esta curva possui sensibilidade de  $0,87 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ , com um coeficiente de correlação ( $R^2$ ) de 0,9395. Verificado o comportamento da resposta do AMPA pela técnica de VOQ, o próximo passo foi a otimização dos parâmetros da técnica, a fim de determinarmos o AMPA em níveis de concentração submicromolar.

No desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica utilizando a VOQ faz-se indispensável à otimização dos parâmetros que possam influenciar de forma significativa as respostas voltamétricas. A otimização da VOQ foi realizada de forma univariada, variando-se primeiramente o incremento de potencial ( $\Delta E_s$ ), seguido pela frequência ( $f$ ) e, por último, a amplitude de pulso ( $A_p$ ).

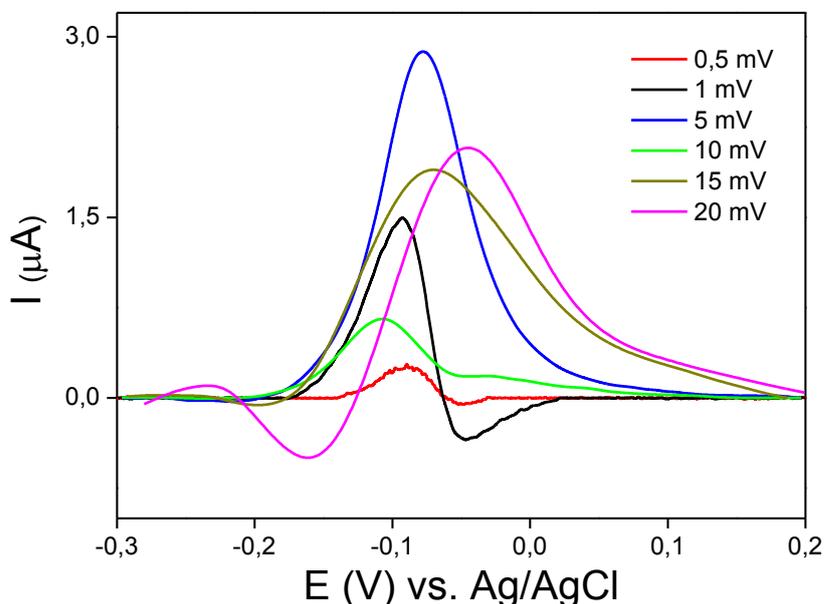


**Figura 15** – Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo de cobre em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , com adições sucessivas de AMPA a pH 7.  $f = 20 \text{ Hz}$ ,  $A_p = 50 \text{ mV}$ ,  $\Delta E_s = 0,5 \text{ mV}$ ,  $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$ . Inset: curva analítica obtida a partir dos voltamogramas.

Iniciando pela otimização do  $\Delta E_s$ , foram avaliados incrementos de potencial na faixa de  $0,5 \text{ mV}$  a  $20 \text{ mV}$ , fixando-se os valores de amplitude em  $50 \text{ mV}$  e frequência em  $20 \text{ Hz}$ . Para cada medida nesta etapa de otimização dos parâmetros da VOQ, foram realizadas dez varreduras com o eletrólito suporte, e em seguida uma varredura com a adição do AMPA a  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Na Figura 16 estão representadas

as repostas do AMPA para cada ensaio realizado com os diferentes valores de  $\Delta E_s$ . Nos voltamogramas obtidos em diferentes valores de  $\Delta E_s$ , o incremento que proporcionou maior pico foi 5 mV. De uma medida para outra é possível observar que à medida que o valor do  $\Delta E_s$  muda, os potenciais de pico também mudam. Isto ocorre porque o  $\Delta E_s$  sofre grande influência da velocidade da varredura. Dessa forma, o valor de incremento de potencial otimizado foi fixado em 5 mV para a o prosseguimento da otimização dos outros parâmetros da VOQ.

Na Figura 16, estão apresentados os voltamogramas obtidos em função da variação de frequência da VOQ, na faixa de 10 Hz a 100 Hz. Nos voltamogramas obtidos em diferentes valores de  $f$ , a frequência que proporcionou um pico mais intenso foi 25 Hz. A frequência é outro parâmetro que influencia a velocidade de varredura. Entretanto, nos resultados obtidos não se observa deslocamentos de potencial de pico tão aparentes quando para a variação do incremento. Assim, o valor de frequência ideal foi mantido em 25 Hz (juntamente com  $\Delta E_s$  de 5 mV) para a o prosseguimento da otimização da amplitude de pulso.



**Figura 16** – Voltamogramas de onda quadrada para AMPA  $1\mu\text{mol L}^{-1}$  com eletrodo de cobre em tampão fosfato  $0,1\text{ mol L}^{-1}$  pH 7 em função de diferentes valores de  $\Delta E_s$ .  $f = 20\text{ Hz}$ ,  $A_p = 50\text{ mV}$ .

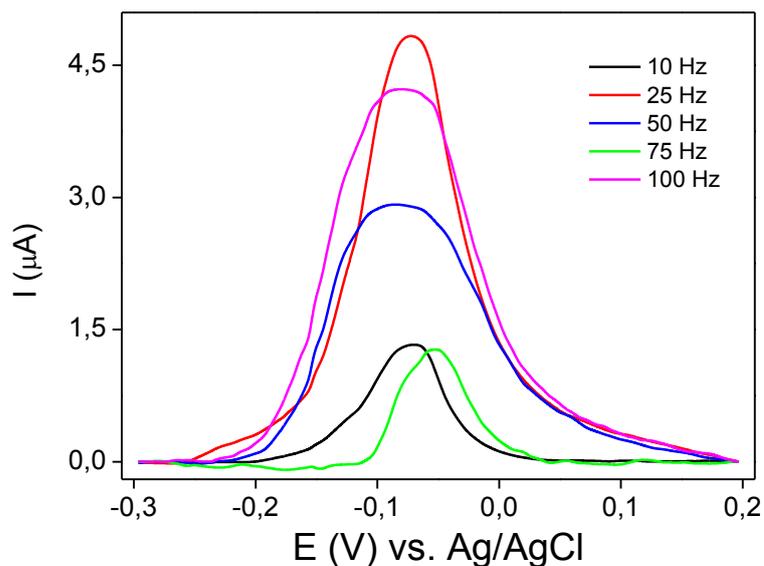


Figura 17 – Voltamogramas de onda quadrada para AMPA  $1\mu\text{mol L}^{-1}$  com eletrodo de cobre em tampão fosfato  $0,1\text{ mol L}^{-1}$  pH 7 em função de diferentes valores de  $f$ .  $\Delta E_s = 5\text{ mV}$ ,  $A_p = 50\text{ mV}$ .

A Figura 18 apresenta os voltamogramas obtidos em função da variação da amplitude de pulso na faixa de 10 mV a 100 mV. Nota-se um aumento da intensidade da corrente de pico com o aumento da amplitude de pulso de 10 mV a 75 mV, e empregando 100 mV a corrente de pico diminui consideravelmente. Assim, a amplitude de 75 mV foi escolhida por ter proporcionado a maior corrente de pico alcançada.

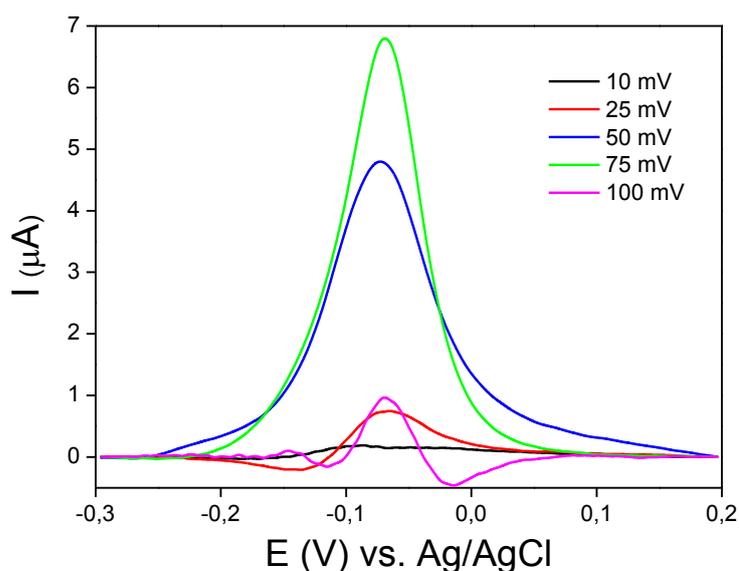
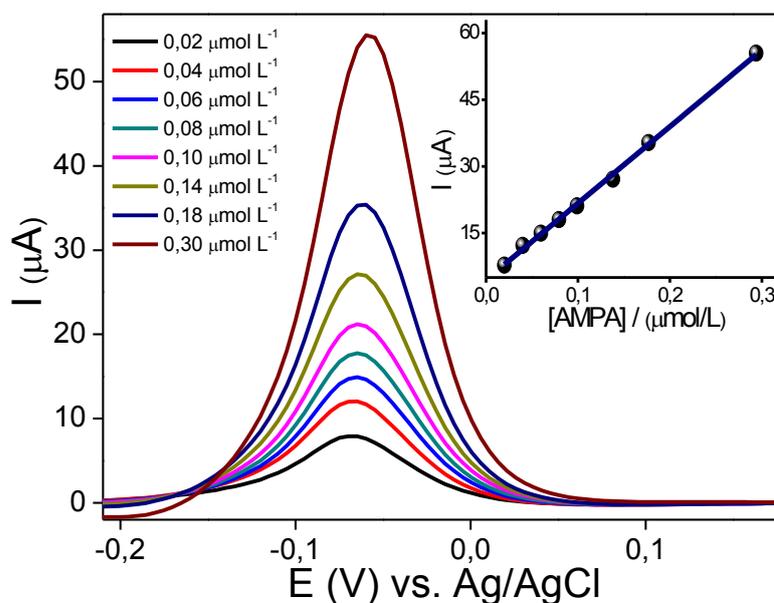


