



**Universidade Federal de Alagoas**  
Instituto de Química e Biotecnologia

***Programa de Pós-Graduação em Química e  
Biotecnologia***  
***PPGQB***



**AUGUSTO CÉSAR DE ANDRADE LIMA**

**ESTUDOS ELETROANALÍTICOS, ELETRODEGRADATIVOS E  
INTERAÇÃO DE AGROQUÍMICOS SINTÉTICOS E NATURAIS  
COM O DNA**

**MACEIÓ-2010**



**Universidade Federal de Alagoas**  
Instituto de Química e Biotecnologia

***Programa de Pós-Graduação em Química e  
Biotecnologia***  
**PPGQB**



**AUGUSTO CÉSAR DE ANDRADE LIMA**

**ESTUDOS ELETROANALÍTICOS, ELETRODEGRADATIVOS E  
INTERAÇÃO DE AGROQUÍMICOS SINTÉTICOS E NATURAIS  
COM O DNA**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção de grau de doutor em Ciências.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fabiane Caxico de Abreu

**MACEIÓ-2010**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecária: Lucia Lima do Nascimento**

L732e Lima, Augusto César de Andrade. |  
Estudos eletroanalíticos, eletrodegradativos e interação de agroquímicos  
sintéticos e naturais com o DNA/ Augusto César de Andrade Lima.- Maceió, 2010.  
136 f.: il. tabs., grafs.

Orientadora: Fabiane Caxico de Abreu.  
Tese (doutorado em Química e Biotecnologia)–Universidade Federal de Alagoas.  
Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia.

Bibliografia: f. 126-136.

1. Metribuzin. 2. Sulfentrazona. 3. Safrol. 4. Nitrossafrol. 5. Eletro-fenton.  
I. Título.

CDU: 544.6:632.95



**Universidade Federal de Alagoas**  
 Instituto de Química e Biotecnologia

**Programa de Pós-Graduação em Química e  
 Biotecnologia**  
 PPGQB



Membros da Comissão Julgadora para a Tese de Doutorado de **Augusto César de Andrade Lima**, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 20 / 08 / 2010.

COMISSÃO JULGADORA:

*Fabiane Caxico de Abreu Galdino*  
 Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Fabiane Caxico de Abreu Galdino  
 Orientadora – PPGQB/IQB/UFAL

*Madalena Carneiro da Cunha Areias*  
 Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Madalena Carneiro da Cunha Areias  
 UFPE

*Acácia Maria dos Santos Melo*  
 Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Acácia Maria dos Santos Melo  
 UFS

*Marília Oliveira Fonseca Goulart*  
 Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Marília Oliveira Fonseca Goulart  
 PPGQB/IQB/UFAL

*Paulo dos Santos Roldan*  
 Prof. Dr. Paulo dos Santos Roldan  
 PPGQB/IQB/UFAL

## ***Agradecimento Especial***

A Profª Drª Fabiane Caxico de Abreu,  
pela orientação, dedicação e momentos  
agradáveis.

## ***Agradecimentos***

- A Deus, pela oportunidade da vida.
- Aos amados pais, Maria Carmen e Osvaldo Lima, pelo compromisso com minha formação moral e acadêmica.
- A meus irmãos, Ary, Célia e Eduardo, pelo apoio e incentivo em minhas decisões.
- Aos amigos Bento, Garcindo e Krauss, pela fidelidade.
- À Companhia Pernambucana de Saneamento, em especial ao Dr Romero César Dominoni, pela liberação de minhas atividades e incentivo.
- A FAFOPST – Faculdade de Formação de Professores de Serra Talhada pelo incentivo em minha qualificação.
- Aos graduandos Manu e Elton, pela valiosa contribuição nos experimentos.
- A todos do laboratório de eletroquímica, a Allani, Cícero, Paulo, Fabrícia, Camila, Adilson, Antônio, Francisco, Cleylton, Phabyano e Wilson, pelos momentos agradáveis.
- À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marília Oliveira Fonseca Goulart, pelo incentivo e orientações.
- À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Acácia Melo, pelo apoio durante a realização do trabalho.

- Ao CNPq, à FAPEAL, ao PADCT, a CAPES, ao BNB e ao CT-PETRO, pelo apoio financeiro, possibilitando assim a realização desse trabalho.
- Aos colegas Sandovânio, Fernando e Anderson, do laboratório de produtos naturais, pelos momentos saudáveis.
- À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lucia Maria Conserva, pelos conselhos e amizade.
- Ao professor Nivaldo, pelos ensinamentos e exemplo de compromisso com a educação.
- Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart, pelas análises de CG-EM.
- À Dr<sup>a</sup> Iara Barros Valentin, pelos conselhos.

***“Fora da caridade não há salvação”***



# SUMÁRIO

<b>1.INTRODUÇÃO</b> .....	<b>24</b>
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE OS HERBICIDAS .....	28
1.1.2 <i>O Herbicida Metribuzin (MTZ)</i> .....	31
1.1.3. <i>O Herbicida Sulfentrazone (STZ)</i> .....	33
1.2 PESTICIDAS NATURAIS.....	35
1.2.1 <i>Safrol e nitrossafrol</i> .....	37
1.3 DEGRADAÇÃO DE AGROQUÍMICOS .....	40
1.3.1 <i>Processos Oxidativos Avançados (POA's)</i> .....	41
1.3.2 <i>Processo eletro-fenton</i> .....	43
1.4 DANOS AO DNA PROVOCADOS POR AGROQUÍMICOS .....	44
1.4.1 <i>Comportamento eletroquímico do DNA</i> .....	45
<b>2.OBJETIVOS</b> .....	<b>48</b>
2.1 GERAIS.....	48
2.2 ESPECÍFICOS .....	48
<b>3.MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>49</b>
3.1 PRODUTOS QUÍMICOS E SOLVENTES.....	49
3.1.1 <i>Extração e caracterização de Metribuzin e Sulfentrazone</i> .....	49
3.2 INSTRUMENTOS .....	50
3.2.1 <i>Eletrodo de Carbono Vítreo</i> .....	51
3.2.2 <i>Eletrodo Modificado com Nanotubo de Carbono de Paredes Múltiplas</i> .....	51
3.2.3 <i>Eletrodo Modificado com Nanotubo de Carbono/<math>\beta</math>-ciclodextrina</i> .....	52
3.2.4 <i>Eletrodo de Pasta de Carbono (EPC)</i> .....	52
3.2.5 <i>Eletrodo Modificado com Quitosana (EMQ)</i> .....	52
3.2.6 <i>Biossensor de dsDNA</i> .....	53
3.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES .....	53
3.3.1 <i>Preparo da Solução de Metribuzin, Safrol, Nitrossafrol e Sulfentrazone (Solução Estoque)</i> .....	53
3.3.2 <i>Preparo das Soluções Tampão</i> .....	54
3.3.3 <i>Preparo da solução ssDNA</i> .....	55
3.4 ESTUDOS ELETROQUÍMICOS .....	55
3.4.1. <i>Voltametria Cíclica</i> .....	55
3.4.2 <i>Estudo do comportamento do potencial e corrente com o pH , para o MTZ, SAF, NSAF e STZ</i> .....	55
3.4.3 <i>Estudos de quantificação</i> .....	56
3.4.4 <i>Eletrólises</i> .....	57
3.4.5 <i>Estudo da degradação de substratos por processo eletro-fenton</i> .....	59
3.4.6 <i>Estudos de interação com DNA</i> .....	60
3.5 ANÁLISE DE CG-EM .....	61
3.6 ESTUDO DA INTERAÇÃO DO SAFROL E NITROSSAFROL COM B-CICLODEXTRINA .....	61
3.7 ANÁLISE DE TEOR DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL .....	62

3.8 ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE DA STZ E PRODUTOS DA ELETRÓLISE .....	62
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DE METRIBUZIN E SULFENTRAZONA .....	63
4.1.1 <i>Metribuzin</i> .....	63
4.1.2 <i>Sulfentrazona</i> .....	65
4.2 ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DE METRIBUZIN, SULFENTRAZONA, SAFROL E NITROSSAFROL .....	66
4.2.1 <i>Voltametria cíclica do metribuzin</i> .....	66
4.2.2 <i>Voltametria Cíclica da Sulfentrazona</i> .....	73
4.2.3 <i>Voltametria Cíclica do Safrol</i> .....	76
4.2.4 <i>Voltametria Cíclica do Nitrossafrol</i> .....	80
4.3 ESTUDOS DE QUANTIFICAÇÃO DE METRIBUZIN, SULFENTRAZONA, SAFROL E NITROSSAFROL .....	85
4.3.1 <i>Quantificação do MTZ por voltametria de redissolução anódica</i> .....	86
4.3.2 <i>Quantificação do MTZ em EMQ (eletrodo modificado com quitosana)</i> .....	89
4.3.3 <i>Quantificação da Sulfentrazona</i> .....	90
4.3.4 <i>Quantificação do Safrol</i> .....	92
4.3.5 <i>Quantificação do Nitrossafrol</i> .....	95
4.4 ESTUDO DA INTERAÇÃO DO SAFROL E NITROSSAFROL COM A B-CICLODEXTRINA .....	98
4.5 ESTUDO DA ELETRODEGRADAÇÃO DO METRIBUZIN E SULFENTRAZONA .....	101
4.5.1 <i>Eletrólise do Metribuzin</i> .....	101
4.5.2 <i>Eletrólise da Sulfentrazona</i> .....	105
4.6 ESTUDO DA ELETRODEGRADAÇÃO DO MTZ E STZ POR ELETRO-FENTON.....	108
4.6.1 <i>Eletro-fenton do MTZ</i> .....	108
4.6.2 <i>Eletro-fenton da STZ</i> .....	111
4.7 ESTUDO DA CITOXICIDADE DA STZ E DOS PRODUTOS DA ELETRÓLISE. ....	112
4.8 ESTUDO DA INTERAÇÃO DE MTZ, STZ, SAF E NSAF COM dsDNA E ssDNA.....	113
4.8.1 <i>Interação do MTZ com dsDNA e ssDNA</i> .....	113
4.8.2 <i>Estudo da interação da STZ com dsDNA e ssDNA</i> .....	115
4.8.3 <i>Estudo da interação do SAF com dsDNA e ssDNA</i> .....	118
4.8.4 <i>Estudo da interação do NSAF com dsDNA e ssDNA</i> .....	119
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>123</b>
<b>6 PERSPECTIVAS.....</b>	<b>125</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>126</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Relação entre os índices GUS e LEACH para alguns agrotóxicos utilizados no Brasil .....	25
<b>Figura 2.</b> Perturbação aplicada e respostas, obtidas em Voltametria Cíclica (VC), com os principais parâmetros assinalados .....	26
<b>Figura 3.</b> Perturbação aplicada e respostas obtidas em Voltametria de Pulso Diferencial (VPD), com os principais parâmetros assinalados. ....	27
<b>Figura 4.</b> Representação de aplicação do potencial na VOQ .....	28
<b>Figura 5.</b> Voltamograma da VOQ, (1) Processo redox de um sistema reversível (2) de um sistema irreversível. ....	28
<b>Figura 6.</b> Fórmula estrutural do metribuzin.....	32
<b>Figura 7.</b> Rota de degradação microbiológica do MTZ .....	33
<b>Figura 8.</b> Estrutura (A) Safrol e (B) Nitrossafrol.....	37
<b>Figura 9.</b> Folhas e talos da pimenta longa ( <i>Piper hispidinevium</i> ). ....	38
<b>Figura 10.</b> Diversos produtos a partir do safrol .....	39
<b>Figura 11.</b> Provável mecanismo de biorredução para nitrocompostos .....	40
<b>Figura 12.</b> Esquema do processo eletro-fenton, (R/Ar) poluentes alifáticos e aromáticos, respectivamente .....	44
<b>Figura 13.</b> Estrutura química do dsDNA. Bases púricas (guanina – G ; adenina – A) e pirimídicas ( timina – T e citosina – C). ....	45
<b>Figura 14.</b> VPD em eletrodo de CV para mistura de bases guanina, adenina ( $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), timina e citosina ( $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). Tampão fosfato pH 7,4, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ , amplitude 50 mV . ....	47
<b>Figura 15.</b> Mecanismo para a oxidação das bases guanina e adenina ]. ....	47
<b>Figura 16.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do MTZ.....	64
<b>Figura 17.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, MeOD) da STZ.....	65

- Figura 18.** Voltamograma Cíclico de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de MTZ em tampão acetato pH 4,0 nas velocidades de (a) 0,010, (b) 0,350, (c) 0,500, (d) 0,750, (e) 0,100, (f) 0,200, (g) 0,300, (h) 0,400, (i) 0,500, (j) 0,600, (k) 0,700, (l) 0,800, (m) 0,900 e (n)  $1 \text{ V s}^{-1}$ . ..... 67
- Figura 19.** Gráficos do MTZ ( $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão acetato pH 4,0 em eletrodo de CV.(A):  $-I_{pc}$  vs.  $v^{1/2}$ ; (B):  $I_{pa}$  vs.  $v^{1/2}$ ; (C):  $-E_{pc}$  vs  $\log v$ ; (D):  $E_{pa}$  vs.  $\log v$ . ..... 68
- Figura 20.** Representação da eletrorredução do MTZ ..... 68
- Figura 21.** Voltametria de redissolução anódica do MTZ,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , tampão acetato pH 4,0 na velocidade de  $0,10 \text{ V s}^{-1}$ . Onda anódica:  $E_{ap} = -1,0 \text{ V}$ ,  $t_a = 30 \text{ s}$ . ..... 69
- Figura 22.** Voltamograma Cíclico de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  do ácido 11- mercaptoundecanóico (MUA), em tampão acetato pH 4,0 na velocidade de  $0,100 \text{ V s}^{-1}$ . ..... 70
- Figura 23.** VOQ do metribuzin,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , obtido sem (.....) e com tempo de acumulação(\_\_\_\_) de 5 a 80 s em  $-1,4 \text{ V}$ , tempo de equilíbrio 5 s.,  $f = 50 \text{ Hz}$ . Eletrólito suporte: tampão acetato pH 4,0. Eletrodo de carbono vítreo. .... 71
- Figura 24.** (A)  $E_p$  vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletro redução do MTZ. Obtenção do pKa (B)  $I_p$  vs pH.  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 72
- Figura 25.** VPD da eletrooxidação do MTZ após eletrorredução em diferentes valores de pH.  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 72
- Figura 26.** Representação da protonação do MTZ,  $pK_a = 1$  ..... 73
- Figura 27.** Voltamograma Cíclico de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de STZ em tampão fosfato pH 7,0 nas velocidades de (a) 0,010, (b) 0,035, (c) 0,050, (d) 0,100, (e) 0,200, (f) 0,300  $\text{V s}^{-1}$ . ..... 73
- Figura 28.** Gráficos da STZ de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão acetato pH 7,0, em eletrodo de carbono vítreo. (A):  $I_{pc}$  vs.  $v^{1/2}$  e (B):  $E_{pa}$  vs.  $\log v$ . ..... 75
- Figura 29.** (A)  $E_p$  vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletrooxidação da STZ. Obtenção do pKa (B):  $I_p$  vs pH.  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 76
- Figura 30.** Esquema da protonação do STZ,  $pK_a = 6,26$ . ..... 76
- Figura 31.** Voltamograma cíclico do Safrol,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão fosfato, pH 7,0 nas velocidades de (a) 0,020, (b) 0,035, (c) 0,050, (d) 0,075, (e) 0,100, (f) 0,200  $\text{V s}^{-1}$ . 77

<b>Figura 32.</b> Gráficos do Safrol de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,0, em eletrodo de carbono vítreo (A): $i_{pc}$ vs. $v^{1/2}$ e (B): $E_{pa}$ vs. $\log v$ .	77
<b>Figura 33.</b> Representação da eletrooxidação do SAF	79
<b>Figura 34.</b> (A): $E_p$ vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletrooxidação do SAF. Obtenção do $pK_a$ (B): $i_p$ vs. pH, $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .	80
<b>Figura 35.</b> Representação da protonação do SAF, $pK_a = 10,5$ .	80
<b>Figura 36.</b> Voltamograma cíclico do nitrossafrol, $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato, pH 7,0 nas velocidades de (a)0,020, (b)0,035, (c)0,050, (d)0,200, (e)0,300, (f)0,400 e (g)0,500 $\text{Vs}^{-1}$ .	81
<b>Figura 37.</b> (A) $E_p$ vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletrorredução do Nitrossafrol (B) $E_p$ vs. $\log v$ . $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV, tempo de pulso: 50 ms, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .	82
<b>Figura 38.</b> VC do NSAF na região catódica, $v = 0,100 \text{ Vs}^{-1}$ , $c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , tampão fosfato pH 7,0.	83
<b>Figura 39.</b> VC do NSAF na região anódica, $v = 0,100 \text{ V s}^{-1}$ , $c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , tampão fosfato pH 7,0 (A): VC na região anódica (B): VC na região anódica $E_{ap} = -1,0 \text{ V}$ e $t_a = 120 \text{ s}$ .	84
<b>Figura 40.</b> (A): $E_p$ vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletrooxidação do NSAF. Obtenção do $pK_a$ (B): $i_p$ vs. pH, $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .	85
<b>Figura 41.</b> Representação da protonação do NSAF, $pK_a = 8,7$ .	85
<b>Figura 42.</b> VOQ do MTZ por voltametria de redissolução anódica em tampão acetato $pH_{ap} 4,0$ , nas concentrações (a) $1 \times 10^{-5}$ , (b) $2 \times 10^{-5}$ , (c) $3 \times 10^{-5}$ , (d) $7 \times 10^{-5}$ , (e) $1 \times 10^{-4}$ , (f) $1,4 \times 10^{-4}$ , (g) $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . (A): MTZ em eletrodo de CV $i_p$ vs. $E/V$ (B): MTZ em eletrodo de CV $i_p$ vs. $[\text{MTZ}] \mu\text{mol L}^{-1}$ .	87
<b>Figura 43.</b> VOQ do MTZ por voltametria de redissolução anódica em tampão acetato $pH_{ap} 4,0$ nas concentrações (a) $1 \times 10^{-5}$ , (b) $2 \times 10^{-5}$ , (c) $3 \times 10^{-5}$ , (d) $5 \times 10^{-5}$ , (e) $7 \times 10^{-5}$ , (f) $1 \times 10^{-4}$ , (g) $1,3 \times 10^{-4}$ , (h) $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . (A): MTZ em eletrodo de PC/ óleo de mamona $i_p$ vs. $E/V$ (B): MTZ em eletrodo de PC/ óleo de mamona $i_p$ vs. $[\text{MTZ}]$ .	87