Figura 18 – Voltamogramas de onda quadrada para AMPA  $1\mu\text{mol L}^{-1}$  com eletrodo de cobre em tampão fosfato  $0,1\text{ mol L}^{-1}$  pH 7 em função de diferentes valores de  $A_p$ .  $\Delta E_s = 5\text{ mV}$ ,  $f = 25\text{ Hz}$ ,  $v = 125\text{ mV s}^{-1}$

Ao final da etapa de otimização, obteve-se como valores ideais para os parâmetros da técnica de VOQ os seguintes:  $\Delta E_p = 5$  mV,  $f = 25$  Hz e  $A_p = 75$  mV. Estes valores foram empregados para na obtenção de curvas analíticas para a determinação do AMPA em eletrólito-suporte. As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando o mesmo eletrodo, sem renovação da superfície entre as determinações sucessivas de cada curva. Investigou-se inicialmente a faixa de concentrações de AMPA de  $0,010 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $1,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  e observou-se que o método possui faixa linear de resposta de  $0,020 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $0,300 \mu\text{mol L}^{-1}$ . A Figura 19 ilustra as varreduras com diferentes concentrações do AMPA na faixa linear de resposta em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7. A curva analítica tem equação  $I (\mu\text{A}) = 4,46 (\mu\text{A}) + 172,6 (\mu\text{A L nmol}^{-1}) \times C_{\text{AMPA}} (\text{nmol L}^{-1})$ , com um coeficiente de correlação linear  $0,9981$  ( $n=8$ ).



**Figura 19** – Curva analítica para determinação de AMPA com eletrodo de cobre em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7.  $\Delta E_s = 5$  mV,  $f = 25$  Hz,  $A_p = 75$  mV,  $v = 125 \text{ mV s}^{-1}$

O limite de detecção (LD) foi calculado usando a relação  $3(\text{sd})/b$ , na qual (sd) é o desvio padrão das medidas de 21 branco e (b) é o coeficiente angular da reta. Com esse cálculo foi obtido um valor de  $6,5 \text{ nmol L}^{-1}$ . Já para o limite de quantificação (LQ) foi obtido um valor de  $21,7 \text{ nmol L}^{-1}$  usando a relação  $10(\text{sd})/b$ . É importante ressaltar que o método desenvolvido apresenta os menores LD e LQ para a determinação de AMPA em comparação aos métodos existentes na literatura.

O próximo passo no desenvolvimento do método foi avaliar a influência dos componentes da matriz de uma amostra de água superficial na determinação do

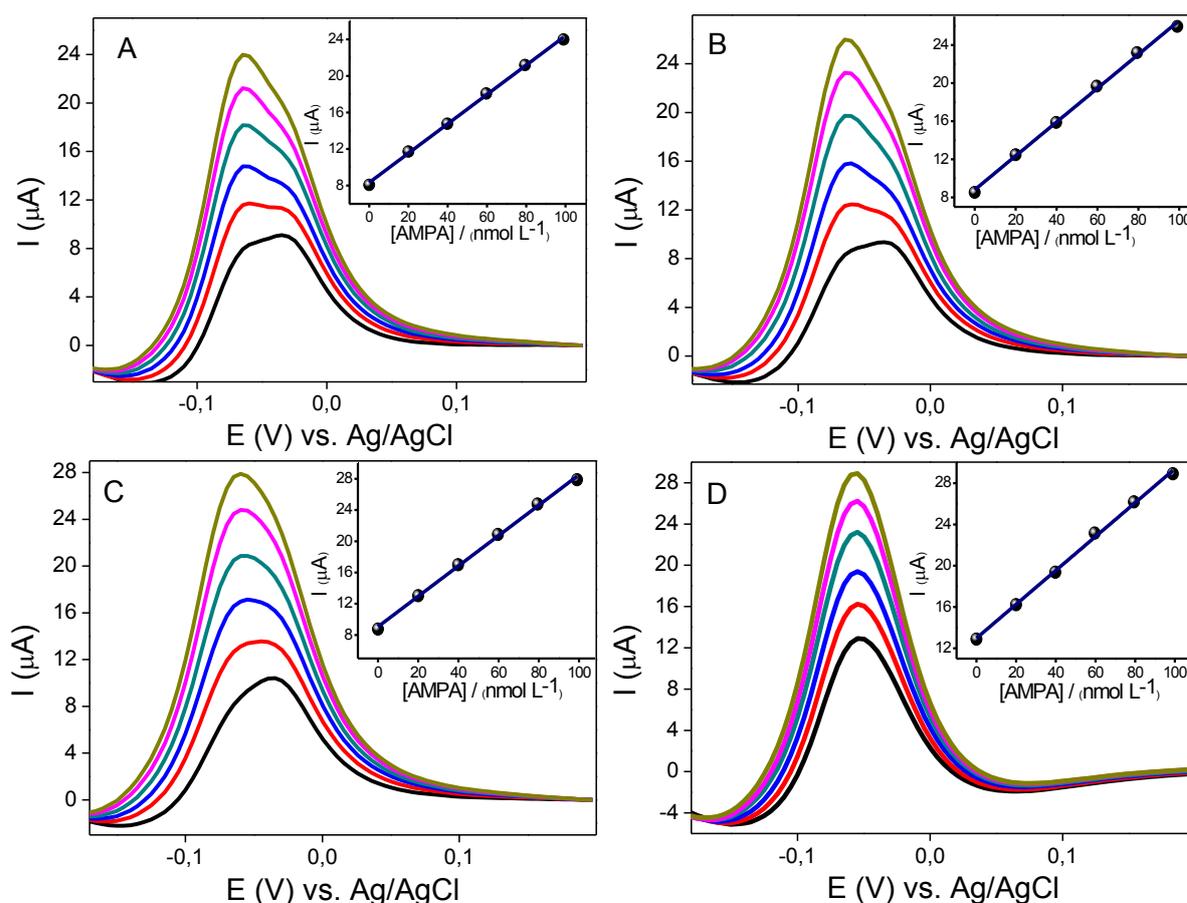
AMPA. A exatidão do método foi avaliada por meio da recuperação aparente em amostras de água de abastecimento fortificadas com o AMPA empregando o método da adição de padrão. Na Figura 20, estão ilustradas as curvas analíticas decorrentes do método de adição de padrão para a análise de quatro amostras de água de abastecimento (amostras A, B, C e D). As equações das curvas analíticas apresentadas na Figura 20 obtidas para cinco adições do AMPA são as seguintes:

- amostra A:  $I (\mu\text{A}) = 8,33(\mu\text{A}) + 160,7(\mu\text{A L nmol}^{-1}) \times C_{\text{AMPA}}(\text{nmol L}^{-1})$ , com  $R^2 = 0,9986$

- amostra B:  $I (\mu\text{A}) = 8,80(\mu\text{A}) + 177,7(\mu\text{A L nmol}^{-1}) \times C_{\text{AMPA}}(\text{nmol L}^{-1})$ , com  $R^2 = 0,9973$

- amostra C:  $I (\mu\text{A}) = 9,06(\mu\text{A}) + 194,4(\mu\text{A L nmol}^{-1}) \times C_{\text{AMPA}}(\text{nmol L}^{-1})$ , com  $R^2 = 0,9979$

- amostra D:  $I (\mu\text{A}) = 13,0(\mu\text{A}) + 164,1(\mu\text{A L nmol}^{-1}) \times C_{\text{AMPA}}(\text{nmol L}^{-1})$ , com  $R^2 = 0,9979$ .



**Figura 20** – Curvas analíticas para determinação de AMPA em quatro amostras de água de abastecimento com eletrodo de cobre em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7.  $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ ,  $f = 25 \text{ Hz}$ ,  $A_p = 75 \text{ mV}$ ,  $\nu = 125 \text{ mV s}^{-1}$ .

A Tabela 3 apresenta os resultados da determinação de AMPA nas amostras de água de abastecimento. Observa-se que o método possui exatidão satisfatória, com valores de recuperação aparente na faixa de 93% a 104%. **A precisão também é satisfatória, com erro médio relativo de 3,7% (n = 3).**

**Tabela 4** – Resultados de ensaio de recuperação aparente para análise de amostras de água de abastecimento com método que emprega eletrodo de cobre e VOQ.

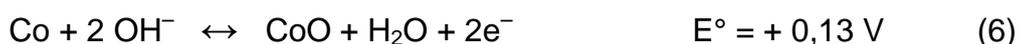
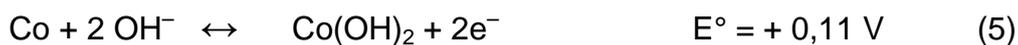
<b>Amostra</b>	<b>Concentração adicionada (nmol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração encontrada (nmol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>A</b>	50	51,8	104
<b>B</b>	50	49,5	99
<b>C</b>	50	46,6	93
<b>D</b>	80	76,1	95

## 4.2. Determinação voltamétrica do AMPA empregando eletrodo de cobalto

### 4.2.1 Estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo de cobalto por voltametria cíclica

Durante uma varredura cíclica em solução fortemente alcalina é formada uma espécie estável de Co(II), que segundo Gomez et al. (1982) podem ser encontradas duas estruturas de tipo sanduíche na interface do eletrodo, Co/CoO/Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> e Co/CoO/Co(OH)<sub>2</sub>. As duas estruturas do óxido metálico podem ser diferentes nos seus graus de hidratação, estado de oxidação ou em ambos ao mesmo tempo.

Badawi et al. (2000) também relatam à formação de um filme duplo sobre a superfície do eletrodo. A presença e o espessamento da camada passivadora, que ocorre em soluções neutras ou básicas, podem ser atribuídos a diferentes mecanismos que envolvem etapas químicas e eletroquímicas (BADAWY et. al, 2000). Duas das conversões atribuídas à oxidação do Co a Co (II) são:

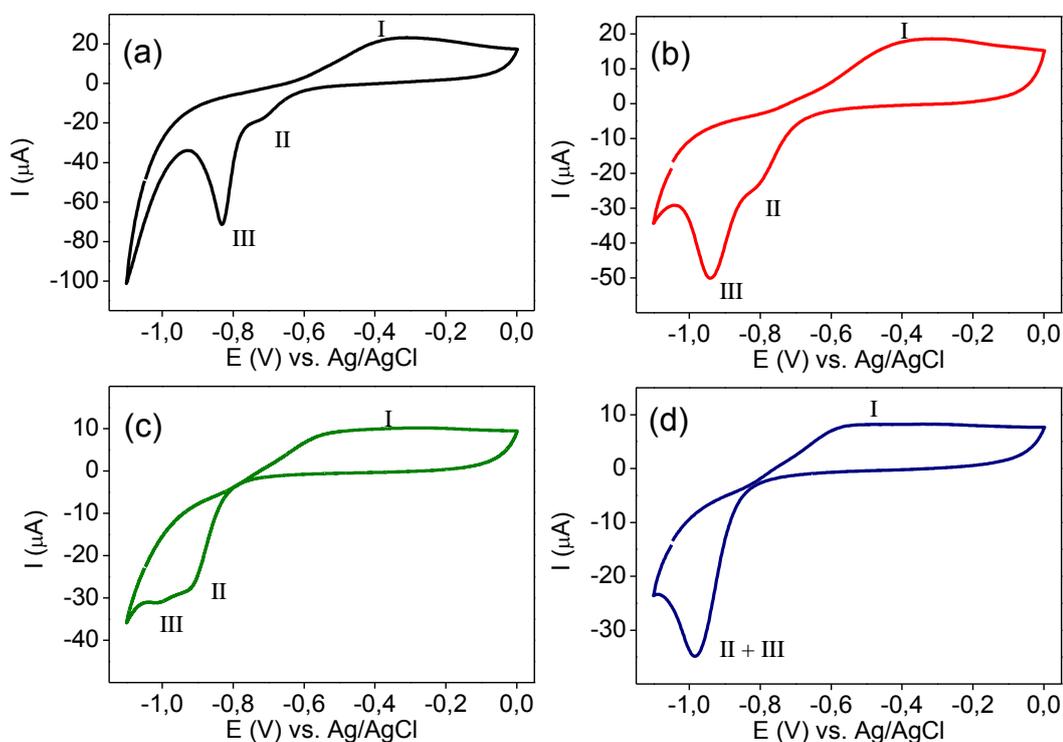


Em soluções neutras, as espécies de CoO e Co(OH)<sub>2</sub> são mais estáveis, enquanto que somente o Co(OH)<sub>2</sub> é a espécie mais estável em solução básica. Quando a camada passivadora é submetida a uma oxidação adicional as espécies referentes ao Co(III) (CoOOH e/ou Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) podem ser formadas. Vale salientar que a

formação de espécies do Co(III) depende do potencial aplicado ao eletrodo e do pH da solução (LARRAMONA e GUTIÉRREZ, 1990, BADAWEY et al., 2000).

O comportamento do eletrodo de cobalto foi estudado inicialmente através de voltametria cíclica em uma solução de tampão fosfato  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  nos pHs 7,0, 8,0, 9,0 e 10,0 (Figura 21), com uma velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , em potencial inicial de varredura  $-1,1 \text{ V}$  até um potencial de inversão de  $0,0 \text{ V}$ .

Para todos os voltamogramas obtidos nos valores de pH investigados é observado o aparecimento de um único pico anódico (pico I) em aproximadamente  $-0,30 \text{ V}$ , proveniente das espécies oxidadas que foram formadas na superfície do eletrodo, de acordo com o apresentado nas equações 5 e 6. Como já mencionado, em pH básico pode ocorrer a formação das espécies  $\text{CoOOH}$  e/ou  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , correspondente da oxidação do Co para Co (III). Como elas são dependentes do pH da solução e do potencial aplicado, em uma solução de fosfato essas espécies de Co(III) só vão ocorrer em um potencial maior que  $0,0 \text{ V}$  (BADAWEY et al, 2000, LARRAMONA E GUTIÉRREZ, 1990). No entanto, nos ensaios realizados nesse trabalho por voltametria cíclica, o potencial máximo foi de  $0,0 \text{ V}$ , indicando baixa probabilidade de ocorrência das espécies de Co(III).



**Figura 21** – Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de cobalto em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  nos pHs 7 (a), 8 (b), 9 (c) e 10 (d).  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

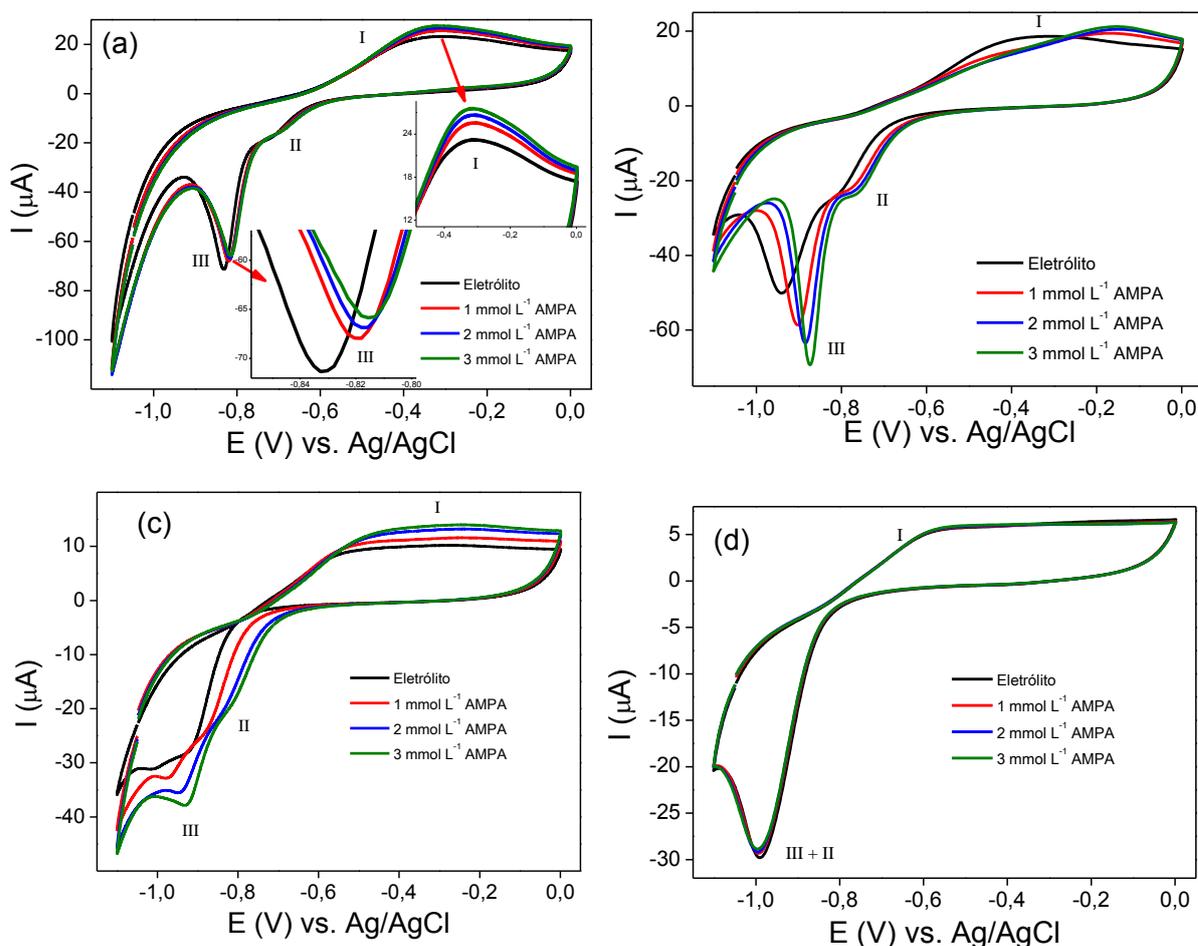
Na varredura reversa, para os pH 7,0, 8,0 e 9,0 são observados dois picos de redução em aproximadamente -0,72 V (pico II) e -0,83 V (pico III) para o pH 7, -0,81 V (pico II) e -0,94 V (pico III) para o pH 8, e -0,93 V (pico II) e -0,95 V (pico III) para o pH 9. A carga global de redução é independente da quantidade relativa das espécies que compõem o pico de redução, o que indica que as espécies correspondentes provavelmente envolvem o mesmo estado de oxidação, mas uma configuração estrutural diferente (GOMEZ et al., 1982). Assim, estes picos tem origem na divisão da corrente de pico de redução relacionada à existência de pelo menos duas espécies do Co de mesmo estado de oxidação – CoO e Co(OH)<sub>2</sub>. Levando em consideração os potenciais de redução das espécies de Co(II), pode-se definir que o pico II está relacionado com o CoO, já que possui o maior potencial de oxidação, enquanto que o pico III está relacionado com o Co(OH)<sub>2</sub>. Observa-se que o aumento do pH provoca um aumento no tamanho do pico II, enquanto que o pico III tende a diminuir.