- Figura 44.** VOQ do MTZ por voltametria de redissolução anódica em tampão acetato  $\text{pH}_{\text{ap}}$  4,0. nas concentrações (a)  $1 \times 10^{-5}$ , (b)  $2 \times 10^{-5}$ , (c)  $3 \times 10^{-5}$ , (d)  $6 \times 10^{-5}$ , (e)  $9 \times 10^{-5}$ , (f)  $1,2 \times 10^{-4}$ , (g)  $1,6 \times 10^{-4}$   $\text{mol L}^{-1}$ . (A): MTZ em eletrodo de PC/nujol Ip vs. E/V (B): MTZ em eletrodo de PC/nujol Ip vs. [MTZ]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 88
- Figura 45.** (A): VPD do MTZ em eletrodo de carbono vítreo/quitosana, tampão acetato  $\text{pH}_{\text{ap}}$  4,0 nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $5 \times 10^{-6}$ , (c)  $1 \times 10^{-5}$ , (d)  $2 \times 10^{-5}$ , (e)  $3 \times 10^{-5}$ , (f)  $5 \times 10^{-5}$ , (g)  $7 \times 10^{-5}$ , (h)  $1 \times 10^{-4}$   $\text{mol L}^{-1}$  (B): Relação entre corrente de pico com a concentração do MTZ. .... 90
- Figura 46.** VPD da STZ em eletrodo de CV nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $5 \times 10^{-6}$ , (c)  $2,0 \times 10^{-5}$ , (d)  $3,0 \times 10^{-5}$ , (e)  $5,0 \times 10^{-5}$ , (f)  $1,0 \times 10^{-4}$ , (g)  $1,3 \times 10^{-4}$ , (h)  $1,5 \times 10^{-4}$ , (i)  $1,7 \times 10^{-4}$ , (j)  $2,0 \times 10^{-4}$ , (k)  $2,3 \times 10^{-4}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  7,0. (A): Ip vs. E/V (B): Ip vs. [STZ]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 91
- Figura 47.** VPD da STZ em eletrodo de CV nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-5}$ , (b)  $2 \times 10^{-5}$ , (c)  $3 \times 10^{-5}$ , (d)  $5 \times 10^{-5}$ , (e)  $7 \times 10^{-5}$ , (f)  $1 \times 10^{-4}$ , (g)  $1,3 \times 10^{-4}$ , (h)  $1,5 \times 10^{-4}$ , (i)  $1,7 \times 10^{-4}$ , (j)  $2,0 \times 10^{-4}$ , (k)  $2,3 \times 10^{-4}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  7,0. (A) STZ em eletrodo de CV/NTC Ip vs. E/V (B) STZ em eletrodo de CV/NTC Ip vs. [STZ]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 91
- Figura 48.** VPD do SAF em eletrodo de CV nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $3 \times 10^{-6}$ , (c)  $5 \times 10^{-6}$ , (d)  $7 \times 10^{-6}$ , (e)  $9 \times 10^{-6}$ , (f)  $11 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  7,0. (A): Ip vs. E/V (B): Ip vs. [SAF]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 93
- Figura 49.** VPD do SAF em eletrodo de CV/NTC nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $2 \times 10^{-6}$ , (c)  $3 \times 10^{-6}$ , (d)  $5 \times 10^{-6}$ , (e)  $7 \times 10^{-6}$ , (f)  $9 \times 10^{-6}$ , (g)  $11 \times 10^{-6}$ , (h)  $15 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  7,0. (A): Ip vs. E/V (B): Ip vs. [SAF]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 93
- Figura 50.** VPD do SAF em eletrodo de CV NTC/ $\beta$ -CD nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $2 \times 10^{-6}$ , (c)  $3 \times 10^{-6}$ , (d)  $5 \times 10^{-6}$ , (e)  $7 \times 10^{-6}$ , (f)  $11 \times 10^{-6}$ , (g)  $15 \times 10^{-6}$ , (h)  $18 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  7,0. (A): Ip vs. E/V (B): Ip vs. [SAF]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ; Inserção: saturação do safrol no sensor NTC/  $\beta$ -CD. .... 94
- Figura 51.** VPD do NSAF em eletrodo de CV nas concentrações de (a)  $2 \times 10^{-6}$ , (b)  $3 \times 10^{-6}$ , (c)  $5 \times 10^{-6}$ , (d)  $7 \times 10^{-6}$ , (e)  $9 \times 10^{-6}$ , (f)  $11 \times 10^{-6}$ , (g)  $15 \times 10^{-6}$ , (h)  $18 \times 10^{-6}$ , (i)  $21 \times 10^{-6}$ , (j)  $26 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  7,0. (A): Ip vs. E/V (B): Ip vs. [NSAF]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 95
- Figura 52.** VPD do NSAF em eletrodo de CV/NTC nas concentrações de (a)  $3 \times 10^{-6}$ , (b)  $5 \times 10^{-6}$ , (c)  $7 \times 10^{-6}$ , (d)  $15 \times 10^{-6}$ , (e)  $18 \times 10^{-6}$ , (f)  $21 \times 10^{-6}$ , (g)  $26 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  7,0. (A): Ip vs. E/V (B): Ip vs. [NSAF]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 96
- Figura 53.** VPD do NSAF em eletrodo de CV/NTC/ $\beta$ -CD nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $2 \times 10^{-6}$ , (c)  $3 \times 10^{-6}$ , (d)  $5 \times 10^{-6}$ , (e)  $7 \times 10^{-6}$ , (f)  $9 \times 10^{-6}$ , (g)  $11 \times 10^{-6}$ , (h)  $21 \times 10^{-6}$ , (i)  $26 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  7,0. (A): Ip vs. E/V (B): Ip vs. [NSAF]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . ..... 96
- Figura 54.** Cinética de complexação (A) SAF:  $\beta$ -CD e (B) NSAF:  $\beta$ -CD. Razão molar 1:1. .... 98

<b>Figura 55.</b> Espectros na região do UV-VIS. (A) Safrol, $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (B) Nitrossafrol, $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na presença da $\beta$ -CD nas concentrações de $2,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , $3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , $6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $15 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .....	99
<b>Figura 56.</b> Gráficos para determinação da constante de equilíbrio do complexo (A) SAF: $\beta$ -CD e (B) NSAF: $\beta$ -CD.....	100
<b>Figura 57.</b> (1) VC do MTZ antes da eletrólise, $c = 2,33 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato/etanol (1:20) $\text{pH}_{\text{AP}} = 5,80$ . (2) VC após a eletrólise.....	101
<b>Figura 58.</b> VC do produto da eletrólise do MTZ, em varredura na região anódica.....	102
<b>Figura 59.</b> Espectro de massas do MTZ.....	102
<b>Figura 60.</b> Espectro de massas do DA.....	103
<b>Figura 61.</b> Espectro de massas do DK.....	103
<b>Figura 62.</b> Espectro de massas do DADK.....	103
<b>Figura 63.</b> Rota de degradação do MTZ na eletrólise.....	104
<b>Figura 64.</b> Interpretação mecanística dos principais picos observados no EM do MTZ. .....	105
<b>Figura 65.</b> (1) VC da STZ antes da eletrólise, $c = 1,29 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato $\text{pH} = 7,0$ . (2) VC após a eletrólise.....	106
<b>Figura 66.</b> Espectro de massas da STZ.....	107
<b>Figura 67.</b> Espectro de massas da STZP1 ou STZP2.....	107
<b>Figura 68.</b> Espectro de massas da STZP3.....	107
<b>Figura 69.</b> Rota de degradação eletrooxidativa da STZ.....	108
<b>Figura 70.</b> Interpretação mecanística dos principais picos observados no EM do STZ. .....	109
<b>Figura 71.</b> Eficiência da remoção de carbono orgânico total “COT” do metribuzin [MTZ] $= 4,66 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ; [sal de Mohr] $= 0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , $\text{pHi} = 3,0$ .....	110
<b>Figura 72.</b> Espectro UV-VIS do MTZ durante o processo Electro-Fenton .....	110
<b>Figura 73.</b> Eficiência da remoção de carbono orgânico total “COT” da sulfentrazona [STZ] $= 2,58 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{pHi} = 3,0$ ; $t = 0$ a 240 min.....	111
<b>Figura 74.</b> Possível rota para degradação da STZ por processo eletro-Fenton. ....	112

<b>Figura 75.</b> VPD do MTZ em biossensor de dsDNA na presença do MTZ, $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . .....	114
<b>Figura 76.</b> VPD do MTZ em diferentes concentrações em tampão acetato (desnaturação da solução dsDNA em pH 4,5) na presença $4 \times 10^{-5}$ , $6 \times 10^{-5}$ , $8 \times 10^{-5}$ e $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do MTZ. (A) VPD na região anódica (B) VPD do MTZ na região anódica com $t_a = 30 \text{ s}$ e $E_{ap} = -1,0 \text{ V}$ . .....	115
<b>Figura 77.</b> VPD da STZ em biossensor de dsDNA na presença da STZ, $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . .....	116
<b>Figura 78.</b> VPD da eletrooxidação das bases guanina e adenina em tampão acetato (desnaturação da solução dsDNA em pH 4,5) na presença de $4 \times 10^{-5}$ , $6 \times 10^{-5}$ , $8 \times 10^{-5}$ e $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ da STZ. .....	117
<b>Figura 79.</b> Gráfico da corrente de pico da oxidação da guanina e adenina vs. [STZ].	117
<b>Figura 80.</b> VPD da eletrooxidação das bases guanina e adenina em tampão acetato (desnaturação da solução dsDNA em pH 4,5) na presença de $4 \times 10^{-5}$ , $6 \times 10^{-5}$ , $7 \times 10^{-5}$ , $8 \times 10^{-5}$ e $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ da STZ. .....	118
<b>Figura 81.</b> Gráfico da corrente de pico da oxidação da guanina e adenina vs. [SAF].	119
<b>Figura 82.</b> VPD da eletrooxidação das bases guanina e adenina em tampão acetato na presença $4 \times 10^{-5}$ , $6 \times 10^{-5}$ , $8 \times 10^{-5}$ e $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do NSAF (A) Nitrossafrol sem condicionamento (B) Nitrossafrol com tempo de condicionamento de 120 s e potencial de $-0,6 \text{ V}$ . .....	120
<b>Figura 83.</b> VPD de NSAF em tampão acetato pH 4,5, $c = 2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na região anódica (A) varredura com biossensor de dsDNA (B) varredura com biossensor de dsDNA, $t_a = 120 \text{ s}$ e $E_{ap} = -0,6 \text{ V}$ (C) varredura em eletrodo de CV (D) varredura em eletrodo de CV, $t_a = 120 \text{ s}$ . .....	121
<b>Figura 84.</b> Esquema da redução de nitrocompostos aromáticos. .....	122



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Classificação toxicológica para os agrotóxicos. ....	29
<b>Tabela 2.</b> Estrutura de alguns herbicidas triazínicos.....	30
<b>Tabela 3.</b> Características físico-químicas e toxicológicas do MTZ. ....	31
<b>Tabela 4.</b> Características físico-químicas e toxicológicas do STZ .....	34
<b>Tabela 5.</b> Estrutura da STZ e seus metabólitos.....	35
<b>Tabela 6.</b> Alguns pesticidas naturais.....	36
<b>Tabela 7.</b> Potencial padrão de redução, em meio aquoso, de alguns agentes oxidantes para destruição de poluentes orgânicos.....	42
<b>Tabela 8.</b> Soluções tampão para eletrólito suporte .....	54
<b>Tabela 9.</b> Estudos comparativos de deslocamentos químicos para RMN <sup>13</sup> C de Metribuzin e 1,6 - Diidrometribuzin .....	64
<b>Tabela 10.</b> Parâmetros eletroquímicos para estudo da influência da velocidade de varredura do MTZ.....	67
<b>Tabela 11.</b> Parâmetros eletroquímicos para estudo da influência da velocidade de varredura da STZ.....	74
<b>Tabela 12.</b> Parâmetros eletroquímicos para estudo da influência da velocidade de varredura do SAF. ....	78
<b>Tabela 13.</b> Parâmetros eletroquímicos para estudo da influência da velocidade de varredura do NSAF.....	81
<b>Tabela 14.</b> Estudos comparativos na quantificação do MTZ, em eletrodo de Carbono Vítreo, Pasta de carbono/Nujol, Pasta de carbono/óleo de mamona e eletrodo de mercúrio. ....	89
<b>Tabela 15.</b> Estudos comparativos na quantificação do STZ, em eletrodo de carbono vítreo e eletrodo de carbono vítreo/nanotubo de carbono de paredes múltiplas.....	92
<b>Tabela 16.</b> Estudos comparativos na quantificação do Safrol em eletrodo de CV, eletrodo de CV/NTC e eletrodo de CV/NTC/β-CD.....	95

<b>Tabela 17.</b> Estudos comparativos na quantificação do NSAF, em eletrodo de CV, eletrodo de CV/NTC e eletrodo de CV/NTC/ $\beta$ -CD.....	97
<b>Tabela 18.</b> Estudos comparativos para potencial de pico (Epc) e intensidade de corrente (Ipc) na eletrorredução do NSAF, em eletrodos de CV, CV/NTC e CV/NTC/ $\beta$ -CD.....	97
<b>Tabela 19.</b> Constante de dissociação e formação do complexo SAF: $\beta$ -CD, para 120 min de contato .....	100
<b>Tabela 20.</b> Constante de dissociação e formação do complexo NSAF: $\beta$ -CD, para 150 min de contato.....	100
<b>Tabela 21.</b> Resultado da citotoxicidade da STZ e dos produtos da eletrólise pelo teste de exclusão do Azul de tripan ( $c = 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).....	118

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

$\tau$  = Período da onda quadrada (largura do salto)

$\nu$  = Velocidade de varredura de potencial

$\nu^{1/2}$  = Raiz quadrada da velocidade de varredura

$\Delta E$  = Altura do salto de potencial

$\mu\text{g}$  = Micrograma

ASV = "Anodic Stripping Voltammetry" (Voltametria por redissolução anódica)

b = valor do coeficiente angular da curva analítica

CCD = Cromatografia em camada delgada

CI = Carbono inorgânico

CT = Carbono total

COT = Carbono orgânico total

CV = Carbono vítreo

DA = "deamine metribuzine" (desamino metribuzin)

DADK = "deamine diketo metribuzine" (desamino diceto metribuzin)

DK = "diketo metribuzine" (diceto metribuzin)

DL<sub>50</sub> = dosagem letal mediana

DNA = "Deoxyribonucleic Acid" (Ácido desoxirribonucléico)

dsDNA = "double-strand DNA" (DNA em dupla fita)

$E$  = Potencial

EDTA = Ácido etilenodiamino tetra acético

EM = espectrometria de massa

EMQ = Eletrodo modificado de quitosana

$E^{OQ}$  = Amplitude da onda quadrada

$E_{pa}$  = Potencial de pico anódico

EPC = Eletrodo de pasta de carbono

$E_{ap}$  = Potencial aplicado

$E_d$  = Potencial de deposição

$E_{pc}$  = Potencial de pico catódico

Eq. = Equação

$f$  = Frequência

GUS = “Groundwater Ubiquity Score”(Quantidade presente em água subterrânea)

HPLC = “High Performance Liquid Chromatography” (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE)

Hz = Hertz

I = Corrente

IC = “Inorganic Carbon” (carbono inorgânico)

$I_{pa}$  = Corrente de pico anódica

$I_{pc}$  = Corrente de pico catódica

IV = Infra vermelho

$K_D$  = Constante de dissociação

$K_F$  = Constante de formação

$K_{oc}$  = coeficiente de sorção normalizado pela fração de carbono orgânico

LD = Limite de detecção

LEACH = “Leaching Index” (índice de lixiviação)

$m/z$  = Relação massa/carga

mg = Miligrama

M = Massa molar

mm = Milímetro

ms = Milisegundo

MEM = Meio essencial mínimo

MTZ = Metribuzin (4-amino-6-tert-butyl-4,5-dihidro-3-metiltio-1,2,4-triazinona-5)

MUA = ácido 11-mercaptoendecanóico

mV = Milivolt

$n$  = Número de análises

$n$  = Número de elétrons

ng = Nanograma

nm = Nanômetro

NSAF = Nitro safrol [1,2-Metilenodioxi-4-nitro-5-(prop-2-en-1-il)benzeno]

NTC = Nanotubo de carbono

P.A. = Para análise

P.E. = Ponto de ebulição

P.F. = Ponto de fusão

Pa = Pascal

PC = Pasta de carbono

pH = Potencial hidrogeniônico

$pK_a$  = O inverso do logaritmo da constante de acidez,  $K_a$

POA's = Processos oxidativos avançados

PV = pressão de vapor

$R_f$  = "Retention factor" (fator de retenção)

RMN<sup>13</sup>C = Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN<sup>1</sup>H = Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

SAF= Safrol [1,2-metilenodioxo-4-(prop-2-en-1-il)benzeno]

SFB = Soro fetal bovino

$S_B$  = "Standard Deviation" (Desvio Padrão)

ssDNA = "single-strand DNA" (DNA em fita simples)

STZ= Sulfentrazona *N*-[2,4-dicloro-5[4-(difluorometil)-4,5-diidro-3-metil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il]fenil]metanossulfonamida

STZP1= *N*-[2,4-dicloro-5[4,5-diidro-3-metil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il]fenil]metanosulfonamida

STZP2=*N*-[2,4-dicloro-5[4,5-diidro-3-idroximetil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il]fenil]metanossulfonamida

STZP3= *N*-[2,4-dicloro-5[1-amino-1-carbazil]fenil]metanossulfonamida

UV = Ultravioleta

UV-VIS = Ultravioleta-visível

VC = Voltametria Cíclica

VOQ = Voltametria de onda quadrada

VPD = Voltametria de pulso diferencial

VPN = Voltametria de pulso normal

Ws = "Water solubily" (solubilidade em água)

$\beta$ -CD =  $\beta$ -Ciclodextrina

$\mu$ A = Microampère

## RESUMO

O presente trabalho refere-se ao estudo eletroquímico em meio prótico dos herbicidas Metribuzin (MTZ) e sulfentrazone (STZ), do inseticida natural Safrol (SAF) e seu nitroderivado Nitrossafrol (NSAF). Os estudos eletroanalíticos foram realizados em diversos eletrodos. Para o MTZ, foi desenvolvido o método de quantificação por redissolução anódica em eletrodos de Carbono vítreo (CV), Pasta de carbono/nujol (PC/nujol), Pasta de Carbono/óleo de mamona (PC/óleo de mamona), em que se obteve o melhor resultado em eletrodo de PC/óleo de mamona com  $LD=1,248 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Com a STZ, utilizaram-se os eletrodos de CV e CV/NTC, em que o sensor com nanotubo de carbono (NTC) revelou melhor resultado, com  $LD=2,70 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . O SAF e o NSAF foram avaliados com os sensores de CV, CV/NTC e CV/NTC/ $\beta$ -CD, em que o sensor CV/NTC apresentou melhor resposta com  $LD=0,869 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  para o SAF, e CV/NTC/ $\beta$ -CD para o NSAF com  $LD=0,23 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Diante dos resultados de SAF e NSAF com o sensor CV/NTC/ $\beta$ -CD, foram realizados estudos de interação com a  $\beta$ -ciclodextrina, em que foi possível calcular as respectivas constantes de formação:  $4,14 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$  e  $5,12 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$  para o SAF e NSAF. A eletrólise do MTZ e STZ foram conduzidas em potencial controlado e analisados por CG-EM. Para o MTZ, foram obtidos, como desamino metribuzin (DA), diceto metribuzin (DK) e desamino diceto metribuzin (DADK), os mesmos produtos encontrados na degradação microbológica; já para a STZ, foram obtidos, STZP1 ou STZP2 e STZP3. Os estudos de mineralização de MTZ e STZ, foram efetuados por eletro-fenton e analisados por TOC. Para MTZ, o TOC foi rapidamente removido nos primeiros 30 min., atingindo 80 % em 120 min. Na STZ, obteve-se uma redução do teor de carbono de aproximadamente 40 % em 5 min., revelando a eficiência do método. Os experimentos eletroquímicos com o biossensor de dsDNA, não mostraram interação com as substâncias em estudo. STZ, SAF e NSAF quando em presença de ssDNA, em eletrodo de CV, apresentaram interação com o DNA e o MTZ apresentou uma discreta interação com a referida nucleobase.

**Palavras chave:** Metribuzin (MTZ), Sulfentrazone (STZ), Safrol (SAF), Nitrossafrol (NSAF), eletro-fenton.

## ABSTRACT

The present work describes the electrochemical studies of the synthetic herbicides, Metribuzin (MTZ) and Sulfentrazone (STZ), along with the natural insecticide, Safrole (SAF), and its nitro derivative, Nitro-safrole (NSAF). On MTZ analysis, a quantification method by “anodic stripping” was developed, using glassy carbon (GC), carbon paste and carbon paste/castor oil electrodes. The best result was obtained with the last one, with the limit of detection (LOD) of  $1.248 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>. GC and carbon nanotubes-modified GC (GC/CNT) electrodes were used in STZ analysis. The sensor GC/CNT showed the best results (LOD =  $2.70 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>). Electroanalysis of SAF and NSAF were performed with GC, GC/CNT and GC/CNT/ $\beta$ -Cyclodextrin ( $\beta$ -CD) electrodes, in which, in the case of SAF, GC/CNT showed the best performance with LOD =  $0.869 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>; whereas for NSAF, GC/CNT/ $\beta$ -CD was the best, with LOD =  $0.23 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>. Due to SAF and NSAF results using GC/CNT/ $\beta$ -CD sensor, interaction studies with  $\beta$ -CD were carried out, in which the formation constants were measured, for SAF and NSAF, as  $4.14 \times 10^4$  L mol<sup>-1</sup> and  $5.12 \times 10^4$  L mol<sup>-1</sup>, respectively. The electrolysis of MTZ and STZ were carried out in controlled potential and analyzed by gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS). Deaminometribuzin, diketometribuzin and deaminodiketometribuzin were obtained after MTZ electrolysis similarly to the results of microbiological degradation. The electrooxidation process of STZ occurs mainly on the heterocyclic ring and leads to the release of difluorocarbene, that is followed by hydration reaction or oxidation of the methyl group on the heterocycle, and ring opening of the triazole function. The mineralization studies of MTZ and STZ were performed by electro-fenton and analyzed by TOC. For MTZ, TOC was rapidly removed after 30 min, reaching 80% in 120 min. However, in STZ analysis, a decrease about 55% in TOC was observed after 5 min, showing a good performance of this method. The electrochemical analysis with dsDNA biosensor showed no interaction of the macromolecule with those chemicals. However, analyses employing ssDNA, on a GC electrode, have shown positive interaction with STZ, SAF and NSAF and only slight interaction with MTZ.