Em pH 10, a região catódica apresenta apenas um pico de redução observado em aproximadamente -0,98 V, que corresponde a junção dos picos II e III. Esse comportamento pode estar associado tanto ao aumento da concentração de OH<sup>-</sup> como aos parâmetros cinéticos da reação (NOVOSELSKY e MENGLISHEVA, 1984). Para o aparecimento desses dois picos, a velocidade de varredura deveria ser menor que a utilizada nesse trabalho, já que existem trabalhos que mostram claramente os dois picos de redução em soluções com pH maiores que 10 utilizando uma velocidade menor (GOMEZ et al., 1982, ISMAIL e BADAWY, 2000).

Após o estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo de cobalto no tampão fosfato, foi investigada a influência do pH sobre a resposta voltamétrica do AMPA pela técnica de voltametria cíclica. A Figura 22 apresenta os voltamogramas cíclicos do eletrodo de cobalto obtidos após sucessivas adições de AMPA em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> preparado em pH 7,0 (Figura 22a), 8,0 (Figura 22b), 9,0 (Figura 22c) e 10 (Figura 22d).

Na faixa de pH 7 a 9 é observado um aumento de pico anódico (pico I) com a adição do AMPA, levando a uma confirmação que o AMPA está reagindo com as espécies formadas na superfície do eletrodo de cobalto. Para o pH 10, não se observa aumento do pico anódico com o aumento da concentração de AMPA. Na varredura reversa, para o pH 7, os picos II e III sofrem deslocamento para potenciais

mais positivos e seus tamanhos diminuem em relação à resposta obtida com o eletrólito-suporte, indicando que a espécie que está sendo reduzida faz parte do processo de formação do complexo AMPA-Co. Um comportamento semelhante foi obtido nesse trabalho utilizando o eletrodo de cobre para determinação de AMPA com a técnica de voltametria cíclica em pH 7,0 (Figura 10), indicando que o AMPA pode estar formando complexo de forma equivalente para o  $\text{Cu}^{2+}$  e o  $\text{Co}^{2+}$  nessas condições.



**Figura 22** – Voltamogramas cíclicos do eletrodo de cobalto obtidos após sucessivas adições de AMPA em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  preparado em pH 7,0(a), 8,0 (b), 9,0 (c) e 10 (d).  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Para a varredura reversa em pH 8 e 9, observa-se que para o pico III é registrado um aumento de pico, bem como deslocamento do mesmo para potenciais mais positivos à medida que o AMPA vai sendo adicionado. O pico II também sofre um deslocamento para potenciais mais positivos. Entretanto este apresenta uma diminuição do seu tamanho com o aumento da concentração de AMPA. No pH 10,

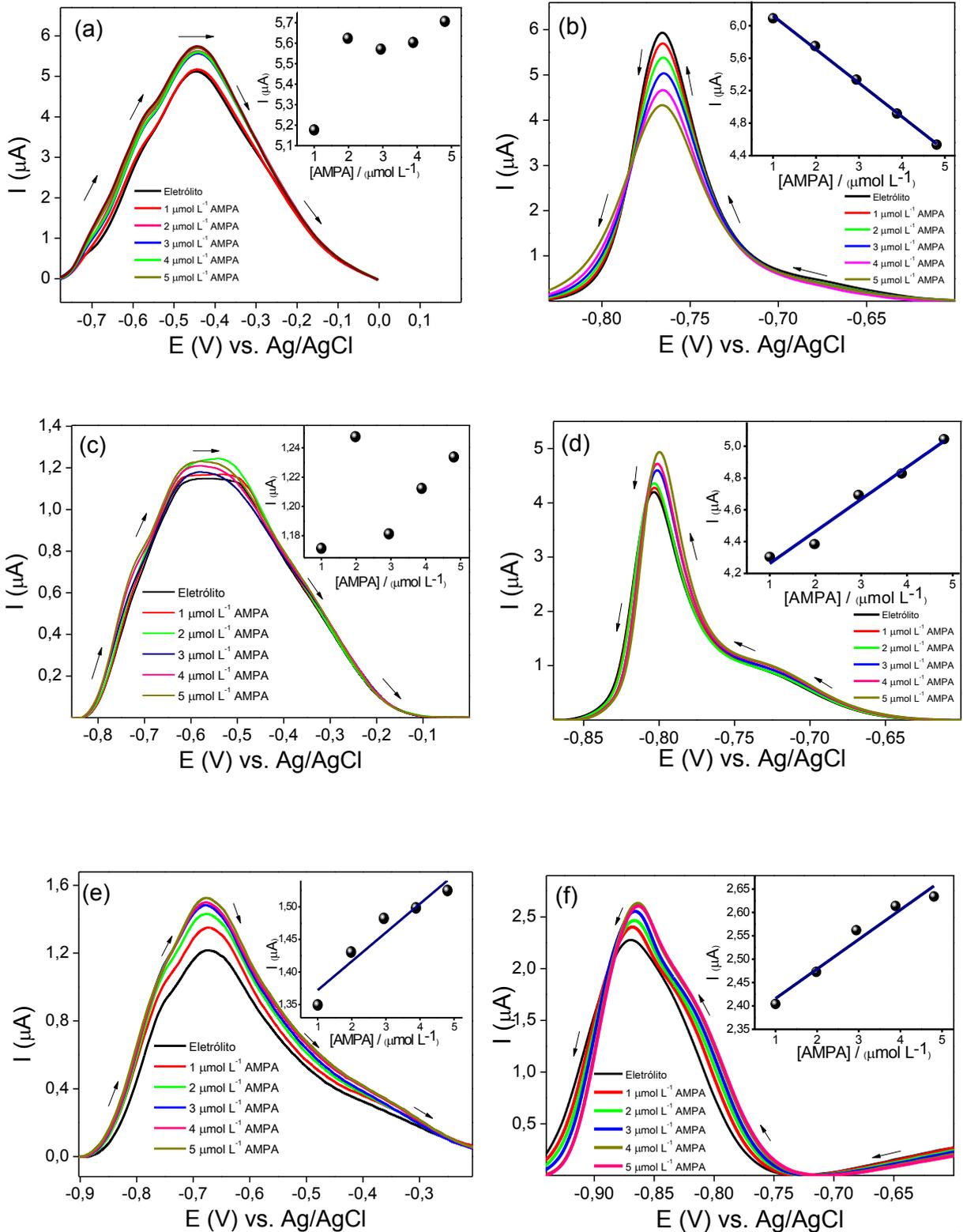
assim como para o processo anódico, não foi encontrada variação nos voltamogramas para os processos catódicos após adição de AMPA em comparação ao voltamograma do eletrólito-suporte.

#### 4.2.2. Desenvolvimento do método voltamétrico de determinação

Para o desenvolvimento do método de determinação do AMPA com eletrodo de cobalto, utilizou-se a técnica de voltametria de pulso diferencial. Como o AMPA apresentou sinal analítico possível de ser empregado na faixa de pH de 7 a 9, em ambos os processos anódico e catódico, foram realizadas varreduras na janela de potencial de -1,1 V a 0,0 V, considerando-se somente o sentido direto ou o sentido reverso da varredura (de 0,0 V a -1,1 V).

As figuras 23, 24 e 25 ilustram os voltamogramas após cada adição do AMPA na faixa de concentração de 1 a 5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para os pHs 7, 8 e 9, respectivamente. Para cada pH avaliado, os voltamogramas foram obtidos nos sentidos direto e reverso de varredura. Em cada figura também estão apresentadas as curvas analíticas construídas a partir da relação entre as correntes de pico e as concentrações de AMPA adicionadas.

Na Tabela 4, estão relacionados os parâmetros das curvas obtidas para a relação entre a concentração de AMPA e as correntes de pico em função do pH e do sentido da varredura. Verificou-se que a maior sensibilidade à detecção do AMPA foi obtida com o eletrodo de cobalto em meio pH 7 empregando a varredura reversa. Visto que a melhor resposta encontrada para o eletrodo de cobalto pela técnica de VPD é na varredura reverso com o pH 7, o passo seguinte no desenvolvimento da metodologia para determinação do AMPA foi otimizar os parâmetros da técnica voltamétrica.