**Key words:** Metribuzine (MTZ), Sulfentrazone (STZ), Safrole (SAF), Nitro-safrole (NSAF), electro-fenton.



## 1.INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas tem sido utilizado como estratégia para aumentar a produção agrícola, para o controle de pragas ou ervas daninhas como também no controle de vetores de doenças como as de chagas, a malária e a dengue. O uso desordenado de pesticidas associa-se a riscos ambientais e toxicológicos, como o descarte de embalagens vazias, a limpeza inadequada de pulverizadores, descargas das unidades industriais e o desuso de equipamentos de proteção individual [SINGH, 2009; CABRAL *et al.*, 2003]. No Brasil aproximadamente 300.000 toneladas de agroquímicos são aplicados por ano, estando entre os cinco maiores mercados do mundo, entretanto, só na última década aceitou-se o fato de que esses podem lixiviar e contaminar águas subterrâneas o que requer maior atenção para os mananciais de abastecimento de água potável [PARAÍBA *et al.*, 2003]. A partir de 2004, o Ministério da Saúde incluiu os agrotóxicos como parâmetros de análise com os respectivos valores permitidos em água potável, revelando a recente importância toxicológica em níveis de potabilidade em águas de abastecimento público [Portaria do Ministério da Saúde, 2004].

Para avaliar a probabilidade dos agrotóxicos atingirem os mananciais subterrâneos e de superfície usa-se o índice internacional GUS – “Groundwater Ubiquity Score” que avalia a lixiviabilidade de substâncias a possibilidade de encontrá-las em águas subterrâneas, o LEACH- “Leaching Index”, que descreve a mobilidade e o potencial de poluição de águas subterrâneas e superficiais.

$$\text{GUS} = \log(t_{1/2}) \times [4 - \log_{10}(\text{Koc})] \quad \text{Eq.1,}$$

Em que  $t_{1/2}$  é a meia-vida no solo (dias) e  $\text{Koc}$  é o coeficiente de partição em carbono orgânico ( $\text{L kg}^{-1}$ ).

$$\text{LEACH} = (\text{Ws} \times t_{1/2}) / \text{Vp} \times \text{Koc} \quad \text{Eq. 2, em que,}$$

$\text{Ws}$  é a solubilidade em água ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e  $\text{Vp}$ , a pressão de vapor (mPa).

Os ingredientes ativos são classificados como não móveis ( $GUS < 1,8$ ), potencialmente móveis ( $1,8 \leq GUS \leq 2,8$ ) e móveis ( $GUS > 2,8$ ). O índice LEACH é expresso em escala logarítmica para poder comparar com o GUS, que não descreve mobilidade e sim a tendência de lixiviação à medida que o valor aumenta.

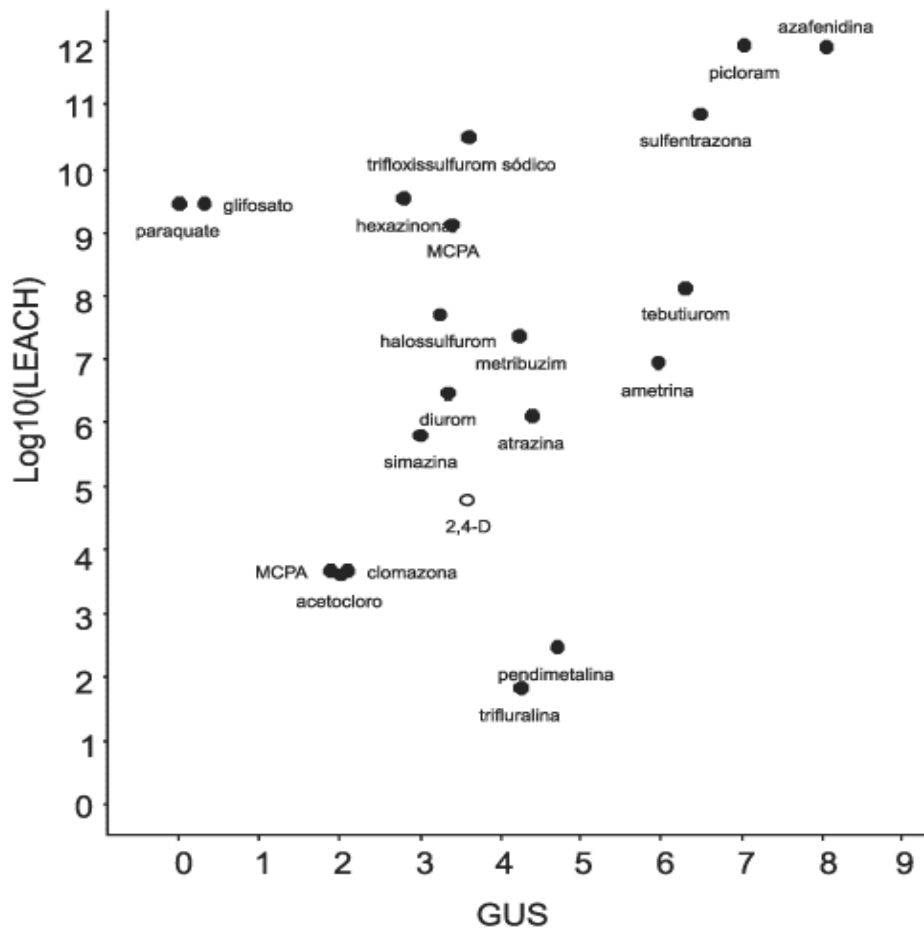


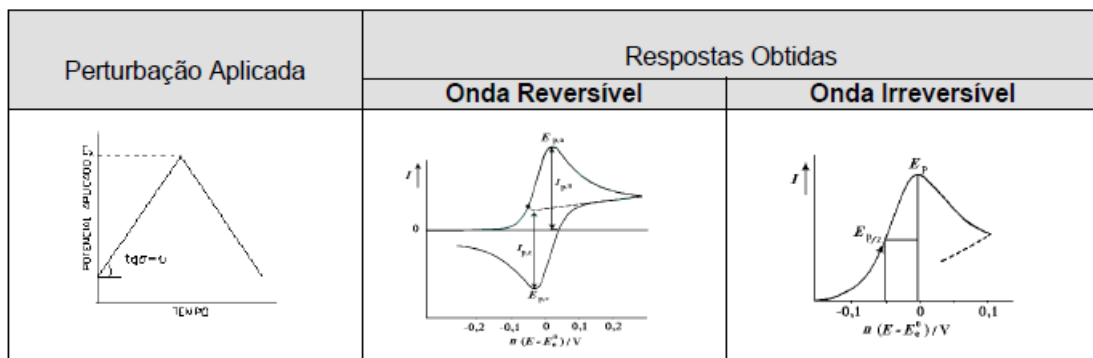
Figura 1. **Relação entre os índices GUS e LEACH para alguns agrotóxicos utilizados no Brasil [adaptado DE ARMAS *et al.*, 2005].**

Tendo em vista o incremento dos estudos de impactos ambientais e toxicológicos causados pelos pesticidas, têm-se aprimorado diversas técnicas para estudos destes poluentes, sendo a eletroquímica uma ferramenta imprescindível neste contexto, pois permite obter muitas informações sobre reações de transferência eletrônica, utilizando

pequenas quantidades de reagentes e de fácil controle das variáveis que combinadas de formas diversas, levam a técnicas eletroquímicas particulares.

As técnicas eletroanalíticas são capazes de fornecer limites de detecção extremamente baixos e uma abundância de informações que caracterizam e descrevem eletroquimicamente determinados sistemas. Tais informações incluem a estequiometria e a velocidade de transferência de carga interfacial, a velocidade de transferência de massa, a extensão de adsorção e quimiossorção.

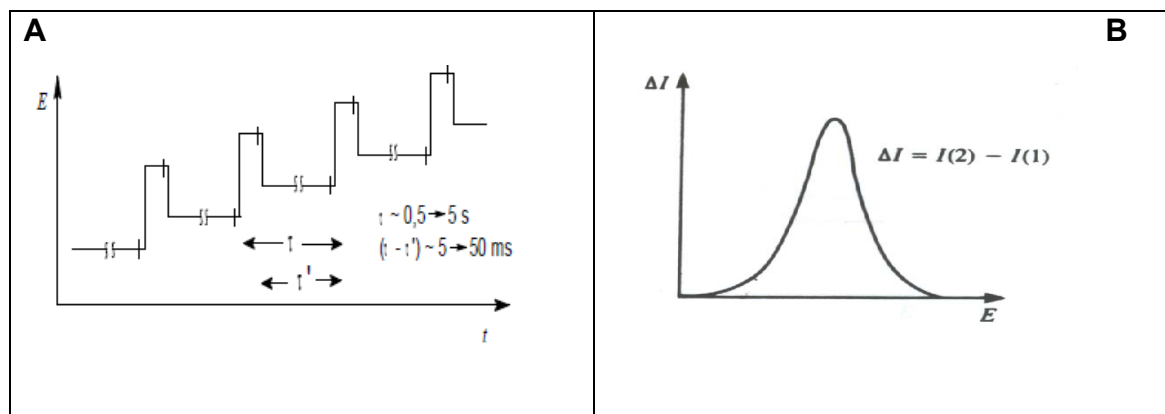
A voltametria cíclica (VC) é a primeira na investigação de um sistema redox, pois oferece rapidamente informações mecanísticas eletródicas. Nessa técnica há uma varredura reversa de potencial, em que se aplica um intervalo de potencial numa velocidade definida, e ao atingir o potencial final há uma inversão ao potencial inicial, na mesma velocidade. Em resposta a tal perturbação, por exemplo pode surgir um par de picos (catódico e anódico), um único pico, ou até mais de um mesma região ( **Fig. 2** ).



**Figura 2.** Perturbação aplicada e respostas, obtidas em Voltametria Cíclica (VC), com os principais parâmetros assinalados

Uma técnica bastante utilizada na eletroanalítica é voltametria de pulso diferencial (VPD), no qual se escolhe um valor base de potencial,  $E_{base}$ , normalmente onde não há reação faradaica, e aplica-se ao eletrodo. A corrente é medida imediatamente antes da aplicação do pulso e no fim do pulso: registra-se a diferença entre as duas correntes. A **Fig. 3B** mostra o potencial correspondente ao ponto máximo do pico, denominado potencial de pico,  $E_p$ , que serve para identificar a espécie

eletroativa. O valor da corrente correspondente ao  $E_p$  é denominado corrente de pico, proporcional a concentração do analito. Em função de a corrente capacitiva ser compensada ao se registrarem as diferenças de corrente, a VPD é uma técnica muito sensível atingindo limites de detecção da ordem de  $10^{-8}$  mol L $^{-1}$  [BRETT & BRETT, 1998].



**Figura 3.** Perturbação aplicada e respostas obtidas em Voltametria de Pulso Diferencial (VPD), com os principais parâmetros assinalados.

Outra forma de voltametria de pulso é a voltametria de onda quadrada (VOQ), em que três parâmetros caracterizam a forma da onda: a altura do salto  $\Delta E$ , a amplitude da onda quadrada  $a_{OQ}$  e o período da onda quadrada  $\tau$  (largura do salto) (Fig. 4). A VOQ mostra grandes vantagens, entre elas a ausência da interferência proveniente da corrente capacitiva, já que as medidas de corrente são obtidas no final do degrau de potencial, quando a corrente capacitiva já se tornou negligenciável, isso implica em melhora na resolução dos dados experimentais, sensibilidade analítica e realização de análises em altas velocidades de varredura, pois, enquanto na VPD a velocidade de varredura varia de 1 a 20 mV s $^{-1}$ , na voltametria de onda quadrada pode atingir 5 V s $^{-1}$ . Outra vantagem da VOQ é a obtenção de dados mecânicos semelhantes àqueles obtidos por VC, haja vista a análise da corrente direta e reversa, com aumento da sensibilidade. A Fig. 5 mostra a resposta eletroquímica em VOQ para sistemas reversíveis e irreversíveis, com separação observada das correntes direta, inversa e resultante [DE SOUZA *et al.*, 2004].

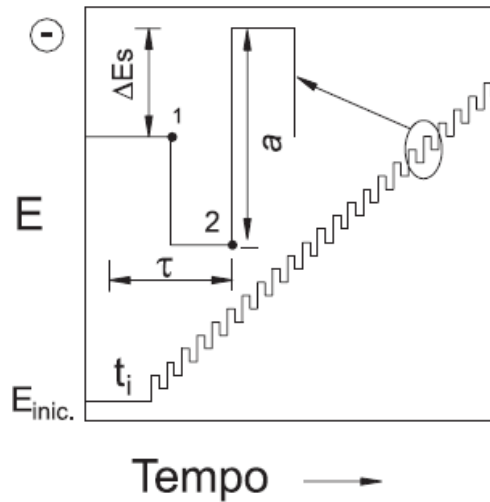


Figura 4. Representação de aplicação do potencial na VOQ

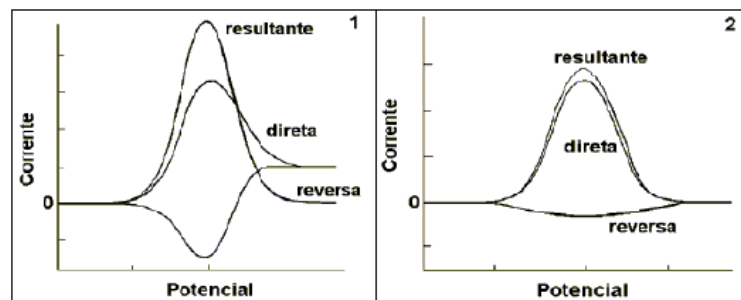


Figura 5. Voltamograma da VOQ, (1) Processo redox de um sistema reversível (2) de um sistema irreversível.

## 1.1 Considerações gerais sobre os herbicidas

De acordo com **MARTINEZ et al.(2008)<sup>a</sup>** entre os agroquímicos utilizados mundialmente, os herbicidas representam 49% e no Brasil sua aplicação concentra-se na produção de cana-de-açúcar, feijão, soja, arroz e algodão. Eles têm a função de controlar as ervas daninhas que prejudicam a lavoura. **Melo (2007)** cita que os herbicidas também são usados para eliminar plantas às margens das estradas e rios e marcar linhas de trilhas. Os agroquímicos podem ser classificados quanto a seu caráter

toxicológico (**Tabela 1**) ou químico, como triazínicos, carbamatos, organofosforados, dinitroanilinas, difeniléteres, etc.

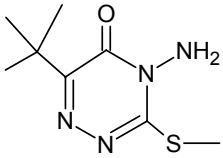
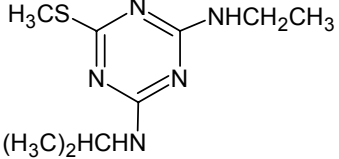
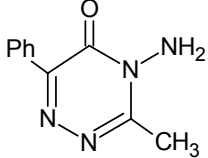
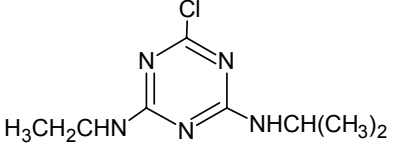
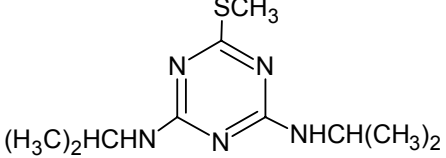
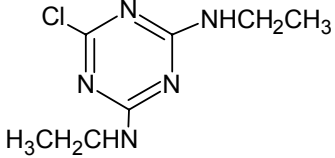
**Tabela 1.** Classificação toxicológica para os agrotóxicos.

CLASSIFICAÇÃO	DESCRIÇÃO	DL <sub>50</sub> mg kg <sup>-1</sup>
I	Extremamente tóxico	< 50
II	Muito tóxico	50 a 500
III	Moderadamente tóxico	500 a 5000
IV	Pouco tóxico	> 5000

### 1.1.1 Considerações gerais sobre os herbicidas triazínicos

As triazinas são uma classe de herbicidas das mais antigas no controle de pragas, com estudos de pesquisa desde 1950. Elas correspondem a 30% da produção mundial de herbicidas. A **tabela 2** mostra alguns herbicidas triazínicos [COUTINHO *et al.*, 2005]. A exposição prolongada a herbicidas desse grupo causa uma variedade de enfermidades, como problemas cardíacos, pulmonares, renais, além de hipotensão, contração muscular e perda de peso. Estudos em laboratório com cobaias fêmeas expostas a herbicidas triazínicos aumentaram a incidência de tumores em glândulas mamárias, revelando assim, o potencial carcinogênico dessa classe de herbicidas [VELISEK *et al.*, 2008, FARZINNEJAD *et al.*, 2005].

**Tabela 2.** Estrutura de alguns herbicidas triazínicos.

	<p><b>METRIBUZIN</b> (4-amino-6-tert-butil-4,5-diidro-3-metiltio-1,2,4-triazinona-5)</p>
	<p><b>AMETRINA</b> N-etil-N-(1-metiletil)-6-(metiltio)-1,3,5-triazina 2,4-diamina)</p>
	<p><b>METAMITRON</b> (4-amino-3-metil-6-fenil-1,2,4-triazinona-5)</p>
	<p><b>ATRAZINA</b> (1-cloro-3-ethylamino-5-isopropilamino-2,4,6-triazina)</p>
	<p><b>PROMETRINA</b> (N2-N4-diisopropil-6-metiltio-1,3,5-triazina-2,4-diamina)</p>
	<p><b>SIMAZINA</b> (6-cloro-N2, N4-dietil-1,3,5-triazina-2,4-diamina)</p>

### 1.1.2 O Herbicida Metribuzin (MTZ)

O herbicida MTZ é encontrado comercialmente na forma de emulsão, concentrada, cujo princípio ativo é um sólido cristalino branco.

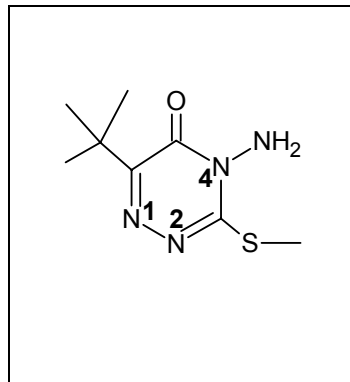
O metribuzin, classificado como uma triazinona, é usado no controle de várias gramíneas, atuando na inibição de sua fotossíntese. A **tabela 3** mostra alguns parâmetros que definem o MTZ como um herbicida com alta solubilidade em água, alto poder de lixiviação e potencialidades de contaminação em mananciais subterrâneos e de superfície, conforme os índices GUS e LEACH (**Fig. 1, pág.2**).

**Tabela 3.** Características físico-químicas e toxicológicas do MTZ [KITOUS *et al.*, 2009; ZHANG, *et al.*, 2009].

$t_{1/2}$	140 dias (meia vida no solo)
Koc	106 L Kg <sup>-1</sup> (coeficiente de sorção normalizado pela fração de carbono orgânico no solo)
Ws	1030 mg L <sup>-1</sup> (solubilidade em água,)
Vp	5,8x10 <sup>-5</sup> Pa (pressão de vapor)
GUS	4,238 (“Groundwater Ubiquity Score”)
LEACH	7,371 (“Leaching Index”- log10)
CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA	III (moderadamente tóxico)
DENSIDADE	1,28 g/cm <sup>3</sup> (25°C)
pK <sub>a</sub>	1 (O inverso do logaritmo da constante de acidez, K <sub>a</sub> )



A composição química do metribuzin é 4-amino-6-tert-butil-3-(metiltio)-1,2,4-triazin-5(4H)-ona e sua fórmula estrutural é representada na **Fig. 6** [SHAH *et al.*, 2009].



**Figura 6.** Fórmula estrutural do metribuzin

O processo da degradação microbiológica do MTZ, dar-se por desaminação e desulfurização, originando o DA (desamino metribuzin), DK (diceto metribuzin) e o DADK (desamino diceto metribuzin) (**Fig.7**), caracterizados por espectroscopia de IV e RMN  $^1\text{H}$  por **ALBRO *et al.*, 1984**. A mineralização do MTZ atinge no máximo 20% em 90 dias e há pouca atenção na contaminação dos mananciais pelo mesmo e seus metabólitos. Existem estudos em que os metabólitos foram detectados em águas subterrâneas acima do valor máximo permitido. Na comunidade europeia o valor máximo permitido é de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  para água potável, tanto para o MTZ como seus metabólitos [**KJAER *et al.*, 2005**]. Entretanto, apesar do grande uso no Brasil desse herbicida, ele não consta no monitoramento para água potável.

Conforme **FAIRCHILD & SAPPINGTON (2002)**, o metribuzin é altamente tóxico para 10 espécies de algas, entre 4 a 14 dias com  $\text{LD}_{50}$   $31 \mu\text{g L}^{-1}$ , assim, mais tóxico que outros herbicidas como atrazina, alaclor e metilalclor. **VELISEK *et al.* (2008)** estudaram a toxicidade em trutas da espécie *Oncorhynchus mykiss*, em que o metribuzin foi tóxico em 96 h, com  $\text{LD}_{50}$   $62,5 \mu\text{g L}^{-1}$ , considerando assim o MTZ com alto risco para peixes.

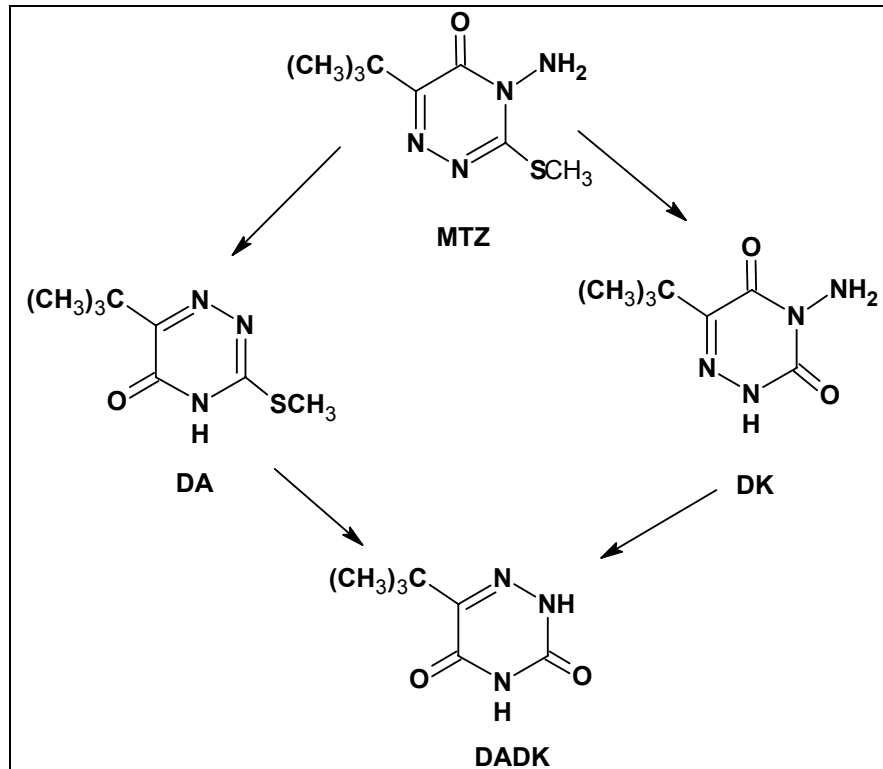


Figura 7. Rota de degradação microbiológica do MTZ [PRESTEL *et al.*,1976].

### 1.1.3. O Herbicida Sulfentrazona (STZ)

O herbicida STZ é encontrado comercialmente na forma de emulsão concentrada, constituindo-se do princípio ativo um sólido cristalino de cor tanino.

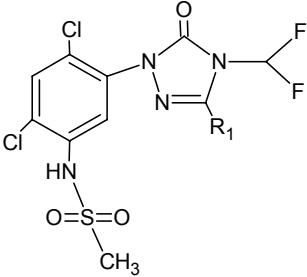
A sulfentrazona é do grupo químico das triazolinonas, herbicida utilizado em pré plantio, no controle de várias espécies de plantas daninhas do cultivo de cana-de-açúcar, café, eucalipto e utilizado mundialmente na produção de soja. Ela age nas plantas inibindo a enzima protoporfirinogênio oxidase, que atua na biossíntese da clorofila, provocando rápida dessecação foliar nas plantas que emergem [PASTRE, 2006]. A **tabela 4** mostra alguns parâmetros que definem a sulfentrazona como um herbicida fracamente ácido, altamente persistente no solo, mostra alto poder de lixiviação bem como potencialidades de contaminação em mananciais subterrâneos e de superfície, do que o MTZ, conforme os índices GUS e LEACH (**Fig. 1**).

**Tabela 4.** Características físico-químicas e toxicológicas do STZ [BACHEGA *et al.*, 2009; VIEIRA *et al.*, 2007; ARMAS, *et al.*, 2005].

$t_{1/2}$	547,5 dias (meia vida no solo)
Koc	43 L Kg <sup>-1</sup> (coeficiente de sorção normalizado pela fração de carbono orgânico no solo)
Ws	780 mg L <sup>-1</sup> (solubilidade em água,)
Vp	1,33x10 <sup>-7</sup> Pa (pressão de vapor)
GUS	6,48 (“Groudwater Ubiquity Score”)
LEACH	10,87 (“Leaching Index”- log10)
CLASS.TOXI COLÓGICA	III (moderadamente tóxico)
DENSIDADE	0,53 g/cm <sup>3</sup> (20°C)
pK <sub>a</sub>	6,56 (O inverso do logaritmo da constante de acidez, K <sub>a</sub> )

A estrutura química da Sulfentrazona é N-[2,4-dicloro-5-[4-(difluorometil)-4,5-diidro-3metil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il]metanossulfonamida e seu metabolismo é igual para plantas e animais, via oxidação do grupo metila do anel triazolínico (**Tabela 5**) [DAYAN *et al.*, 1998; MARTINEZ *et al.*, 2008].

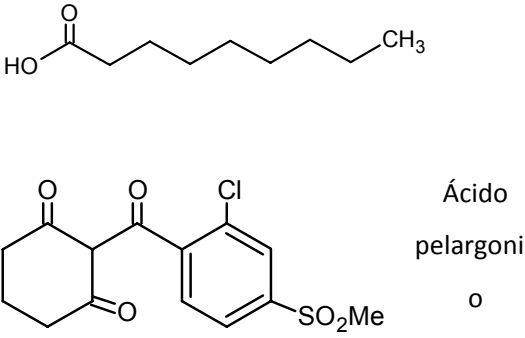
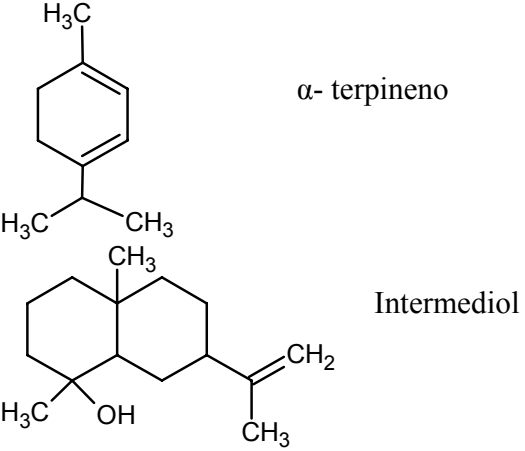
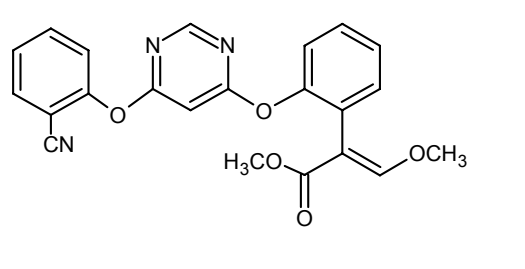
**Tabela 5.** Estrutura da STZ e seus metabólitos.

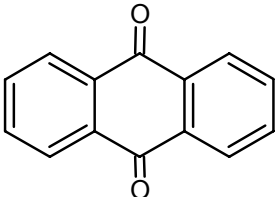
	<b>NOME</b>	<b>R<sub>1</sub></b>
	SULFENTRAZONA	-CH <sub>3</sub>
	3-HIDROXIMETIL SULFENTRAZONA	-CH <sub>2</sub> OH
	3-ÁCIDO CARBOXÍLICO SULFENTRAZONA	-COOH
	3-DESMETIL SULFENTRAZONA	-H

## 1.2 Pesticidas Naturais

O uso de pesticidas sintéticos causa problemas, pois geralmente são tóxicos, aplicados em grande quantidade, em área bastante extensa e geralmente, possuem grande persistência no meio ambiente, além de causar problemas de qualidade em águas superficiais e subterrâneas. Já os pesticidas naturais, possuem baixa persistência e pouca toxicidade, pois seus metabólitos são resultado da co-evolução de seu organismo com o ambiente, muito deles são metabólitos de defesa contra outros organismos. Há alguns obstáculos para produção de novos pesticidas utilizando o produto natural como protótipo, pois muitos deles possuem estruturas complexas, com vários centros quirais, inviabilizando o custo da síntese, como também a propriedade intelectual de compostos descobertos em outros países. A **Tabela 6** mostra alguns pesticidas naturais isolados, caracterizados e testados quanto à respectiva atividade [RIMANDO & DUKE, 2006].

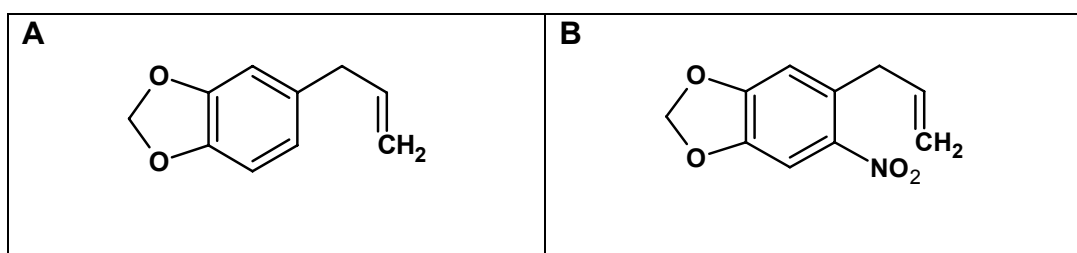
**Tabela 6.** Alguns pesticidas naturais.

Herbicidas	 <p>HO-C(=O)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub></p> <p>Ácido pelargônico</p> <p>Sulcotriona</p>
Inseticidas	 <p>H<sub>3</sub>C</p> <p><math>\alpha</math>- terpineno</p> <p>H<sub>3</sub>C</p> <p>CH<sub>3</sub></p> <p>Intermediol</p> <p>H<sub>3</sub>C</p> <p>OH</p> <p>CH<sub>3</sub></p> <p>CH<sub>2</sub></p> <p>CH<sub>3</sub></p>
Fungicida	 <p>azoxistrobin</p>

Algicida	 9,10 antraquinona
----------	--

### 1.2.1 Safrol e nitrossafrol

O safrol [1,2-Metilenodioxo-4-(prop-2-en-1-il)benzeno] é um alilbenzeno natural encontrado em diversas espécies da flora brasileira (**Fig. 8A**). Destaque para as espécies *Ocotea pretiosa* (Nees) da família Lauracea, encontrada no sul do Brasil e a *Piper hispidinevium*, família Piperaceae conhecida como pimenta longa, encontrada em abundância no estado do Acre (**Fig. 9**), cujo teor de safrol é superior a 90% para ambas as espécies. Ele é utilizado como inseticida natural e precursor de vários grupos de produtos naturais biologicamente ativos.



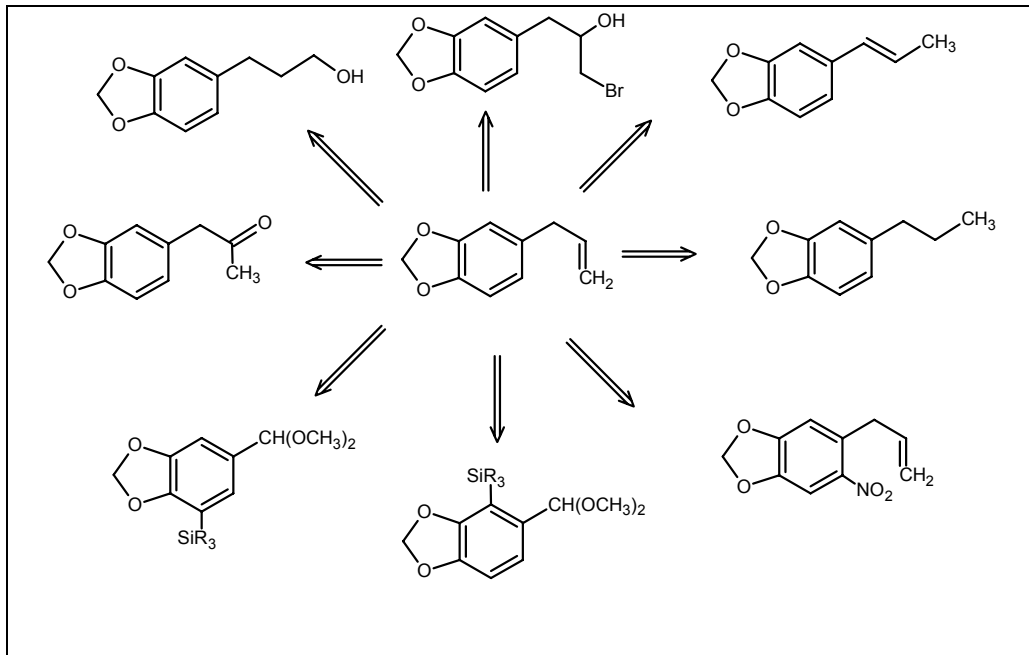
**Figura 8.** Estrutura (A) Safrol e (B) Nitrossafrol.



**Figura 9.** Folhas e talos da pimenta longa (*Piper hispidinevium*).

[ [www22.sede.embrapa.br/pimentalonga/faqs.htm](http://www22.sede.embrapa.br/pimentalonga/faqs.htm)] acessado em 17/03/2010.

A abundância do safrol tornou-se de grande interesse em síntese orgânica. Esse fenil propanóide tem em sua estrutura um grupamento alil, passível de quebra oxidativa da olefina terminal, adições eletrofílicas bem como a elevada reatividade própria dos fenóis em reações de substituição eletrofílica [SANTOS, 2006]. A química do safrol segue largamente estudada, pois conforme mostrado na **Fig. 10** todos os átomos de carbono da substância estão aptos a serem eficientemente funcionalizados. Estudos evidenciaram efeitos hepatotóxicos e cancerígenos em ratos, que estavam sob dieta alimentar contendo safrol, atribuindo-se durante algum tempo tal toxicidade à presença do grupo metilenodioxílico. Estudos do metabolismo da substância natural evidenciaram, contudo que o grupo toxicofórico está na unidade C-3 lateral. A unidade metilenodioxila, pode ser facilmente identificada em diversas substâncias de interesse terapêutico, pois a presença deste grupo assegura às moléculas bioativas adequado caráter lipofílico, facilitando seu trânsito na biofase e caráterceptor de ligações de hidrogênio, útil na interação com eventuais bioreceptores. [BARREIRO e FRAGA,1999;COSTA *et al.*, 2000; FAZOLIN, *et al.*, 2007].



**Figura 10.** Diversos produtos a partir do safrol [adaptado, BARREIRO e FRAGA, 1999].

O nitrossafrol (5-nitro-1,2-Metilenodioxo-4-(prop-2-en-1-il)benzeno) (**Fig. 8B, pág.14**) foi sintetizado por **MOREIRA et al.,(2007)**, no qual ainda não existe na literatura estudos toxicológicos sobre o mesmo. **PAULA et al.,(2009)** cita haver entendimento de que o mecanismo de ação dos nitrocompostos se ligue ao processo de redução *in vivo* do grupo nitro gerando intermediários altamente reativos. A interação desses grupos com o DNA suscita discussões sobre o caráter mutagênico e neoplástico dos nitrocompostos. Assim, técnicas eletroquímicas permitem estudar a biorredução do grupo nitro e determinar seu potencial de redução, conhecer os intermediários formados e estimar, para cada um deles, a possibilidade de atividade biológica. A **Figura 11** mostra o esquema da biorredução dos nitrocompostos aromáticos, em que os radicais  $\text{Ar-NO}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{Ar-NO}_2\text{H}^{+\cdot}$  e o derivado hidroxilamina ( $\text{Ar-NHOH}$ ) podem interagir com o DNA.



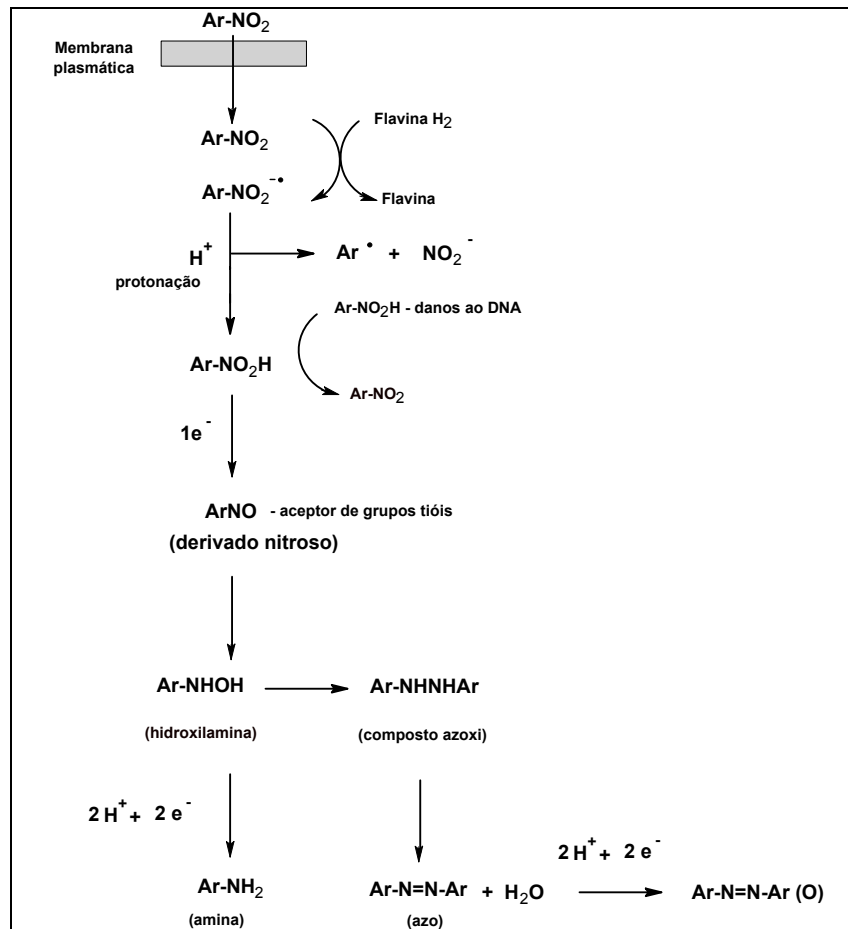


Figura 11. Provável mecanismo de biorredução para nitrocompostos [adaptado, PAULA *et al.*, (2009)].

### 1.3 Degradação de agroquímicos

A presença de agroquímicos em efluentes de unidades industriais, águas subterrâneas e de superfície, e principalmente em fontes de abastecimento de água potável causam grandes problemas para os órgãos responsáveis, pois os processos de tratamento tradicionais são muitas vezes ineficazes. Os tratamentos biológicos, geralmente são caros e lentos, os físico-químicos degradam parcialmente ou há apenas mudança de fase [ABDESSALEM *et al.*, 2010]. Sendo assim, é de fundamental importância desenvolver estudos para o aperfeiçoamento das técnicas de degradação que atendam aos padrões ambientais e que mostrem viabilidade econômica. Diante desse panorama, aumenta-se o interesse dos pesquisadores por processos oxidativos

avançados (POA's), pois envolvem a geração de espécies transitórias de elevado poder oxidante, destacando-se o radical livre hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), com aplicações em química e biologia.

### 1.3.1 Processos Oxidativos Avançados (POA's)

Os processos oxidativos avançados (POA's) consistem basicamente na geração do radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), o que pode-se dar em processos únicos ou combinados, como em sistemas químicos, fotoquímicos e fotocatalíticos como ozônio ( $\text{O}_3$ ), luz ultra-violeta (UV), ozônio e luz ultra-violeta ( $\text{O}_3/\text{UV}$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), peróxido de hidrogênio e luz ultra-violeta ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ), reagente de Fenton ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ ) e fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ) [OTURAN *et al.*, 2009]. O radical é gerado *in situ*, e atua na oxidação não seletiva dos poluentes orgânicos. É o segundo agente oxidante seguido do flúor (Tabela 07), possibilitando a degradação de diversos contaminantes orgânicos que pode levar à total mineralização. Entretanto, PIMENTEL *et al.*, (2008) cita que apesar das vantagens oferecidas pelos POA's tem-se que otimizar criteriosamente o sistema, principalmente pelo alto custo dos produtos químicos e a possível toxicidade de sub produtos, que em alguns casos podem ser mais tóxicos que o poluente inicial.