**Figura 23** – Voltamogramas de pulso diferencial do eletrodo de cobalto em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> com adições sucessivas de AMPA em pH 7 (a) Sentido direto e (b) sentido reverso, pH 8 (c) Sentido direto e (d) sentido reverso pH 9. (e) Sentido direto; (f) sentido reverso.  $A_p = 25$  mV,  $\Delta E_s = 5$  mV;  $t_s = 0,5$  s;  $t_p = 0,05$  s;  $v = 10$  mV s<sup>-1</sup>.

No desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica utilizando a voltametria de pulso diferencial faz-se indispensável à otimização dos parâmetros que possam influenciar de forma significativa as respostas voltamétricas. Na voltametria de pulso diferencial foram otimizados inicialmente o incremento e o intervalo de tempo a fim de escolher a melhor velocidade de varredura e logo depois foram otimizados o tempo de pulso e a amplitude de pulso.

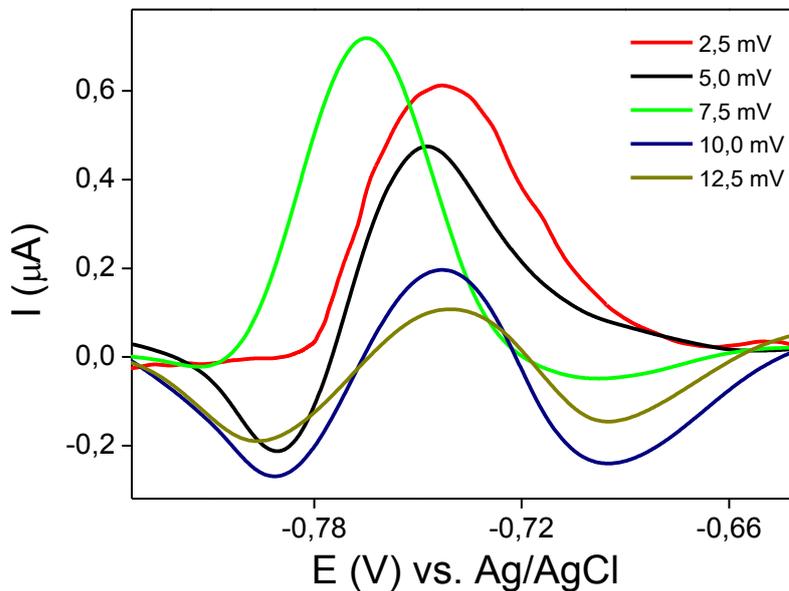
**Tabela 5** – Parâmetros das curvas obtidas para a relação entre a concentração de AMPA e as correntes de picos em função do pH e do sentido da varredura por voltametria de pulso diferencial com eletrodo de cobalto. a: intercepto; b: coeficiente angular.

pH	Sentido	R <sup>2</sup>	a (μA)	b (μA L μmol <sup>-1</sup> )
7	Direto	-	-	-
	Reverso	0,9978	6,53	- 0,41
8	Direto	-	-	-
	Reverso	0,9666	4,06	0,20
9	Direto	0,8908	1,32	0,04
	Reverso	0,9486	2,35	0,06

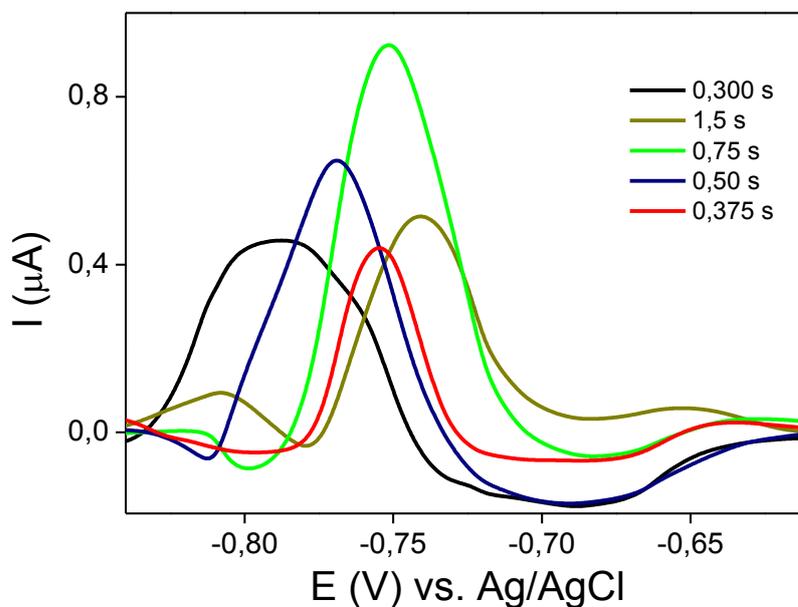
Iniciando pelo incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ), foram avaliados os incrementos na faixa de 2,5 a 12,5 mV (Figura 26), fixando-se os valores de intervalo de tempo em 0,5 s, tempo de pulso em 0,05 s e amplitude em 25 mV. O incremento de varredura foi variado em função da velocidade de varredura, de maneira que a velocidade de varredura também variasse de 5 a 25 mV s<sup>-1</sup>. A maior diferença de corrente de pico foi obtida a um incremento de varredura de 7,5 mV. Com estes resultados, o incremento de varredura 7,5 mV foi determinado como sendo o valor adequado para análise do AMPA.

Para a otimização do intervalo de tempo foi empregado um incremento de varredura de 7,5 mV, e fixado os valores do tempo de pulso em 0,05 s e amplitude em 25 mV. O intervalo de tempo foi variado de 0,3 a 1,5 s (Figura 27) também em função da velocidade de varredura (5 a 25 mV). É observado na Figura 27 que a resposta do AMPA possui potencial de pico diferente para cada intervalo de tempo aplicado, e que o melhor intervalo de tempo está em 0,75 s. Com a escolha do

melhor incremento e melhor intervalo de tempo chegamos a uma velocidade ótima de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ .

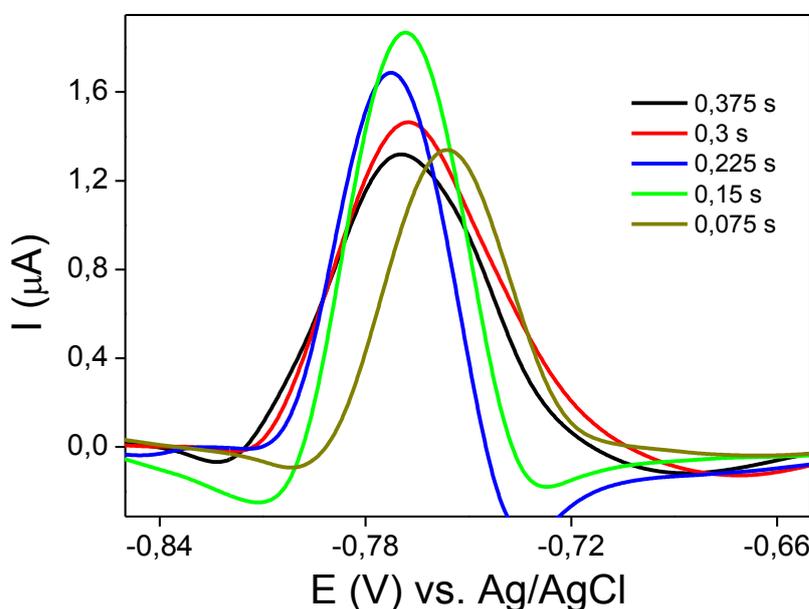


**Figura 24** – Voltamogramas de pulso diferencial para AMPA  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  com eletrodo de cobalto em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7 em função de diferentes valores de  $\Delta E_s$ .  $A_p = 25 \text{ mV}$ ,  $t_s = 0,5 \text{ s}$ ;  $t_p = 0,05 \text{ s}$ .



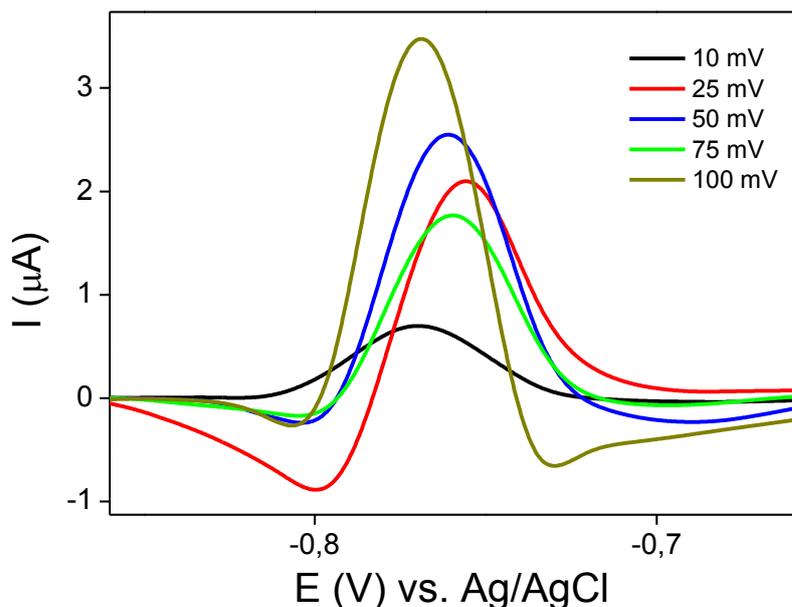
**Figura 25** – Voltamogramas de pulso diferencial para AMPA  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  com eletrodo de cobalto em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7 em função de diferentes valores de  $t_s$ .  $A_p = 25 \text{ mV}$ ,  $\Delta E_s = 7,5 \text{ mV}$ ;  $t_p = 0,05 \text{ s}$ .

Para a otimização do tempo de pulso foram fixados o valor do incremento de varredura em 7,5 mV e do intervalo de tempo em 0,75 s. O tempo de pulso foi variado de 0,375 a 0,075 s (Figura 28), valores que correspondem a 50% e 10% do intervalo de tempo, respectivamente. Com o a diminuição do tempo de pulso, de 0,375 s a 0,15 s, é observado um aumento nas correntes de pico, enquanto que no tempo de pulso de 0,075 s a corrente diminui. O tempo de pulso que proporcionou maior corrente de pico e, portanto, escolhido para o prosseguimento do trabalho foi de 0,15 s.



**Figura 26** – Voltamogramas de pulso diferencial para AMPA  $1\mu\text{mol L}^{-1}$  com eletrodo de cobalto em tampão fosfato  $0,1\text{ mol L}^{-1}$  pH 7 em função de diferentes valores de  $t_p$ .  $A_p = 25\text{ mV}$ ,  $\Delta E_s = 7,5\text{ mV}$ ;  $t_s = 0,75\text{ s}$ .

Por último, para a otimização da amplitude foram fixados o valor do incremento de varredura em 7,5mV, do intervalo de tempo a 0,75 s e tempo de pulso em 0,15 s. A amplitude foi alterada de 10 mV a 100 mV (Figura 29).



**Figura 27** – Voltamogramas de pulso diferencial para AMPA  $1\mu\text{mol L}^{-1}$  com eletrodo de cobalto em tampão fosfato  $0,1\text{ mol L}^{-1}$  pH 7 em função de diferentes valores de  $A_p$ .  $\Delta E_s = 7,5\text{ mV}$ ;  $t_s = 0,75\text{ s}$ ;  $t_p = 0,15\text{ s}$ .

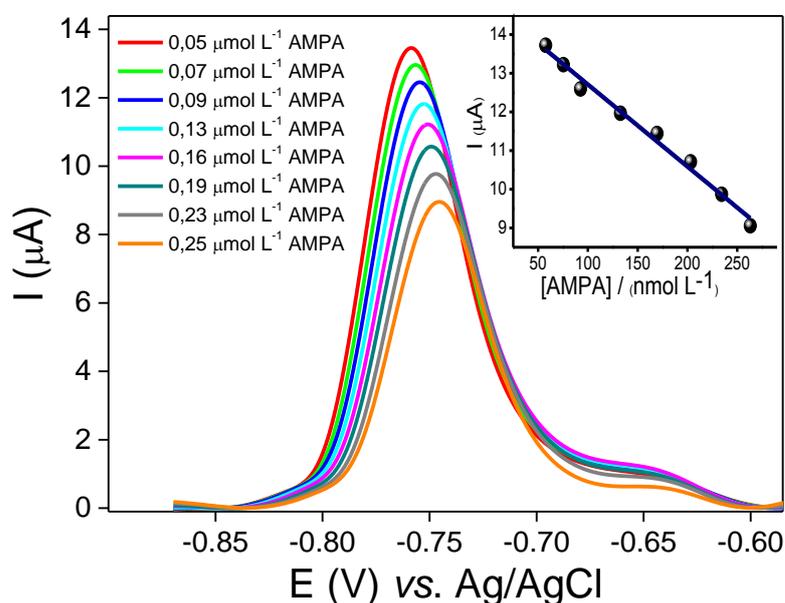
O valor de 100 mV foi o escolhido como amplitude ótima da técnica voltamétrica para determinação do AMPA. Na Tabela 6, encontra-se de forma mais resumida todas as variáveis e faixas de otimização para a voltametria de pulso diferencial.

**Tabela 6** – Parâmetro de otimização para a técnica de VPD.

Parâmetros	Faixa de otimização	Parâmetros otimizados
<i>Incremento de varredura</i>	2,5 – 12,5 mV	7,5 mV
<i>Intervalo de tempo</i>	0,3 – 1,5 s	0,75 s
<i>Tempo de pulso</i>	0,375 – 0,075 s	0,15 s
<i>Amplitude de pulso</i>	10 – 100 mV	100 mV

Ao final da etapa de otimização, obteve-se como valores ideais para os parâmetros da técnica de VDP os seguintes:  $\Delta E_s = 7,5\text{ mV}$ ,  $A_p = 100\text{ mV}$ ,  $t_s = 0,75\text{ s}$  e  $t_p = 0,15\text{ s}$ . Estes valores foram empregados para na obtenção de curvas analíticas para a determinação do AMPA em eletrólito-suporte. As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando o mesmo eletrodo, sem renovação da superfície entre as

determinações sucessivas de cada curva. Investigou-se inicialmente a faixa de concentrações de AMPA de  $0,050 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $1,00 \mu\text{mol L}^{-1}$  e observou-se que o método possui faixa linear de resposta de  $0,050 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $0,300 \mu\text{mol L}^{-1}$ . A Figura 30 ilustra as varreduras com diferentes concentrações do AMPA na faixa linear de resposta em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7. A curva analítica tem equação  $I (\mu\text{A}) = -0,15(\mu\text{A}) - 21,22(\mu\text{A L nmol}^{-1}) \times C_{\text{AMPA}}(\text{nmol L}^{-1})$ , com um coeficiente de correlação linear  $0,9869$  ( $n=8$ ).



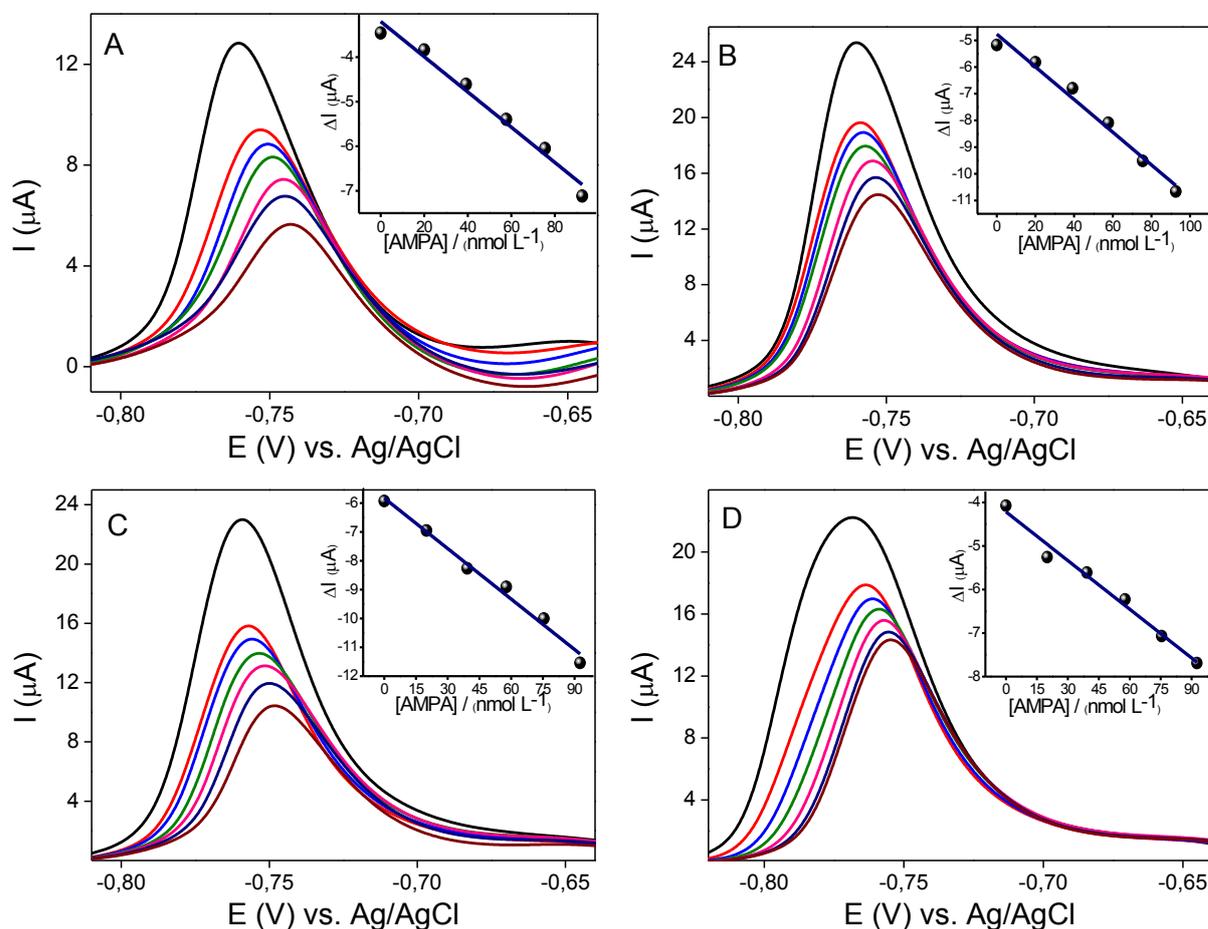
**Figura 28** – Curva analítica para determinação de AMPA com eletrodo de cobalto em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7.  $\Delta E_s = 7,5 \text{ mV}$ ,  $A_p = 100 \text{ mV}$ ,  $t_s = 0,75 \text{ s}$  e  $t_p = 0,15 \text{ s}$

O limite de detecção foi calculado usando a relação  $3(\text{sd})/b$ , na qual (sd) é o desvio padrão da medida de 18 branco. Com esse cálculo foi obtido um valor de  $11,7 \text{ nmol L}^{-1}$ . Em quanto o limite de quantificação (LQ) foi obtido um valor de  $39,1 \text{ nmol L}^{-1}$  usando a relação  $10(\text{sd})/b$ . Os valores de LD e LQ correspondem, respectivamente, a menor concentração do analito que pode ser detectada pelo método e a menor concentração que pode ser detectada com exatidão e precisão confiável.