**Tabela 7.** Potencial padrão de redução, em meio aquoso, de alguns agentes oxidantes para destruição de poluentes orgânicos [adaptado, BRILLAS *et al.*, 2009].

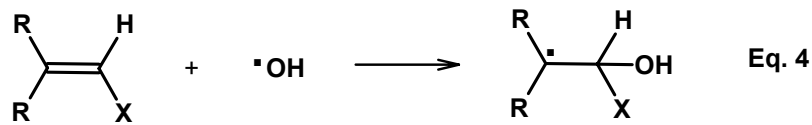
AGENTE OXIDANTE	REAÇÃO DE REDUÇÃO	E <sup>0</sup> /V vs. SHE
Flúor	$F_{2(g)} + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2HF$	3,05
Radical hidroxila	$\cdot OH + H^+ + e^- \rightarrow H_2O$	2,80
Anion radical sulfato	$SO_4^{\cdot -} + e^- \rightarrow SO_4^{2-}$	2,60
Íon ferrato	$FeO_4^{2-} + 8H^+ + 3e^- \rightarrow Fe^{3+} + 4H_2O$	2,20
Ozônio	$O_{3(g)} + 2H^+ + 2e^- \rightarrow O_{2(g)} + H_2O$	2,07
Íon peroxidisulfato	$S_2O_8^{2-} + 2e^- \rightarrow 2SO_4^{2-}$	2,01
Peróxido de hidrogênio	$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$	1,76
Íon permanganato (I)	$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- \rightarrow MnO_{2(s)} + 2H_2O$	1,67
Radical hidroperoxila (I)	$HO_2\cdot + 3H^+ + 3e^- \rightarrow 2H_2O$	1,65
Cloro	$Cl_{2(g)} + 2e^- \rightarrow 2Cl^-$	1,36
Oxigênio	$O_{2(g)} + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$	1,23

Há três possíveis modos de ataque dos radicais hidroxilas ( $\cdot OH$ ) envolvendo as moléculas orgânicas:

1. a abstração de um átomo de hidrogênio para formar água:



2. a adição eletrofílica a uma insaturação:



3. a transferência eletrônica ou reações redox:

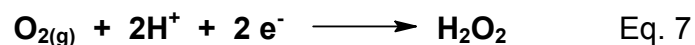


### 1.3.2 Processo eletro-fenton

A eletroquímica oferece várias alternativas para a degradação de poluentes tóxicos, dentre as quais se podem destacar o processo eletro-fenton, que consiste na geração contínua de radical hidroxila no meio, sem produzir resíduos, caracterizada como uma técnica limpa, com a possibilidade de estudos mecanísticos e rápida mineralização, com baixo custo quando os parâmetros são otimizados. A equação 6 mostra a formação do radical hidroxila a partir dos reagentes Fenton ( $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que são gerados eletroquimicamente no cátodo [OZCAN, *et al.*, 2008].



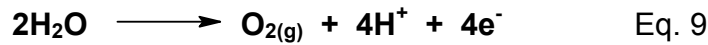
Conforme CHEN & LIANG (2008) o peróxido de hidrogênio é eletroquimicamente gerado no cátodo, pela redução do oxigênio dissolvido na solução, conforme equação 7.



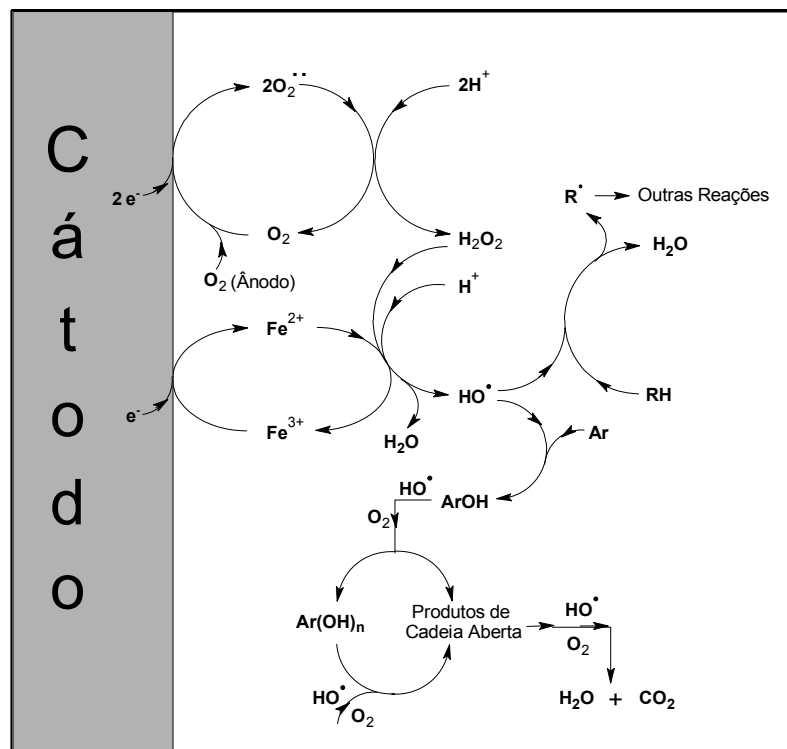
Uma segunda reação catódica ocorre simultaneamente, a redução dos íons férricos a ferrosos, conforme a equação 8.



No ânodo, a oxidação da água gera oxigênio gasoso (Eq.9)



A **Fig. 12** mostra o esquema de degradação de poluentes orgânicos por processo eletro-fenton.



**Figura 12.** Esquema do processo eletro-fenton, (R/Ar) poluentes alifáticos e aromáticos, respectivamente [OTURAN, 2000].

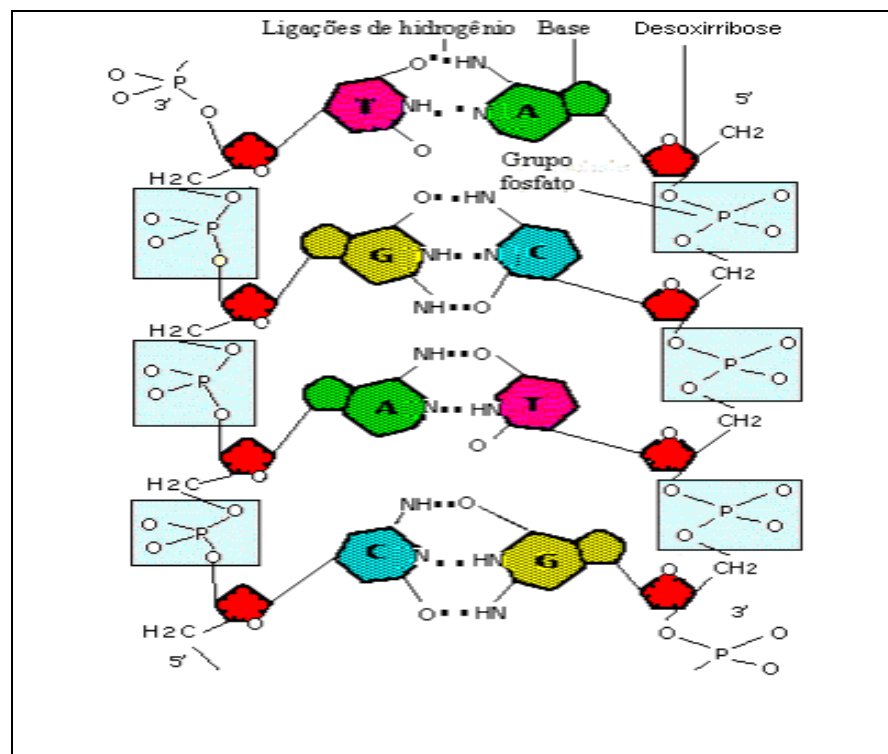
#### 1.4 Danos ao DNA provocados por agroquímicos

Dentre os vários efeitos causados pelos agroquímicos, ressalta-se a genotoxicidade, que avalia as lesões ao material genético induzido por algumas substâncias, que podem gerar mutações e, como consequência, a formação de

tumores. O diagnóstico da genotoxicidade é realizado por meio do teste do cometa e pelo emprego de biossensores. Esse último apresenta algumas vantagens, pois gera diretamente o sinal em um curto período de tempo, é simples em relação às outras análises, possui reduzido número de etapas quando comparado com as demais.

#### 1.4.1 Comportamento eletroquímico do DNA

O DNA é uma biomolécula com grande importância vital, seja pelas informações hereditárias, seja na síntese de proteínas. Tem estrutura tridimensional com dupla hélice, formadas de duas fitas, cada uma delas constituídas por grupos fosfatos, pentoses e bases púricas e pirimídicas ligadas através de ligações de hidrogênio (**Fig. 13**). A eletroatividade do DNA foi divulgada em 1958, e o desenvolvimento de biossensores de DNA teve início em 1990, por técnicas polarográficas [**PALECEK, 2009**].

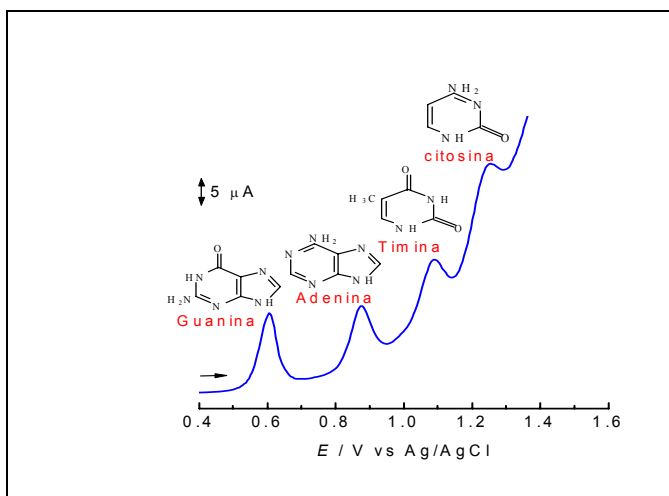


**Figura 13.** Estrutura química do dsDNA. Bases púricas (guanina – G ; adenina – A) e pirimídicas ( timina – T e citosina – C).

Biossensores eletroquímicos de DNA são dispositivos em que se tem como elemento biológico de reconhecimento um ácido nucléico imobilizado sobre um transdutor eletroquímico, ou seja, um eletrodo. Nesse caso, o DNA imobilizado na superfície eletródica tem a finalidade de detectar mudanças ocasionadas em sua estrutura, quando há interações entre as moléculas alvo. Essas mudanças conformacionais representam uma lesão ao DNA, com possíveis conseqüências letais, como a carcinogênese [RAUF *et al.*, 2005].

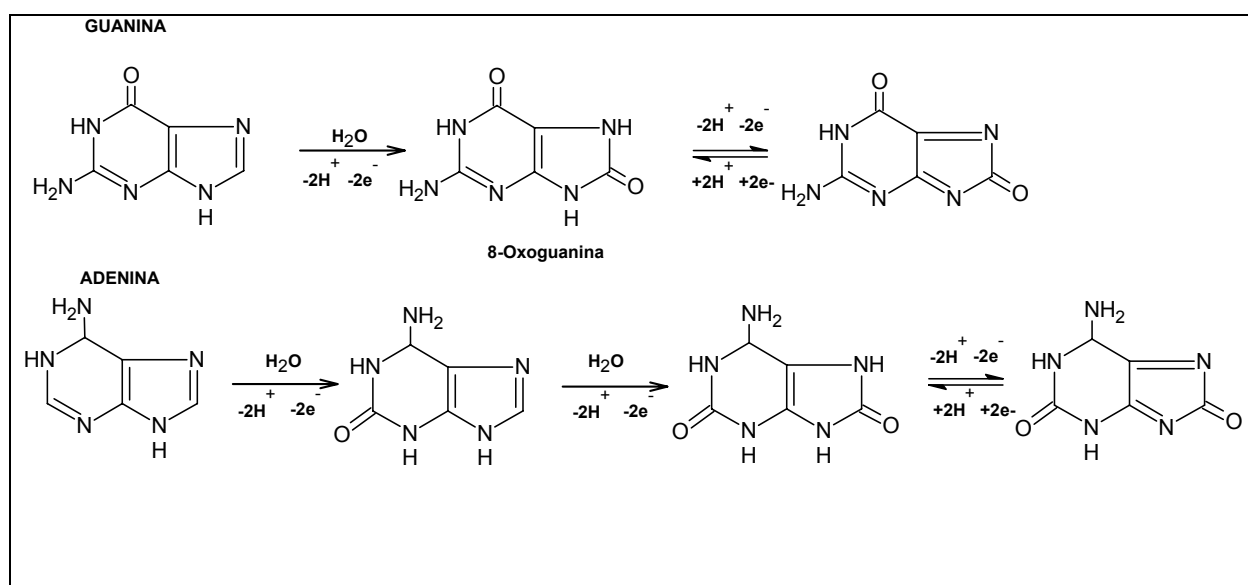
Os danos causados ao DNA por diversas substâncias são complexos e envolvem a oxidação das bases, a fragmentação dos açúcares ou quebra das fitas. Os métodos para analisar os referidos danos ao DNA são eletroforese, cromatografia gasosa, HPLC com espectrometria de massas ou métodos eletroquímicos [LIU *et al.*, 2006]. Dentre eles, destaca-se a eletroquímica, por seu baixo custo, alta estabilidade, o que permite mimetizar o ambiente biológico e, ainda, pela fácil adaptação analítica.

O comportamento eletroquímico do DNA e os efeitos da sua adsorção sobre diversos tipos de eletrodos vêm sendo pesquisados exaustivamente, o que permite conhecer suas características, entre elas: a) em eletrodos de carbono vítreo, a eletro oxidação do DNA em meio ácido relaciona-se à oxidação das bases púricas (adenina e guanina), condições em que as bases pirimídicas (citosina e timina) são eletroinativas; b) o dsDNA (DNA nativo, “double – strand” ou dupla fita) apresenta correntes de eletro oxidação de menor intensidade em comparação ao ssDNA (DNA em fita simples, “single – strand”), pelo fato de que os sítios ativos estão protegidos, por participarem das ligações de hidrogênio da dupla hélice e por sua menor flexibilidade e maior dificuldade de adsorção na superfície dos eletrodos (**Fig. 14**) .



**Figura 14.** VPD em eletrodo de CV para mistura de bases guanina, adenina ( $2 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$ ), timina e citosina ( $2 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$ ). Tampão fosfato pH 7,4,  $v = 5$  mV  $s^{-1}$ , amplitude 50 mV .

As oxidações de guanina e adenina citadas acima compreendem duas etapas, com perda de quatro elétrons e quatro prótons; para ambos os casos a primeira etapa é determinante da velocidade da reação. A **Fig. 15** apresenta os mecanismos de oxidação para guanina e adenina.



**Figura 15.** Mecanismo para a oxidação das bases guanina e adenina [LA-SCALEA *et al.*, 1999].



## 2.OBJETIVOS

### 2.1 Gerais

Investigar o comportamento eletroquímico do Metribuzin, Sulfentrazona, Safrol e Nitrossafrol e quantificá-los em diferentes eletrodos; avaliar a interação com o DNA por técnicas eletroquímicas e obter degradação via utilização de processos oxidativos avançados e via eletroquímica.

### 2.2 Específicos

- Estudos eletroquímicos do metribuzin, safrol, nitrossafrol e sulfentrazona utilizando técnicas de voltametria em meio prático;
- Verificar o efeito do pH sobre o comportamento eletroquímico de metribuzin, safrol, nitrossafrol e sulfentrazona;
- Realizar eletrólises com o MTZ e STZ com o objetivo de caracterizar os produtos;
- Realizar estudos de degradação por processos eletro-fenton do MTZ e STZ.
- Construir curvas analíticas para quantificar MTZ, SAF, NSAF e STZ em diversos tipos de eletrodos.
- Estudar a interação de SAF e NSAF com a  $\beta$ -CD para estimar suas respectivas constantes de formação ( $K_F$ ).
- Avaliar a possível interação de metribuzin, safrol, nitrossafrol e sulfentrazona com dsDNA e ssDNA.

## 3.MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Produtos químicos e solventes

O metribuzin (MTZ), a sulfentrazona (STZ), a  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD), o sal de Mohr's  $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e a quitosana foram adquiridos da Sigma-Aldrich . O Safrol (SAF) e o Nitrossafrol (NSAF) foram cedidos pela professora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Lima Leite da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Ácido 11-mercaptoundecanóico (MUA) foi obtido da Merck. Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (>95% pureza, 10-20 nm de diâmetro) foram adquiridos da Nanolab, Inc. (Brighton, MA, USA). Os reagentes químicos foram de grau analítico. Todas as soluções foram preparadas em água ultra pura (18M  $\Omega$  cm) de um sistema de purificação Milli-Q da Millipore Inc.

O dsDNA utilizado nos estudos de interação das substâncias com o DNA, consiste em um sal de sódio Tipo I, altamente polimerizado de calf Thymus (Sigma, Saint Louis), dessecado, estocado a 2-8°C, teor de sódio 6,2% e água 13%.

Para o preparo dos tampões foram utilizados: fosfato de sódio monobásico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) e fosfato de sódio dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) da Vetec ; bicarbonato de sódio anidro ( $\text{NaHCO}_3$ ) e hidróxido de sódio (NaOH) da Merck; ácido acético (HOAc) e acetato de sódio da Synth.

O Meio Essencial Mínimo Eagle (MEM), o Soro Fetal Bovino (SFB), a Tripsina e o EDTA foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

#### 3.1.1 Extração e caracterização de Metribuzin e Sulfentrazona

O produto comercial SENCOR 480, cujo princípio ativo é o metribuzin, foi cedido pela Agrofield Comércio e Representações Ltda; a amostra comercial foi submetida a extração em funil de separação (15 mL) com acetato de etila (5 mL) por três vezes; a fase orgânica foi concentrada até secura em rotavapor (BUCHI R-114). Para verificar o grau de pureza, o resíduo sólido foi analisado por cromatografia de camada delgada, utilizando como eluente hexano/acetato de etila (3:7 v/v) com revelação por luz ultra

violeta; teve determinado o ponto de fusão com equipamento MPAQF-301 da Microquímica e foi analisado por Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 e de Hidrogênio .

O herbicida BORAL 500, cujo princípio ativo é a sulfentrazona foi cedido pela Agrofield Comércio e Representações Ltda. Adicionaram-se, a 15 mL da amostra comercial, 5 mL de água Milli-Q em um funil de separação e a mistura foi submetida a extração com acetato de etila (5 mL) por três vezes e a fase orgânica foi concentrada em rotavapor (BUCHI R-114). Para verificar o grau de pureza, o resíduo sólido foi analisado por cromatografia de camada delgada utilizando como eluente hexano/acetato de etila (4:6 v/v) revelado sob luz UV e teve seu ponto de fusão determinado utilizando equipamento MPAQF-301 da Microquímica. Para análise de ressonância magnética nuclear, utilizou-se a técnica de carbono treze (RMN  $^{13}\text{C}$ ) e hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ); para tanto 30,0 mg do material foram solubilizados em metanol deuterado.

### 3.2 Instrumentos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em Potenciostato AutoLab, em um sistema de três eletrodos: disco de carbono vítreo ou feltro de carbono (KFA5 marca SEECIL para eletrólises) como eletrodo de trabalho, eletrodo de platina como auxiliar e como eletrodo de referência,  $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ).

O tratamento dos gráficos foi realizado através do programa Origin 8.0. As medidas de pH das soluções tampão foram realizados em pHmetro da Quimis. O polimento dos eletrodos de carbono vítreo foram efetuados em lixadeira, modelo PLF.

Os experimentos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram realizados em um espectrômetro BRUKER AVANCE 400, na frequência de 400 MHz para RMN $^1\text{H}$  e 100 MHz para RMN $^{13}\text{C}$ .

Para estudos de interação do safrol e nitrossafrol com a  $\beta$ -Ciclodextrina utilizou-se incubadora, modelo MA-420 e espectrofotômetro Shimadzu Multispec-1501 com cubeta de quartzo (caminho ótico de 1 cm).

Para verificar a mineralização de metribuzin e sulfentrazona após a eletrodegradação, utilizou-se o equipamento Shimadzu TOC-V sistema CPH.