O próximo passo no desenvolvimento da metodologia eletroanalítica foi avaliar a influência dos componentes da matriz em amostras de águas de abastecimento na determinação do AMPA. A exatidão do método foi avaliada por

meio da recuperação aparente em amostras de água de superfície fortificadas com o AMPA empregado o método da adição de padrão. Foi observado um deslocamento do potencial de pico para valores positivos em função da adição de AMPA, porém esse comportamento não afeta o valor absoluto da intensidade da corrente de pico.

As equações relativas às adições de padrão para o AMPA estão representadas por  $I (\mu\text{A}) = - 3,21 (\mu\text{A}) - 39,5 \times C_{\text{AMPA}} (\text{nmol L}^{-1})$  para a amostra A, com  $R^2 = 0,9738$ . Para a amostra B, por  $I (\mu\text{A}) = - 4,76 (\mu\text{A}) - 61,28 \times C_{\text{AMPA}} (\text{nmol L}^{-1})$  com  $R^2 = 0,9757$ . Para a amostra C,  $I (\mu\text{A}) = - 5,82 (\mu\text{A}) - 58,35 \times C_{\text{AMPA}} (\text{nmol L}^{-1})$ , com  $R^2 = 0,98407$ . Para a amostra D,  $I (\mu\text{A}) = - 4,21 (\mu\text{A}) - 37,27 \times C_{\text{AMPA}} (\text{nmol L}^{-1})$  com  $R^2 = 0,9803$ .



**Figura 29** – Curvas analíticas para determinação de AMPA em quatro amostras de água de abastecimento com eletrodo de cobalto em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7.  $\Delta E_s = 7,5 \text{ mV}$ ,  $A_p = 100 \text{ mV}$ ,  $t_s = 0,75 \text{ s}$  e  $t_p = 0,15 \text{ s}$

Na Tabela 7, estão apresentados os resultados da determinação de AMPA nas amostras de água de abastecimento empregando eletrodo de cobalto. Observa-se que o método possui exatidão satisfatória, com valores de recuperação aparente na faixa de 97% a 113%. A precisão também é satisfatória, com erro médio relativo de 4,3% (n = 4).

**Tabela 7** – Resultados de ensaio de recuperação aparente para análise de amostras de água de abastecimento com método que emprega eletrodo de cobalto e VDP.

<b>Amostra</b>	<b>Concentração adicionada (nmol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração encontrada (nmol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>A</b>	80	81,0	101
<b>B</b>	80	77,7	97
<b>C</b>	100	99,9	100
<b>D</b>	100	113,2	113

### 4.3 Comparação das condições analíticas do método proposto com valores reportados na literatura para a determinação do AMPA

Fazendo-se uma comparação com trabalhos reportados na literatura utilizando os LD e LQ para determinação do AMPA, os eletrodos metálicos de cobre e cobalto merece destaque, pois conseguiu alcançar baixo limite de detecção quando comparados a outras técnicas de determinação. Na tabela 7, estão apresentados de forma resumida alguns trabalhos para determinação do AMPA em comparação com os resultados realizado neste trabalho.

**Tabela 8** – Comparação entre os métodos de determinação de AMPA

<b>Método</b>	<b>Faixa linear de resposta (mg mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>LD (ng mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ (ng mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Cromatografia gasosa</b>	0,030 – 0,3	10	30	Souza, et al., 2006
<b>Eletroforese capilar/ eletroquimioluminescência</b>	0,056 – 6,66	30	—	Hsu e tal., 2009
<b>Espectroscopia de massa/ Cromatografia líquida</b>	0,1 – 2	50	100	Han, et al., 2016
<b>VOQ/eletrodo de cobre</b>	<b>0,002 – 0,03</b>	<b>0,72</b>	<b>2,41</b>	<b>Este trabalho</b>
<b>VPD/eletrodo de cobalto</b>	<b>0,006 – 0,03</b>	<b>1,3</b>	<b>4,34</b>	<b>Este trabalho</b>

## ***5. Conclusões propostas futuras***

No estudo realizado, metodologias eletroanalítica para determinação do AMPA utilizando como eletrodo de trabalho o eletrodo de cobre e o eletrodo de cobalto foi desenvolvidas com sucesso e de forma particular para cada eletrodo de trabalho.

A investigação do efeito do pH sobre o sinal analítico para ambos os eletrodos obtiveram melhores sensibilidade no pH 7 para determinação do AMPA. Para o eletrodo de cobre a técnica utilizada foi a de VOQ, enquanto que para o eletrodo de cobalto a técnica utilizada foi a VPD baseada em varreduras reversas.

Os eletrodos sem a otimização já possuía uma boa sensibilidade e a otimização dos parâmetros aumentou ainda mais a sensibilidade do método empregado para cada eletrodo. Vale salientar que, a superfície dos eletrodos (cobre e cobalto) também depende fortemente que as etapas de limpeza sejam muito bem concretizadas.

Os LD e LQ encontrado para ambos os eletrodos estão próximos aos relatados na literatura.

Por fim, método proposto oferece as vantagens de ser sensível e rápido, valendo ainda mencionar a simplicidade dos reagentes e aparelhos utilizados no procedimento.

## ***6. Propostas futuras***

Como proposta futuras, temos a continuidade das análises em outras amostras (verduras, frutas, legumes, entre outros) para determinação do AMPA e ainda empregando a metodologia desenvolvida nesse trabalho, para realizar a determinação do glifosato e do glifosato/AMPA.

# REFERÊNCIAS

---

AULING, R. Development of LC-MS method for determination of glyphosate residues in wheat. 2009. 32 p. [dissertation] - University Of Tartu, Faculty of Science and Technology Institute of Chemistry, Tartu, Estônia, 2009.

BADAWY, W., A.; AL-KHARAFI, F., M.; AL-AJMI, J., R.; Electrochemical behaviour of cobalt in aqueous solutions of different pH; Journal of Applied Electrochemistry, 30: 693-704, 2000.

BAIRD, C., CANN, M. Environmental Chemistry. 2. Nova York: Freeman, 2005.

BATALLER, R., CAMPOS, I., LAGUARDA-MIRO, N., ALCAÑIZ, M., SOTO, J., MARTÍNEZ-MÁÑEZ, GIL, L., GARCÍA-BREIJO, E., IBÁÑEZ-CIVERA, J., Glyphosate Detection by Means of a Voltammetric Electronic Tongue and Discrimination of Potential Interferents; Sensors, 12, 17553-17568, 2012.

BATTAGLIN, W.A., MEYER, M.T., KUIVILA, K., DIETZE, J., Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in U.S. soils, surface water, groundwater, and precipitation. J. Am. Water Resour. Assoc. 50 (2), 275–290, 2014.

BATTAGLIN W. A., SMALLING K.L., ANDERSON C., CALHOUN D., CHESTNUT T., Muths E., Potential interactions among disease, pesticides, water quality and adjacent land cover in amphibian habitats in the United States. Science of the Total Environment. Vol. 566, pp. 320-332, 2016.

BOTTA, F., LAVISON, G., COUTURIER, G., ALLIOT, F., MOREAU-GUIGON, E., FAUCHON, N., GUERY, B., CHEVREUIL, M., BLANCHOU, H. Transfer of

glyphosate and its degradate AMPA to surface waters through urban sewerage systems. *Chemosphere*, Vol.77 (1), 133-139, 2009.

BRASIL. CASA CIVIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. [documento on-line]. <Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/d4074.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm)> acesso em 03 de agosto de 2016.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental. Brasília: Ibama, 2010.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011, disponível em <[http://site.sabesp.com.br/uploads/file/asabesp\\_doctos/kit\\_arsesp\\_portaria2914.pdf](http://site.sabesp.com.br/uploads/file/asabesp_doctos/kit_arsesp_portaria2914.pdf)> acesso 02/08/2016.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos - Boletim Anual de Produção, Importação, Exportação e Vendas de Agrotóxicos no Brasil. 2013. Disponível em <<http://ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>> acesso em 15 de fev 2016.

BUCHEL, K. H., (ed.). *Chemistry of pesticides*. New York, Wiley, 1983.

CABRAL, M. F., SOUZA, D., ALVES, C. R., MACHADO, S. A. S. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. *Ecl. Quím.*, São Paulo, 28(2): 41-47, 2003

ÇAĞLAR, S., KOLANKAYA, D. The effect of sub-acute and subchronic exposure of rats to the glyphosate-based herbicide Roundup. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 25, n. 1, p. 57-62, 2008.

CALDAS, E. D. É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente. Cadernos de Saúde Pública, v. 21, n. 1, p. 339-341, 2005.