### 3.2.1 Eletrodo de Carbono Vítreo

A superfície do eletrodo de carbono vítreo (BAS, diâmetro de 3 mm) foi polida em lixadeira, com alumina 0,1  $\mu\text{m}$  e, sonicada em água por 2 minutos. Para verificar a limpeza do eletrodo foi preparada uma solução de ferricianeto de potássio  $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão fosfato pH 7,0 para verificar a reversibilidade do sistema, em seguida efetuou-se, a varredura utilizando a técnica de voltametria cíclica na faixa de potencial de -0,3 V a 0,6 V, na velocidade de  $0,050 \text{ V s}^{-1}$ .

Eletrodo de carbono vítreo foi utilizado como eletrodo de trabalho nos estudos eletroquímicos, determinação do  $\text{pK}_a$ , em eletrodos modificados com nanotubos de carbono, nanotubos de carbono/ $\beta$ -ciclodextrina, monitoramento de eletrólises, curvas eletroanalíticas e estudos com DNA.

### 3.2.2 Eletrodo Modificado com Nanotubo de Carbono de Paredes Múltiplas

Depois de limpo, o eletrodo de carbono vítreo foi submetido a 10 ciclagens na faixa de potencial de 0 a 1,4 V, em tampão fosfato pH 7,0 para o safrol e sulfentrazona; nos estudos com o nitrossafrol, o eletrodo foi ciclado na faixa de potencial de 0 a -1,4V em igual meio, após desaeração com  $\text{N}_{2(\text{g})}$  por 10 minutos. Em seguida o eletrodo foi lavado com água milli-Q e secado à temperatura ambiente. Preparou-se uma dispersão com  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$  de nanotubo de carbono em DMF e sonicada em água por 2h. Posteriormente,  $2,5 \mu\text{L}$  da suspensão foi depositada na superfície do eletrodo CV e levada a uma estufa a temperatura de  $80^\circ \text{ C}$  por um período de 15 minutos. Deixada retornar a temperatura ambiente, acrescentaram-se ao sensor outros  $5 \mu\text{L}$  da suspensão e levada a estufa à mesma temperatura por mais 30 minutos. O sensor foi caracterizado por voltametria cíclica na faixa de potencial de -1,4 V a 1,4 V na velocidade de  $0,1 \text{ V s}^{-1}$ . Esse sensor foi desenvolvido para quantificar safrol, nitrossafrol e sulfentrazona.

### 3.2.3 Eletrodo Modificado com Nanotubo de Carbono/ $\beta$ -ciclodextrina

Após a limpeza do eletrodo de carbono vítreo, o mesmo foi submetido a 10 ciclagens na faixa de potencial de 0 a 1,4 V, em tampão fosfato pH 7,0, para safrol e sulfentrazona; para o nitrossafrol o eletrodo foi ciclado na faixa de potencial de 0 a -1,4 V em igual meio. Depois de tratado, o eletrodo foi lavado com água deionizada e seco à temperatura ambiente. Em seguida preparou-se uma suspensão formada por 1,0 mg de nanotubo de carbono de paredes múltiplas com 0,5 mg de  $\beta$ -ciclodextrina em 5 mL de dimetilformamida, a mistura foi ultrassonicada em água por 2 horas. Posteriormente, 2,5  $\mu$ L da suspensão foi depositada na superfície do eletrodo CV e levada à estufa a uma temperatura de 80° C por um período de 15 minutos. Após retornar à temperatura ambiente, acrescentaram-se mais 5  $\mu$ L da mesma suspensão; o dispositivo foi submetido à mesma temperatura por mais 30 minutos. O sensor foi caracterizado por voltametria cíclica e utilizado para quantificar o safrol e o nitrossafrol.

### 3.2.4 Eletrodo de Pasta de Carbono (EPC)

A pasta de carbono foi preparada homogeneizando grafite ativado (100°C em estufa por 1 hora) com óleo de mamona ou nujol, numa proporção 70/30 (m/m). A pasta foi depositada em uma cavidade na extremidade de um tubo de Teflon e com contato elétrico com a pasta, e foi caracterizada por voltametria cíclica. A superfície do eletrodo foi compactada e lavada cuidadosamente com água Milli-Q. Os sensores foram utilizados para quantificar o metribuzin.

### 3.2.5 Eletrodo Modificado com Quitosana (EMQ)

Para o preparo do gel de quitosana, foram solubilizados 50 mg da mesma em 5 mL de ácido acético glacial a 1%. Deixou-se a mistura sob agitação por 3 horas até a dissolução completa da quitosana [MELO *et al.*, 2008]. Após o preparo do eletrodo de CV, conforme item 3.2.1, o mesmo foi submetido a um pré-tratamento eletroquímico com 10 ciclagens na faixa de potencial de -1,4 V a 1,4 V em tampão acetato pH 4,0, após desaeração com  $N_{2(g)}$  por 10 minutos, lavado com água milli-Q e secado à

temperatura ambiente. Após tratamento, adicionou-se sob a superfície do mesmo uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  do gel de quitosana, cobrindo a superfície do carbono vítreo e secado em atmosfera de gás nitrogênio. Em seguida o sensor foi mergulhado na célula eletroquímica para a análise quantitativa do metribuzin.

### 3.2.6 Biossensor de dsDNA

O DNA utilizado foi do tipo I, altamente polimerizado de *calf thymus* (timo de bezerro), contendo 6,2 % de Na e 13% de  $\text{H}_2\text{O}$ , dessecado e armazenado aproximadamente 8  $^{\circ}\text{C}$ . Com auxílio de uma pinça foram pesados 25 mg de dsDNA e colocados em *ependorf* juntamente com 2 mL de tampão acetato pH 4,5. O gel foi preservado sob refrigeração por 24 horas, tendo-se o cuidado de não deixar bolhas na solução. Após preparo do eletrodo de carbono vítreo, conforme item 3.2.1, o mesmo foi submetido a 10 ciclagens na faixa de potencial de 0 a 1,4 V em tampão acetato pH 4,5, utilizando-se a técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD), na velocidade de varredura de  $0,01\text{V s}^{-1}$ . Após esse condicionamento, o eletrodo foi lavado com água milli-Q e secado à temperatura ambiente. Em seguida foram depositados 10  $\mu\text{L}$  do gel de dsDNA na superfície do eletrodo e secado com gás nitrogênio.

## 3.3 Preparo das soluções

### 3.3.1 Preparo da Solução de Metribuzin, Safrol, Nitrossafrol e Sulfentrazona (Solução Estoque)

Para o preparo da solução de metribuzin ( $M = 214,3 \text{ g mol}^{-1}$ )  $10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , foram pesados 21,4 mg do composto e solubilizado em 10,0 mL de etanol. Para safrol ( $M=162,18$ ) e nitrossafrol ( $M= 207,18$ ), solubilizou-se 0,4  $\mu\text{L}$  e 1,0  $\mu\text{L}$  em 25 mL de etanol ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. Para a sulfentrazona ( $M = 387,2$ )  $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , foram solubilizados 38,7 mg em 10,0 mL de etanol.

### 3.3.2 Preparo das Soluções Tampão

As soluções tampão foram preparadas misturando as duas soluções (1 e 2) com os respectivos volumes definidos (conforme **tabela 8**) e completando o volume para 100 mL com água Mili-Q com condutividade  $< 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$ . As soluções foram preparadas para avaliar o comportamento eletroquímico das substâncias em diversos valores de pH, eletrólises, curvas eletroanalíticas, estudo eletroquímico e estudos de interação com DNA.

Para evitar possível contaminação com microorganismos em estudos com DNA, a solução tampão foi preparada utilizando-se água Milli-Q fervida e toda a vidraria utilizada foi previamente lavadas com essa água.

**Tabela 8.** Soluções tampão para eletrólito suporte [adaptado de Perrin,D.D. & Dempsey,B., 1974].

SOLUÇÃO 1	C(molL <sup>-1</sup> )	SOLUÇÃO 2	C(molL <sup>-1</sup> )	pH	F. IÔNICA
KCl (25 mL)	0,20	HCl (42,5 mL)	0,20	0,60	0,135
KCl (6,5 mL)	0,20	HCl (6,5 mL)	0,20	1,10	0,063
KCl (25 mL)	0,20	HCl (6,5 mL)	0,20	2,00	0,063
NaOAc(3,7 mL)	0,20	HOAc(46,3 mL)	0,20	2,93	0,100
NaOAc(13,2 mL)	0,20	HOAc(36,8 mL)	0,20	4,00	0,100
NaOAc(7,2 mL)	0,1	HOAc(12,5 mL)	1,0	4,47	0,197
NaOAc(41,2 mL)	0,20	HOAc(8,8 mL)	0,20	5,10	0,100
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (6,15 mL)	0,2	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (43,85 mL)	0,2	5,90	0,125
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (30,5 mL)	0,2	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (19,5 mL)	0,2	6,82	0,222
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (47,35 mL)	0,2	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (2,65 mL)	0,2	7,80	0,289
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (10 mL)	0,1	NaHCO <sub>3</sub> (90 mL)	0,1	9,11	0,105
NaHCO <sub>3</sub> (50 mL)	0,05	NaOH(12,2 mL)	0,1	10,14	0,037
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (50 mL)	0,05	NaOH(3,3 mL)	0,1	10,91	0,368
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (50 mL)	0,05	NaOH(23 mL)	0,1	11,91	0,061

### 3.3.3 Preparo da solução ssDNA

Para promover a desnaturação da molécula dsDNA, pesou-se 3 mg do dsDNA e adicionou-se 1,0 mL de ácido clorídrico  $1 \text{ mol L}^{-1}$  à uma temperatura de  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  por 60 minutos, após a completa dissolução e, ao atingir a temperatura ambiente, adicionou-se 1,0 mL de solução  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de hidróxido de sódio para neutralização; em seguida completou-se o volume a 10,0 mL com solução tampão acetato pH 4,5 [DE MOURA, 2008; DE ABREU *et al.*,2008]. A desnaturação térmica do dsDNA tem por objetivo quebrar as ligações de hidrogênio sem quebrar as ligações covalentes da molécula, liberando, a fita simples ssDNA.

## 3.4 Estudos Eletroquímicos

### 3.4.1. Voltametria Cíclica

Os estudos de voltametria cíclica tiveram como objetivo a avaliação do sistema redox das substâncias em estudo, avaliar a reversibilidade da reação eletroquímica, ocorrência de processos adsorptivos na superfície do eletrodo e verificar a resposta eletroquímica em determinado meio. Os potenciais aplicados foram: -1,4 V a 1,2 V para o metribuzin, 0 a 1,4 V para o safrol, 0 a -1,4 V para o nitrossafrol e 0 a 1,4 V para a sulfentrazona, todos nas concentrações de  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Para o metribuzin utilizou-se solução tampão acetato pH 4,0 e para as demais substâncias, utilizou-se solução tampão fosfato pH 7,0.

### 3.4.2 Estudo do comportamento do potencial e corrente com o pH , para o MTZ, SAF, NSAF e STZ

Objetivou-se estudar o comportamento do potencial e da corrente em diversos valores de pH, para determinação do pKa e avaliar a sensibilidade da intensidade da corrente. Para tais estudos utilizou-se a técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD), com o uso de eletrodo de carbono vítreo, platina e  $\text{Ag/AgCl/Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ),



como eletrodo de trabalho, auxiliar e referência, respectivamente. Os potenciais aplicados foram: 0 a -1,4 V para o metribuzin, 0 a 1,4 V para o safrol, 0 a 1,4 V para o nitrossafrol e 0 a 1,4 V para a sulfentrazone; todos nas concentrações de  $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Os experimentos foram feitos em diferentes valores de pH: 0,5 a 10 para o MTZ; 1,2 a 12 para o SAF, NSAF e STZ.

### **3.4.3 Estudos de quantificação**

#### **3.4.3.1 Quantificação do metribuzin por “stripping” anódico em eletrodo carbono vítreo, pasta de carbono/óleo de mamona e pasta de carbono/nujol**

No estudo para determinar o tempo de acumulação do metribuzin utilizou-se a técnica de voltametria de onda quadrada, frequência de 50 Hz, amplitude de pulso 0,025 V,  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de metribuzin em tampão acetato/etanol (20%), pH<sub>ap</sub> 4,0. Varredura na faixa de potencial de 0 a 1,4 V aplicando um potencial de -1,0 V com tempo de acumulação de 0, 5, 10, 20, 30, 50 e 80 s. Para determinação do metribuzin foram adicionadas, sob agitação constante, alíquotas de metribuzin ( $c = 1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>) na célula eletroquímica contendo 10,0 mL de solução de tampão acetato, pH 4,0, em que se borbulhou nitrogênio por 10 minutos. As análises foram feitas por VOQ. Após a adição de cada alíquota, se fez a varredura na faixa de potencial de 0 a 1,4 V com tempo de acumulação de 30 segundos em potencial de -1,0 V.

#### **3.4.3.2 Quantificação da sulfentrazone em eletrodo de carbono vítreo e carbono vítreo/nanotubo de carbono**

Para quantificação da sulfentrazone foram adicionadas, sob agitação constante, alíquotas da STZ ( $c = 1 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>) na célula eletroquímica contendo 10,0 mL de solução tampão fosfato, pH 7,0. As análises foram feitas por VPD com tempo de equilíbrio 5 s, salto de potencial de 0,002 V, amplitude de 0,05 V. Após a adição de

cada alíquota fez-se a varredura na faixa de potencial de 0 a 1,4 V. Todos os estudos de quantificação foram em duplicata.

### **3.4.3.3 Quantificação do safrol em eletrodo carbono vítreo, carbono vítreo/nanotubo de carbono e carbono vítreo/nanotubo de carbono/ $\beta$ -ciclodextrina**

Para a determinação do safrol utilizaram-se eletrodo de CV, eletrodo modificado com nanotubo de carbono e nanotubo de carbono/ $\beta$ -ciclodextrina. Foram adicionadas várias alíquotas de safrol ( $2,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) na cela eletroquímica contendo 10,0 mL de solução de tampão fosfato, pH 7,0; as análises foram feitas por VPD, em duplicata e após a adição de cada alíquota na faixa de potencial de 0 a 1,4 V.

### **3.4.3.4 Quantificação do nitrossafrol em eletrodo carbono vítreo, carbono vítreo/nanotubo de carbono e carbono vítreo/nanotubo de carbono/ $\beta$ - ciclodextrina**

Para a determinação do nitrossafrol utilizando eletrodo de carbono vítreo, eletrodo modificado com nanotubo de carbono e nanotubo de carbono/ $\beta$ -ciclodextrina, foram adicionadas várias alíquotas de nitro safrol ( $2,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) na cela eletroquímica contendo 10,0 mL de solução de tampão fosfato pH 7,0 , borbulhou-se N<sub>2(g)</sub> por um período de 10 minutos para evitar redução catalítica do oxigênio. As análises foram em duplicata utilizando a técnica de VPD e após a adição de cada alíquota foi feita a varredura na faixa de potencial de 0 a -1,4 V.

## **3.4.4 Eletrólises**

### **3.4.4.1 Eletrólise do Metribuzin**

A eletrólise do MTZ ocorreu em célula Pyrex não dividida com capacidade de 100 mL, feltro de carbono (4,0 cm<sup>2</sup>) como eletrodo de trabalho, eletrodo de platina como auxiliar e eletrodo de referência, Ag/AgCl/Cl<sup>-</sup> (0,1 mol L<sup>-1</sup>). Prepararam-se 40 mL de um

meio misto, 20% v/v etanol/ tampão fosfato,  $\text{pH}_{\text{ap}}$  5,8, depois borbulhou-se  $\text{N}_2(\text{g})$  por um período de 10 min. Foi feita uma pré eletrólise aplicando um potencial  $E_{\text{app.}}$  -0,85 V. Em seguida adicionaram-se 20 mg,  $2,33 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de metribuzin, sob agitação constante e borbulhou-se gás nitrogênio continuamente. A corrente inicial não pode ser medida em razão da proximidade da descarga do eletrólito suporte. A reação foi monitorada por voltametria cíclica, usando eletrodo de carbono vítreo. Após a eletrólise a solução foi extraída com éter (5mL) por três vezes, em seguida adicionou-se sulfato de sódio anidro como agente dessecante, que foi filtrada posteriormente e evaporado para concentração da solução eletrolisada.

#### 3.4.4.2 Eletrólise da Sulfentrazona

A eletrólise da STZ ocorreu em célula Pyrex não dividida com capacidade de 100 mL, feltro de carbono ( $4,0 \text{ cm}^2$ ) como eletrodo de trabalho, eletrodo de platina como auxiliar e eletrodo de referência,  $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Prepararam-se 40 mL de uma solução tampão fosfato, pH 7,0, em que, foi feita uma pré eletrólise, aplicando-se um potencial  $E_{\text{ap.}}$  +0,85 V. Em seguida adicionaram-se 20 mg,  $1,29 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  da STZ, sob agitação constante. A reação foi monitorada por voltametria cíclica, usando eletrodo de carbono vítreo até a corrente atingir valores residuais. Após a eletrólise a solução foi extraída com clorofórmio (5 mL) por três vezes, em seguida adicionou-se sulfato de sódio anidro como agente dessecante, que foi filtrada posteriormente e evaporado para concentração do material eletrolisado.

A carga residual foi calculada, multiplicando o tempo de eletrólise pela corrente residual atingida, conforme a equação abaixo.

$$Q_{\text{res}} = I_{\text{res}} \times t \quad \text{Eq.10}$$

A carga residual foi subtraída da carga total e resultou na carga líquida relativa à oxidação do substrato. Com estes dados o número de elétrons envolvidos no processo foi calculado, de acordo com a equação abaixo.

$$n = Q_{liq} \times M / m \times F \quad \text{Eq.11}$$

onde  $n$  é o número de elétrons,  $Q_{liq}$  a carga líquida,  $M$  a massa molar do substrato ( $\text{g mol}^{-1}$ ),  $m$  massa do substrato (g) e  $F$  a constante de Faraday ( $96.485 \text{ C mol}^{-1}$ ).

### 3.4.5 Estudo da degradação de substratos por processo eletro-fenton

#### 3.4.5.1 Metribuzin

A solução de MTZ foi preparada em uma concentração de  $4,66 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , separando-se uma alíquota de 10,0 mL para amostra controle, adicionou-se  $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de sal de Mohr, borbulhou-se oxigênio por cinco minutos antes do início da eletrólise para saturar a solução. A eletrólise foi conduzida em um potenciostato, em corrente controlada de 50 mA, sob agitação constante e contínua, pH inicial 2,8, pela adição de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , e monitorado para que o mesmo não ultrapassasse pH 3. O experimento foi executado em célula não dividida com três eletrodos: feltro de carbono ( $4,0 \text{ cm}^2$ ) como eletrodo de trabalho, eletrodo de platina como auxiliar e eletrodo de referência Ag/AgCl/ $\text{Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ).

#### 3.4.5.2 Sulfentrazona

Para um melhor resultado da eletrólise com a sulfentrazona, otimizou-se a quantidade de sal de Mohr. Foram feitas duas eletrólises nas mesmas condições com concentrações de  $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de sal de Mohr. A solução da STZ foi preparada em uma concentração de  $2,58 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , separando-se 10,0 mL para amostra controle; em seguida adicionou-se a substância catalítica e borbulhou-se oxigênio por cinco minutos, antes do início da eletrólise, para saturar a solução. A eletrólise foi conduzida com o auxílio de um potenciostato, em potencial controlado de -0,6 V, sob agitação constante e contínua, pH inicial 2,8 pela adição de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e monitorado para que não ultrapassasse pH 3,0; célula não dividida em sistema de

três eletrodos: feltro de carbono ( $4,0 \text{ cm}^2$ ) como eletrodo de trabalho, eletrodo de platina como auxiliar e eletrodo de referência  $\text{Ag/AgCl/Cl}^-$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ).

### **3.4.6 Estudos de interação com DNA**

#### **3.4.6.1 Estudo da interação de Metribuzin, Safrol, Nitrossafrol e Sulfentrazona com ssDNA**

Após limpeza do eletrodo de carbono vítreo, o mesmo foi submetido a 10 ciclagens na faixa de potencial de 0 a 1,4 V em tampão acetato pH 4,5. Em seguida, o eletrodo foi introduzido na cela eletroquímica contendo 5,0 mL de solução ssDNA, procedendo à varredura na região anódica, com o objetivo de caracterizar a oxidação das bases guanina e adenina. Foram adicionadas alíquotas da solução mãe ( $c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) das substâncias em estudo, sob agitação por 1 minuto e feita a varredura na respectiva faixa de potencial. Para verificar a reprodutibilidade do experimento, a cada adição do analito, o eletrodo foi polido e efetuado a varredura por três vezes.

#### **3.4.6.2 Estudo da interação de Metribuzin, Safrol, Nitrossafrol e Sulfentrazona com dsDNA**

Após preparo do biossensor, conforme o item 3.2.6, o mesmo foi introduzido na célula eletroquímica contendo 10,0 mL de solução tampão acetato, pH 4,5, com o objetivo de caracterizar o biossensor. Em seguida, o mesmo foi incorporado ao sistema eletroquímico contendo a solução em estudo [metribuzin ( $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), Safrol ( $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), Nitrossafrol ( $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) e Sulfentrazona ( $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ )] por um tempo de contato 5, 30, 60 min e 24 horas. Depois de cada período de contato, foi feita uma única varredura na região anódica, entre 0 a 1,4 V, utilizando voltametria de pulso diferencial na velocidade de varredura de  $0,010 \text{ V s}^{-1}$ .

### 3.5 Análise de CG-EM

Os produtos resultantes (fase orgânica) da coulometria de metribuzin e sulfentrazona foram analisados usando cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massas (CG-EM) utilizando equipamento Shimadzu GC QP5050A. As condições operacionais foram: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ), com fase estacionária Zebon ZB-5MS (0.25  $\mu\text{m}$  de espessura de filme) utilizando hélio (He) como gás de arraste. Para o MTZ com fluxo de 1,8 mL/min, temperatura inicial de 160°, com velocidade de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> a 210 °C (5 min), foi injetado um volume de 1,0  $\mu\text{L}$  da amostra em acetato de etila. Para o STZ com fluxo de 0,9 mL/min, temperatura inicial de 70°, com velocidade de aquecimento de 7 °C min<sup>-1</sup> a 250°C, foi injetado um volume de 1,0  $\mu\text{L}$  da amostra em clorofórmio. Os parâmetros do EM foram detector de captura iônica operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos/s e fragmentos detectados de 40 a 500 Da.

### 3.6 Estudo da interação do Safrol e Nitrossafrol com $\beta$ -Ciclodextrina

Para determinar o tempo de equilíbrio da interação de SAF e NSAF com a  $\beta$ -CD, foram preparadas soluções a  $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de safrol e nitrossafrol. Foram adicionados 2,28 mg de  $\beta$ -CD para respeitar a proporção de 1:1 entre as substâncias. Foi feita a medida da absorbância das soluções controle (sem adição da  $\beta$ -Ciclodextrina), em seguida as amostras foram levadas à incubadora com rotação e temperatura constantes de 170 rpm e 25°C, respectivamente. As medidas da absorbância foram obtidas, nos respectivos comprimentos de onda, nos intervalos de 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos. Para os estudos cinéticos dos substratos SAF e NSAF com a  $\beta$ -CD, a variação da absorvência foi calculada conforme a equação abaixo.

$$\eta = A_c - A_{s/\beta\text{-CD}} / A_c \times 100\% \quad \text{Eq. 12} \quad \text{onde,}$$

$\eta$  = variação da absorbância relativa

$A_c$  = absorbância da amostra controle

$A_{S/\beta\text{-CD}}$  = absorbância da amostra substrato/ $\beta$ -CD

Para avaliação da interação de SAF e NSAF com a  $\beta$ -CD, foram preparadas soluções controle de ambas as substâncias com concentração de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em meio aquoso e outras na mesma concentração em contato com a  $\beta$ -CD, nas concentrações de  $2,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $15 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Em seguida, as amostras foram levadas a uma incubadora, sob rotação de 170 rpm e temperatura de  $26^\circ \text{C}$  por um período de duas horas. A avaliação da interação foi feita pela técnica de espectroscopia de absorção molecular no UV. A faixa de comprimento de onda analisada foi de 234 e 286 nm para o SAF, e 286 nm e 352 nm para o NSAF. Todos os experimentos foram feitos em duplicata.

### 3.7 Análise de teor de carbono orgânico total

Para verificar a degradação do MTZ e STZ, foram retiradas alíquotas de 10,0 mL da solução eletródica, em intervalos de 5, 10, 15, 30, 60, 90 e 120 min, diluídas 1:1, e imediatamente analisadas sem filtração. O composto existente foi oxidado a  $\text{CO}_2$  por persulfato de sódio e irradiação UV, e posteriormente quantificado pelo detector de IV. Os compostos inorgânicos foram acidificados pelo ácido fosfórico e eliminados na forma de  $\text{H}_2\text{CO}_3$ . O equipamento foi calibrado com soluções padrão de biftalato de sódio. A diferença entre CT (carbono total) e CI (carbono inorgânico) fornece o valor de COT (carbono orgânico total) da amostra. A análise de carbono orgânico total foi utilizada para verificar o grau de degradação de MTZ e STZ por processo eletro-Fenton.

### 3.8 Análise da citotoxicidade da STZ e produtos da eletrólise

Para realização dos testes de citotoxicidade uma garrafa de cultura com monocamada celular confluenta foi tripsinizada com solução de Tripsina –EDTA (0,05% e 0,02%) aquecida a  $37^\circ\text{C}$ . Após tripsinização as células foram contadas em um

hemocitômetro (câmara de Neubauer) e a suspensão celular foi ajustada para a concentração celular de  $2 \times 10^5$  células por mL de MEM com 10% de SFB. A seguir, 100  $\mu\text{L}$  da suspensão celular foram depositados em cada poço de uma microplaca de 96 poços. Após vinte e quatro horas de incubação em estufa a  $37^\circ\text{C}$ , com 5% de  $\text{CO}_2$ , tendo ocorrido confluência celular, o meio foi substituído por 200  $\mu\text{L}$  meio novo puro (controle) ou contendo as substâncias estudadas na concentração de  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ . As microplacas foram incubadas em estufa a  $37^\circ\text{C}$ , com 5% de  $\text{CO}_2$  por 48 horas. Após este período o meio foi descartado e as monocamadas foram tripsinizadas com solução de tripsina-EDTA (0,05% e 0,02%) a  $37^\circ\text{C}$ , e incubadas por 5 minutos em estufa a  $37^\circ\text{C}$ , com 5% de  $\text{CO}_2$ . Após verificado o arredondamento das células ao microscópio (indicativo de que uma célula se dissociou da outra) a tripsina foi inativada com MEM + 10% de SFB e adicionou-se solução de Azul de Tripán a 0,4%, na proporção de 1:1.

O teste de exclusão do azul de tripan é baseado no princípio de que células vivas apresentam membranas intactas, que evitam a entrada do corante, enquanto que as membranas metabolicamente inativas de células mortas não conseguem evitar a penetração do corante na célula, tornando-se azuis (**MASTERS, 2000; FRESHNEY, 2005**).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização de Metribuzin e Sulfentrazone

#### 4.1.1 Metribuzin

O produto comercial SENCOR 480, cujo princípio ativo é o metribuzin, foi purificado conforme descrito na parte experimental. Para verificar seu grau de pureza, procederam-se análises de RMN  $^{13}\text{C}$ , RMN  $^1\text{H}$ , em CCD e ponto de fusão. A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  revelou um total de 06 (seis) sinais de átomos de carbonos (**Fig.16**), mostrando um espectro limpo e com sinais bem definidos. A **tabela 9** nos mostra os sinais atribuídos ao MTZ e comparados com o 1,6-diidrometribuzin, em que se ressalta o carbono carbonílico ( $\text{C}_5$ ) em  $\delta$  161,16 que se encontra mais protegido em



função da insaturação na posição 1,6. Adicionalmente, observou-se a presença de um sinal para carbono  $sp^2$  em  $\delta$  160,73 (C) e a ausência do sinal em  $\delta$  65,35 referente ao carbono monohidrogenado do 1,6 diidrometribuzin.

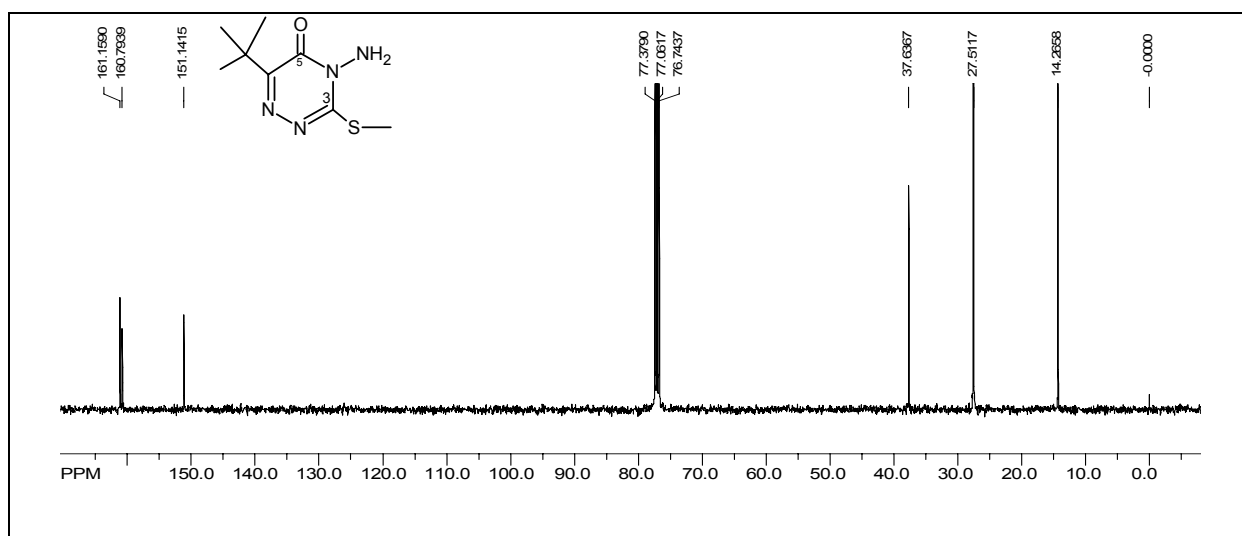


Figura 16. Espectro de RMN  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ ) do MTZ

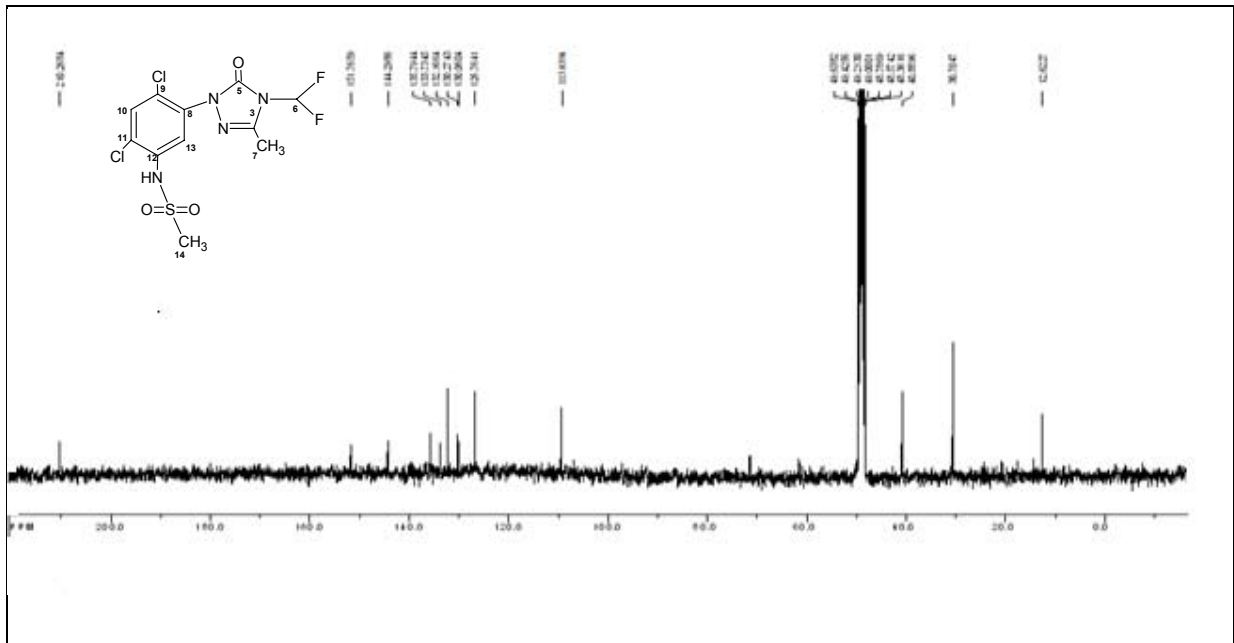
**Tabela 9.** Estudos comparativos de deslocamentos químicos para RMN  $^{13}C$  de Metribuzin e 1,6 -Diidrometribuzin [LUDVIK *et al.*, 1998].

	$(\underline{C}H_3)_3C$	$(\underline{C}H_3S)$	$(CH_3)_3\underline{C}$	CH	(C)	(C <sub>3</sub> )	(C <sub>5</sub> )
 MTZ	14,26	27,51	37,64	—	160,73	151,14	161,16
 1,6-DIIDRO METRIBUZIN	13,40	28,84	35,01	65,35	—	142,27	164,97

O ponto de fusão foi registrado, na faixa de 112°C a 113°C estando em acordo com a literatura. Os dados de RMN  $^{13}\text{C}$ , o ponto de fusão e a análise em CCD, comparado ao metribuzin padrão, confirmaram a pureza da substância. A interpretação mecanística dos principais picos observados no espectro de massas (**Fig.64, p.82**) permitiu confirmar que o material purificado tratava-se do MTZ.

#### 4.1.2 Sulfentrazona

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  desacoplado permitiu reconhecer um total de 11 (onze) sinais de átomos de carbono (**Fig.17**). Dentre esses ressaltam se valores de deslocamentos químicos para o carbono carbonílico [ $\delta$  151,76 ( $\text{C}_5$ )], o metílico [ $\delta$  12,62 ( $\text{C}_7$ )] ligado ao carbono  $\text{sp}^2$  e outro com deslocamento químico em [ $\delta$  40,28 ( $\text{C}_{14}$ )] muito desprotegido em razão do mesmo se ligar ao grupo sulfona.



**Figura 17.** Espectro de RMN $^{13}\text{C}$  (100 MHz, MeOD) da STZ

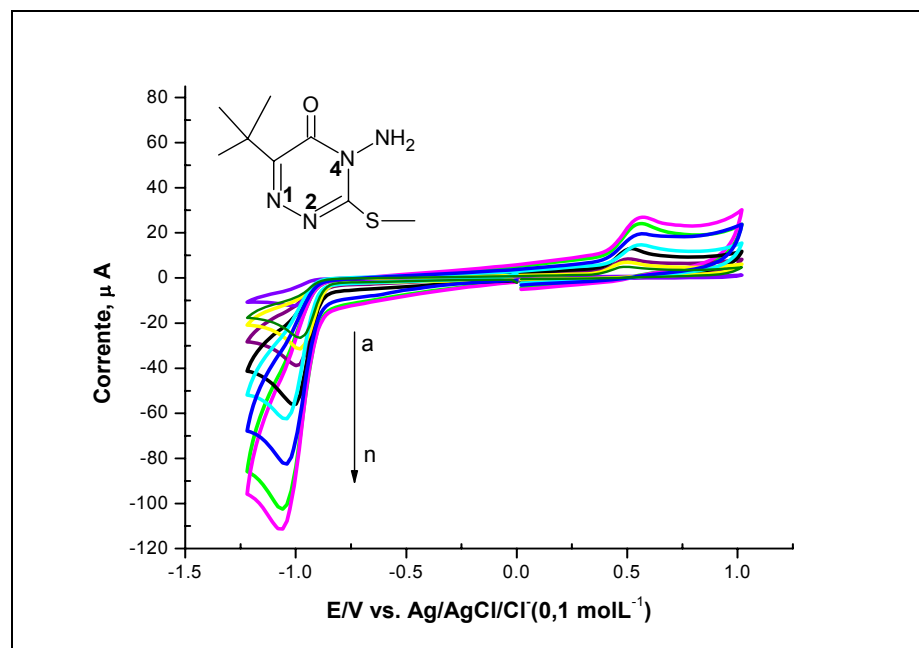
O ponto de fusão foi registrado na faixa de 120°C a 122°C estando em acordo com a literatura [USEPA, 1997].

Os dados de RMN<sup>13</sup>C, o ponto de fusão e a análise por CCD, comparados com a sulfentrazona padrão confirmaram a pureza da substância. A interpretação mecanística dos principais picos observados no espectro de massas (**Fig.70, p.86**) confirmou que o material purificado tratava-se da STZ.

## 4.2 Estudos Eletroquímicos de Metribuzin, Sulfentrazona, Safrol e Nitrossafrol

### 4.2.1 Voltametria cíclica do metribuzin

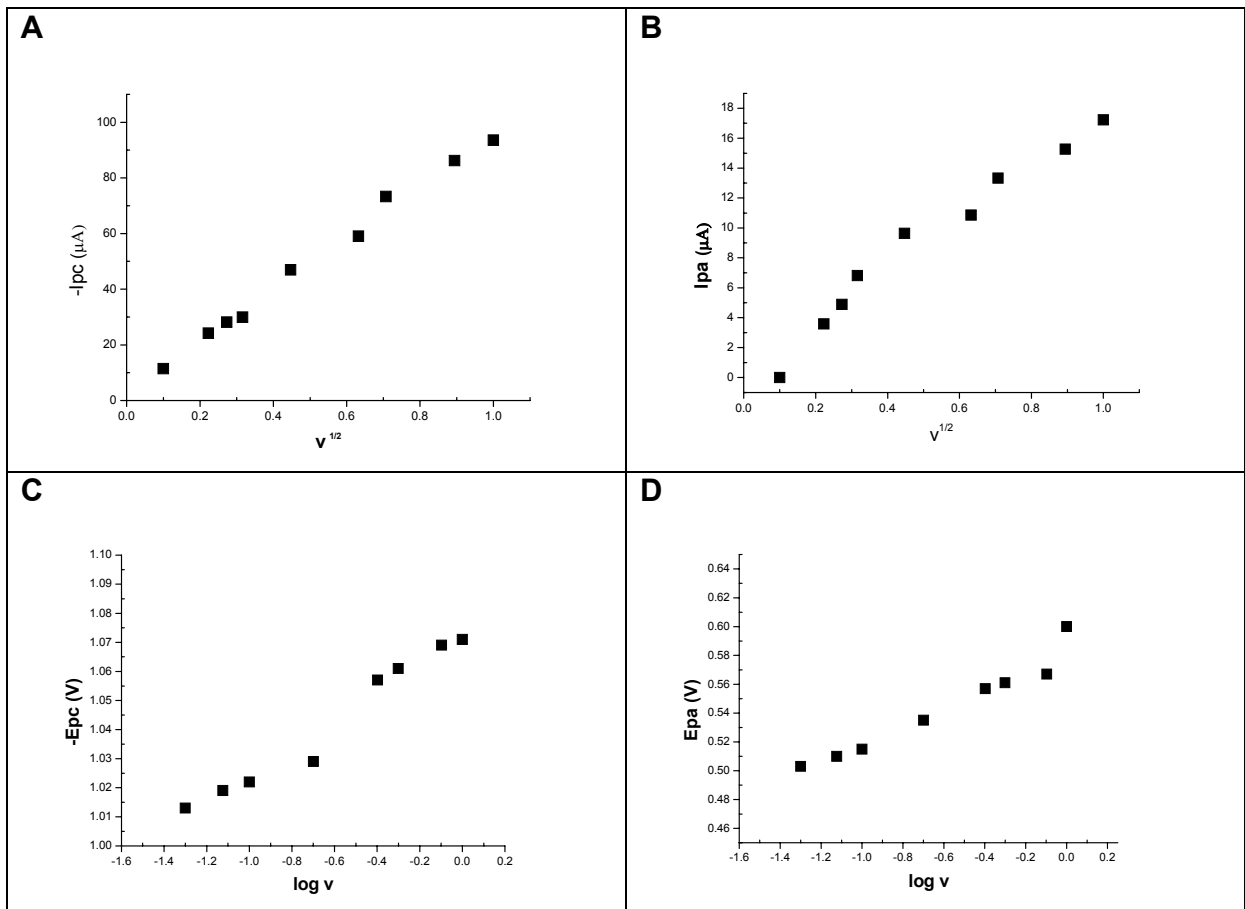
O estudo da velocidade de varredura do metribuzin foi feito em tampão acetato 0,2 mol L<sup>-1</sup> em pH 4,0 em eletrodo de carbono vítreo. O voltamograma cíclico mostrou uma onda catódica irreversível em  $E_{pc} = -1,0$  V em 0,100 V s<sup>-1</sup> (**Fig. 18**), que se desloca a potenciais mais negativos com o aumento da velocidade. O potencial de pico ( $E_p$ ) e a corrente de pico ( $I_p$ ) variaram linearmente com  $\log v$  e  $v^{1/2}$ , conforme a **tabela 10**, indicando natureza irreversível e controlada por processo difusional (**Fig. 19**). O pico catódico foi atribuído à redução da ligação azometino na posição 1-6 (**Fig.20**)[SKOPALOVÁ *et al.*, 2001].