CHEN, Z., L., ADAMS, M., A. A metallic cobalt electrode for the indirect potentiometric determination of calcium and magnesium in natural Waters using flow injection analysis; Talanta, 47, 779–786, 1998.

CONAMA, CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. resolução no 357, de 17 de março de 2005, Alterada pela Resolução 410/2009 e pela 430/2011. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> acesso em 02/08/2016.

COUTINHO, C. F. B., COUTINHO, L. F. M., MAZO, L. H. Estudo do comportamento eletroquímico de substâncias complexantes utilizando eletrodo de cobre; Quim. Nova, Vol. 32, No. 1, 228-233, 2009.

COUTINHO, C. F. B., MAZO, L. H. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Brasil, 2008.

DANTAS, L. M. F. Uso de eletrodos de cobre e eletrodos modificados como sensores eletroquímicos. 2014. 143p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências (Química). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

DEBLONDE, T., CAROLE COSSU-LEGUILLEB, C., HARTEMANNA P. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. International Journal of Hygiene and Environmental Health, Vol.21, pp. 442– 448, 2011.

DORES, E. F. G. C., FREIRE, E. M. L. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para Consumo humano em primavera do leste, mato grosso – análise preliminar. *Quim. Nova*, Vol. 24, No. 1, 27-36, 2001.

ENGBLOM, S. O., Determination of inorganic phosphate in a soil extract using a cobalto electrode. *Kluwer Academic Publishers*, 173, 1999.

FERRARO, M. V. M. Avaliação de Três Espécies de Peixes – *Rhamdia quelen*, *Cyprinus carpio* e *Astyanax bimaculatus*, como potenciais bioindicadores em sistemas hídricos através dos ensaios: Cometa e dos Micronúcleos. 2009. 176 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

FERREIRA, D. S. Avaliação do risco da presença de resíduos de Glifosato e ácido ainometilfosfônico (AMPA) em grãos de soja e em amostra de solo. 2013. 89 f. dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2013.

GARCIA, F. A., ROLLEMBERG, M. C. DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DO HERBICIDA GLIFOSATO EM ÁGUAS NATURAIS UTILIZANDO ELETRODO DE COBRE; *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 7, 1592-1596, 2007

GIRI S. D., SARKARZ A. Electrochemical Study of Bulk and Monolayer Copper in Alkaline Solution. *Journal of The Electrochemical Society*, Vol.163 (3) pp.252-259 2016.

GOLDFRANK, L., FLOMENBAUM, N. Goldfrank's toxicologic emergencies. New York: Mcgraw-Hill Professional, 2006. 1981 p.

GOMEZ MEIER H., VILCHE J. R., ARVIA A. J., the electrochemical behaviour of cobalt in alkaline solutions. part i. the potentiodynamic response in the potential region of the  $Co/CoO$  couple. *J. Electroanal. Chem.*, vol. 134, pp. 251-272, 1982.

GRISOLIA, C. K. Agrotóxicos: mutações, reprodução e câncer. In: (Ed.). Agrotóxicos: mutações, reprodução e câncer. Brasília: UNB, 2005. p.388.

Han, j., Moon, H., Hong Y., Yang, S., Won-joon Jeong, Kwang-Sik Lee, Chung, H. Determination of glyphosate and its metabolite in emergency room in Korea. *Forensic Science International* 265 (2016) 41–46.

HANKE, I., WITTMER, I., BISCHOFBERGER, S., STAMM, C., SINGER, H., Relevance of urban glyphosate use for surface water quality. *Chemosphere* 81 (3), 422-429, 2010.

HOVE-JENSEN, B., ZECHEL, D. L., JOCHIMSEN, B., Utilization of Glyphosate as Phosphate Source: Biochemistry and Genetics of Bacterial Carbon-Phosphorus Lyase. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2014, vol. 78, (1), pp. 176–197.

HSU C. C.; WHANG C.W. Microscale solid phase extraction of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water and guava fruit extract using alumina-coated iron oxide nanoparticles followed by capillary electrophoresis and electrochemiluminescence detection. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1216, pp. 8575-8580, 2009.

ISMAIL K. M., BADAWEY W. A. Electrochemical and XPS investigations of cobalt in KOH solutions. *Journal of Applied Electrochemistry* 30: 1303±1311, 2000.

JUNIOR, A. O. P., Santos, T. C. R., Brito, N. M., Ribeiro, M. L. Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: breve revisão. *Quim. Nova*, 2002, 25(3), 420-428 a.

JÚNIOR, A. O. P; Santos, T. C. R., Brito, N. M., Ribeiro, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Quim. Nova.* 2002, 25(4), 589-593 b.

LARRAMONA G., GUTIÉRREZ C., An in-situ spectroscopic study of the anodic oxide film on a cobalt electrode at pH 4-14 by potential-modulated reflectance. *J. Electroanal. Chem*, vol. 293, pp. 231-252, 1990.

MARTINEZ, C. B. R., CÓLUS, I. M. S. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. Londrina, PR: ME Medri, p. 551-577, 2002

MEFFE R., BUSTAMANTE I., Emerging organic contaminants in surface water and roundwater: A first overview of the situation in Italy. *Science of the Total Environment* Vol. 481, pp. 280–295, 2014.

MÍDIO, A. F., MARTINS, D. I. Herbicidas em alimentos. Livraria Varela, 1ª ed. São Paulo, 1997.

MINK, P. J., Mandel, J. S., Lundin, J. I., Scurman, B. K. Epidemiologic studies of glyphosate and non-cancer health outcomes: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 61, n. 2, p. 172-184, 2011.

MONSANTO. Ampa, Acide aminométhylphosphonique, 2012. Disponível em <[http://www.glyphosateeu.fr/system/files/sidebar-files/monsanto\\_plaquetteampa\\_version\\_def.pdf](http://www.glyphosateeu.fr/system/files/sidebar-files/monsanto_plaquetteampa_version_def.pdf)>. Acesso em 08 de Fev 2016.

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.

NOVOSELSKY I. M., MENGLISHEVA N. R. Investigation of kinetics of initial stages of cobalt electrode passivation by voltamperometric method. experiment and theory of consecutive surface electrochemical reaction complicated by chemical steps of dissolution intermediates. *Electrochimica Acta*. Vol. 29, pp. 21-27, 1984.

PARRA, A., RAMON, M., ALONSO, J., LEMOS, S.G., VIEIRA, E.C., NOGUEIRA, A. R. A. Flow Injection Potentiometric System for the Simultaneous Determination of Inositol Phosphates and Phosphate: Phosphorus Nutritional Evaluation on Seeds and Grains. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 7644–7648

PENSEL A., PEULON S., CHAUSSÉ A. Efficient electrochemical treatment based on electrodeposited thin films of birnessite for mineralisation of AMPA (aminomethylphosphonic acid) in very soft conditions. *Electrochemistry Communications*, Vol. 69, pp. 19–23, 2016

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.

RIBEIRO, M. L., LOURENCETTI, C., Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar, *Química Nova*, vol. 30, (3), pp.688-694, 2007.

SANTOS, S. C.; GALLI, A.; FELSNER, M. L.; JUSTI, K. C. Desenvolvimento de Metodologia Eletroanalítica para a Determinação do Pesticida Glifosato em Amostras Ambientais; *Rev. Virtual Quim.*, , 6 (4), 866-883, 2014.

SILVA, C. M. M. D. S.; FAY, E. F. Agrotóxico e ambiente. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004.

SOUZA, T. A., MATTA M. H. R., Montagner E., Abreu A. B. G. Estudo da recuperação de glifosato e AMPA derivados em solo utilizando-se resinas nacionais. *Química Nova*, v. 29, n. 6, p. 1372-1376, 2006.

SPADOTTO, C. A. Avaliação de riscos ambientais de agrotóxicos em condições brasileiras. Documentos 58. EMBRAPA: CNPMA, Jaguariúna, 20p., 2006.

STUART, M., LAPWORTH, D., CRANE, E., HART, A. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Science of the Total Environment*, Vol. 416, pp. 1–21, 2012.

SVIRIDOV, A. V., SHUSHKOVA, T. V., ERMAKOVA, I. T., IVANOVA, E. V., EPIKTETOV, D. O., LEONTIEVSKY, A. A. Microbial Degradation of Glyphosate Herbicides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, Vol. 51, No. 2, pp. 188–195, 2015.

TEÓFILO, R. F. Planejamentos Experimentais para a Otimização da Resposta Voltamétrica na Determinação do Herbicida Glifosato em Solo, Água e Vegetais. 2003. 96 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

USEPA. Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos . disponível em <[https://www3.epa.gov/region9/water/drinking/files/dwsha\\_0607.pdf](https://www3.epa.gov/region9/water/drinking/files/dwsha_0607.pdf)> acesso em 02/08/2016.

VEIGA, M. M., SILVA, D. M., VEIGA, L. B. E., FARIA, M. V. C. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. *Caderno Saúde Pública*, v. 22, n. 11, p. 2391-2399, 2006.

VVEDENSKII, A., GRUSHEVSKAYA, S., GANZHA S., ELISEEV D. Copper oxides: kinetics of formation and semiconducting properties. Part I. Polycrystalline copper and copper-gold alloys. *J Solid State Electrochem*, Vol. 18, pp. 2755–2770, 2014.