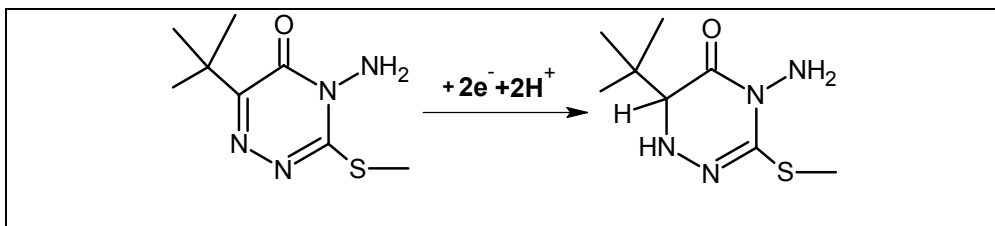
**Figura 18.** Voltamograma Cíclico de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de MTZ em tampão acetato pH<sub>ap</sub> 4,0 nas velocidades de (a) 0,010, (b) 0,350, (c) 0,500, (d) 0,750, (e) 0,100, (f) 0,200, (g) 0,300, (h) 0,400, (i) 0,500, (j) 0,600, (k) 0,700, (l) 0,800, (m) 0,900 e (n) 1 V s<sup>-1</sup>.

**Tabela 10.** Parâmetros eletroquímicos para estudo da influência da velocidade de varredura na redução / oxidação do MTZ em tampão acetato pH 4,0.

$v(\text{Vs}^{-1})$	$v^{1/2}$	Log v	-I <sub>pc</sub> ( $\mu\text{A}$ )	I <sub>pa</sub> ( $\mu\text{A}$ )	E <sub>pc</sub>	E <sub>pa</sub>
0,010	0,1	-2	11,40	0	1,011	0,5
0,050	0,223	-1,30	24,2	3,58	1,013	0,503
0,075	0,273	-1,124	28,13	4,88	1,019	0,51
0,100	0,316	-1	29,9	6,81	1,022	0,515
0,200	0,447	-0,699	46,93	9,64	1,029	0,535
0,400	0,632	-0,398	59,04	10,86	1,057	0,557
0,500	0,707	-0,301	73,33	13,33	1,061	0,561
0,800	0,894	-0,097	86,18	15,27	1,069	0,567
1,00	1	0	93,54	17,23	1,071	0,6



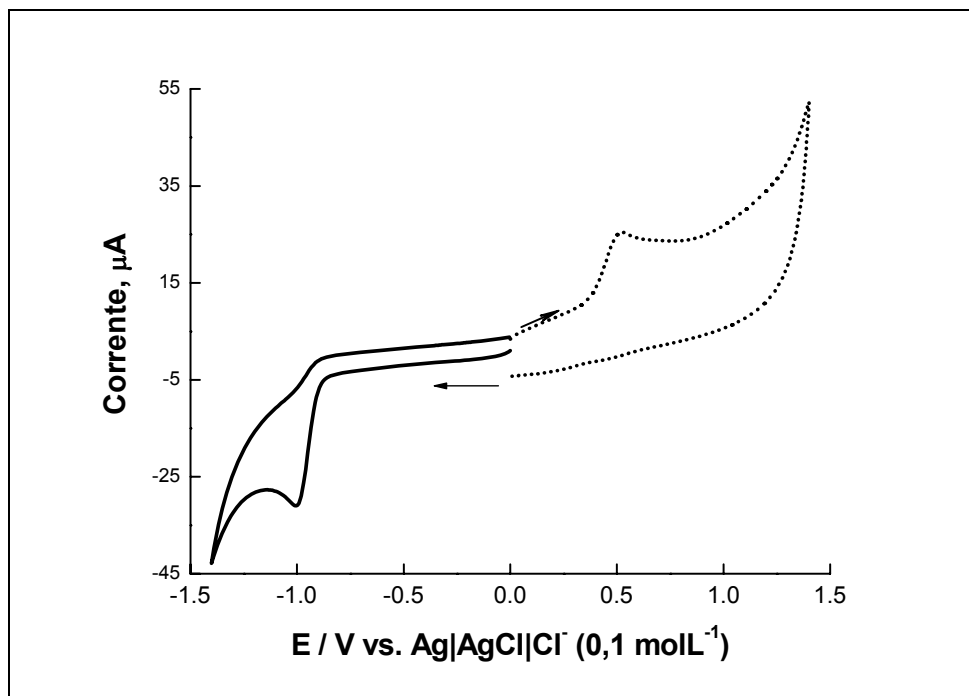
**Figura 19.** Gráficos do MTZ ( $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão acetato  $\text{pH}_{\text{ap}} 4,0$  em eletrodo de CV. (A):  $-I_{pc}$  vs.  $v^{1/2}$ ; (B):  $I_{pa}$  vs.  $v^{1/2}$ ; (C):  $-E_{pc}$  vs  $\log v$ ; (D):  $E_{pa}$  vs.  $\log v$ .



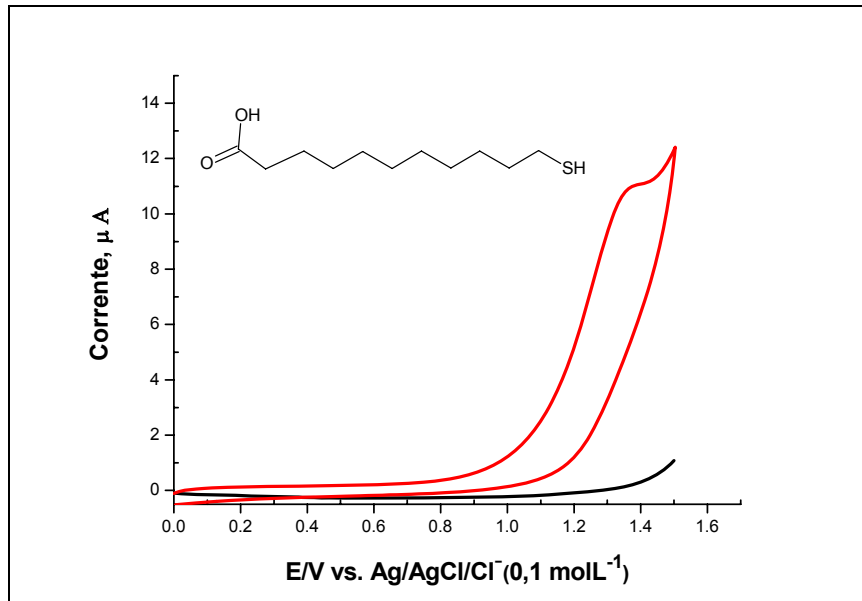
**Figura 20.** Representação da eletrorredução do MTZ [adaptado SKOPALOVÁ et al., 2001]

O pico anódico foi observado depois da eletrorredução do metribuzin (**Fig. 21**) que se associa à oxidação do metil tiol gerado no processo eletrolítico, semelhante ao

comportamento eletroquímico da prometrina em eletrodo de mercúrio [SKOPALOVÁ *et al.*, 1998<sup>b</sup>]. Essa onda foi usada para estudos quantitativos do metribuzin em eletrodo de carbono vítreo, eletrodo de pasta de carbono/nujol e pasta de carbono/óleo de mamona. Para ratificar a proposta de oxidação do metil tiol gerado na eletrorredução do metribuzin, utilizou-se a MUA (ácido 11- mercaptoundecanóico) nas mesmas condições experimentais, que revelou também um sinal de oxidação (Fig. 22), porém, em potencial mais anódico em função de o grupo eletro ativo estar em ambiente químico diferente daquele no metribuzin.



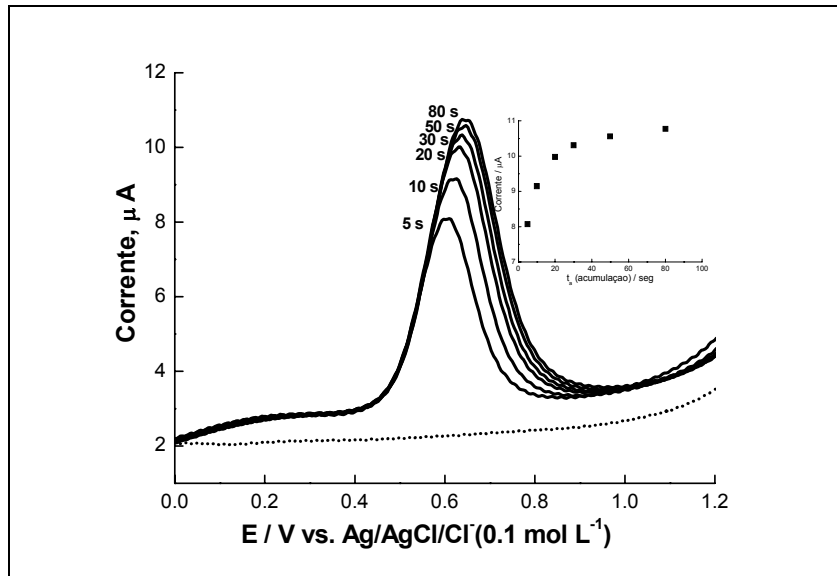
**Figura 21.** Voltametria de redissolução anódica do MTZ ,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , em tampão acetato  $\text{pH}_{\text{AP}} 4,0$  na velocidade de  $0,10 \text{ V s}^{-1}$ . Onda anódica:  $E_{\text{ap}} = -1,0 \text{ V}$ ,  $t_{\text{a}} = 30 \text{ s}$ .



**Figura 22.** Voltamograma Cíclico de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  do ácido 11- mercaptoundecanóico (MUA), em tampão acetato pH 4,0 na velocidade de  $0,100 \text{ V s}^{-1}$ .

#### 4.2.1.2 Determinação do tempo de acumulação

Como já observado nos experimentos de voltametria cíclica, o pico de oxidação só é observado quando o metribuzin é reduzido, nas condições estudadas. Portanto, para estudos de quantificação e outros, houve a necessidade de otimizar o tempo de acumulação do metribuzin na região catódica para obter melhor resposta. Como se pode observar na **Fig.23**, acima de 30 s inicia-se a saturação do sinal, definido como tempo de acumulação.



**Figura 23.** VOQ do metribuzin,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , obtido sem (.....) e com tempo de acumulação (\_\_\_) de 5 a 80 s em  $-1,4 \text{ V}$ , tempo de equilíbrio 5 s.,  $f = 50 \text{ Hz}$ . Eletrólito suporte: tampão acetato pH 4,0. Eletrodo de carbono vítreo.

É grande a relevância em estudar a influência do pH em sistemas eletroquímicos, por se avaliar a sensibilidade da substância em função da corrente, ser possível determinar o  $pK_a$  e propor um mecanismo eletroquímico [DE PAULA, 2006].

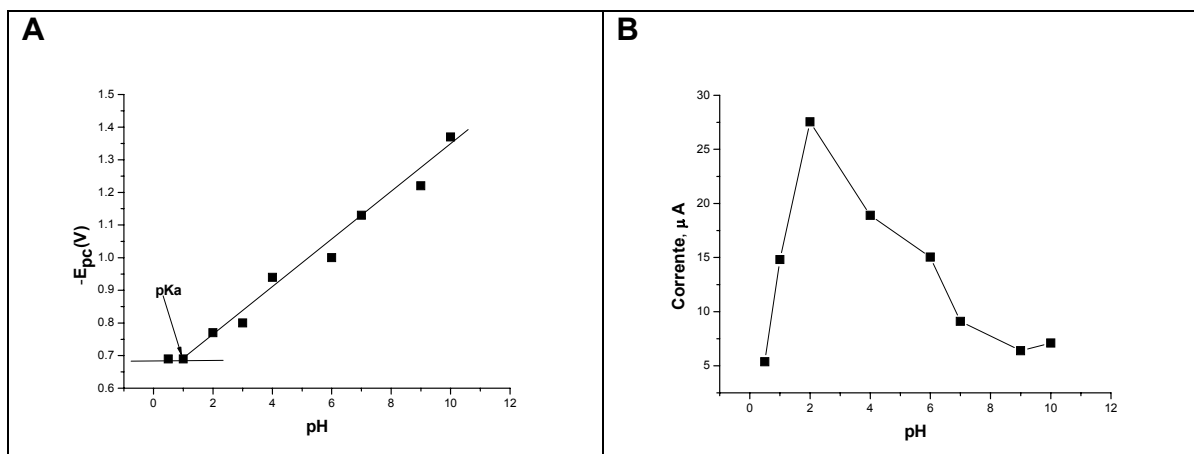
O estudo do  $pK_a$  de agroquímicos é um parâmetro que ajuda na compreensão de fatores como a solubilidade em determinado meio e potencial de adsorção em determinado solo, servindo assim como suporte de avaliação para riscos ambientais.

O Estudo do comportamento eletroquímico do MTZ foi feito na faixa de pH entre 0,6 e 10, utilizando a técnica de VPD em soluções tampão conforme a **tabela 8**. O gráfico  $E_p$  vs pH (**Fig. 24A**) revelou linearidade para potenciais mais negativos, com o aumento do pH com variação de 66 mV/unidade de pH revelando  $pK_a$  igual a 1, mesmo valor obtido por métodos espectrofotométricos [ALBRO *et al.*, 1984<sup>a</sup>]. O esquema da protonação do MTZ está representado na **Fig. 26**.

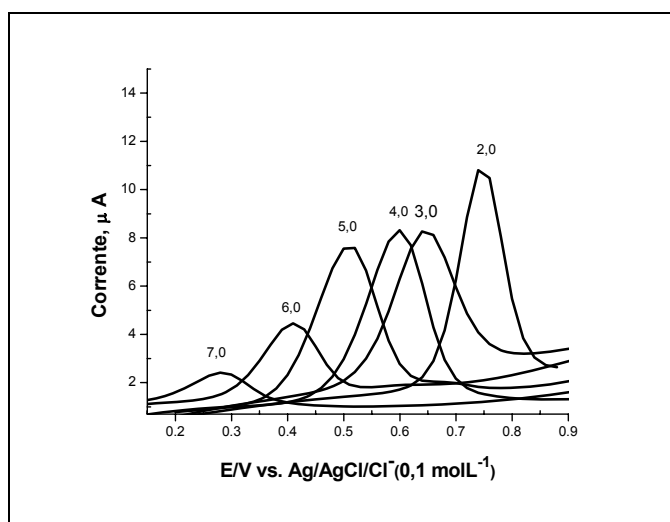
Quanto ao estudo da resposta da corrente, observa-se que entre pH 2 e 4 o MTZ mostrou-se mais sensível (**Fig. 24B**). A espécie eletrooxidada também propiciou melhor resposta em pH 2 (**Fig. 25**), a despeito de encontrar-se próximo à descarga do eletrólito



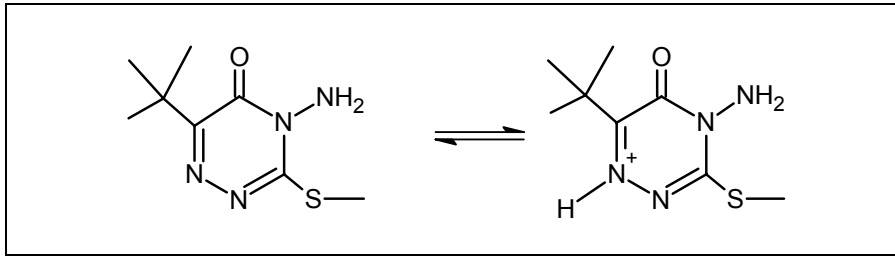
suporte e em condições extremas de trabalho o pH 4 foi definido o melhor meio para estudos do MTZ.



**Figura 24.** (A)  $E_p$  vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletro redução do MTZ. Obtenção do pKa (B)  $I_p$  vs pH.  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .



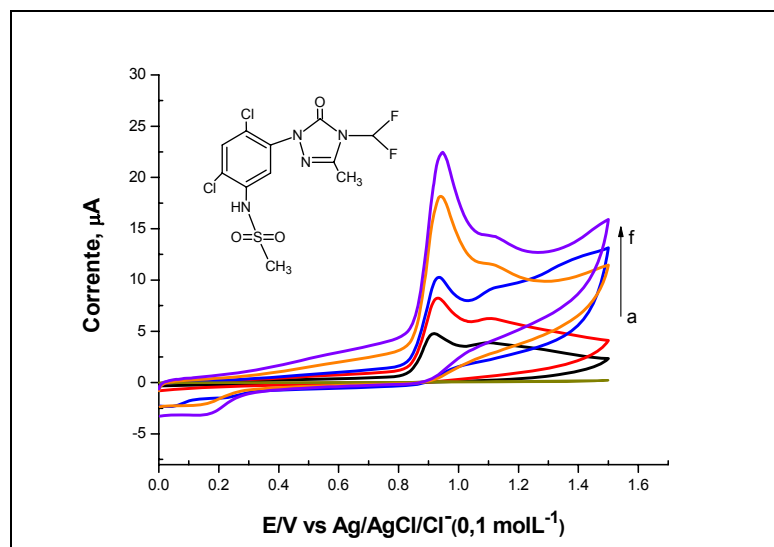
**Figura 25.** VPD da eletrooxidação do MTZ após eletrorredução em diferentes valores de pH.  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 26.** Representação da protonação do MTZ,  $pK_a = 1$  [adaptado, LUDVIK et al., 1998].

#### 4.2.2 Voltametria Cíclica da Sulfentrazona

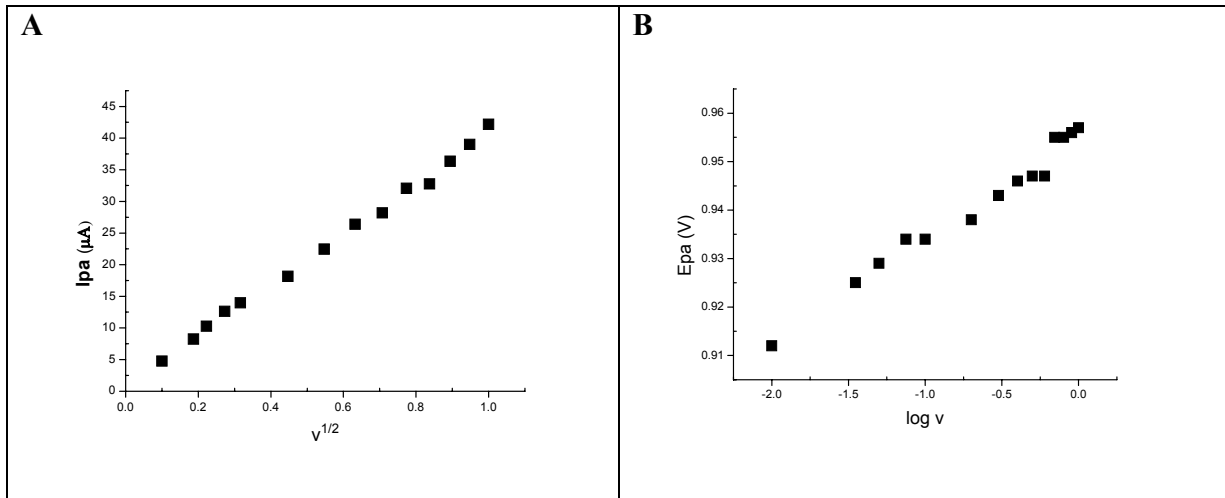
O voltamograma cíclico da STZ revelou uma onda anódica irreversível em  $E_{pc} = +0,93$  V em  $0,100$   $Vs^{-1}$  (**Fig. 27**), que se desloca para potenciais mais positivos com o aumento da velocidade. Conforme **Fig. 28** (gráficos **A** e **B**) o potencial de pico ( $E_p$ ) e a corrente de pico ( $I_p$ ) variou linearmente com  $\log v$  e  $v^{1/2}$  conforme a **tabela 11**, indicando natureza irreversível e controlada por processo difusional. O pico anódico foi atribuído à oxidação da ligação azometina na posição 2-3, em que o nitrogênio tem maior densidade eletrônica de acordo com **GREY et al (2000)**. Uma segunda onda pequena e mal definida foi observada, mas, não foi objeto de estudo.



**figura 27.** Voltamograma Cíclico de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$  de STZ em tampão fosfato pH 7,0 nas velocidades de (a) 0,010, (b) 0,035, (c) 0,050, (d) 0,100, (e) 0,200, (f) 0,300  $V s^{-1}$ .

**Tabela 11.** Parâmetros eletroquímicos para estudo da influência da velocidade de varredura da STZ.

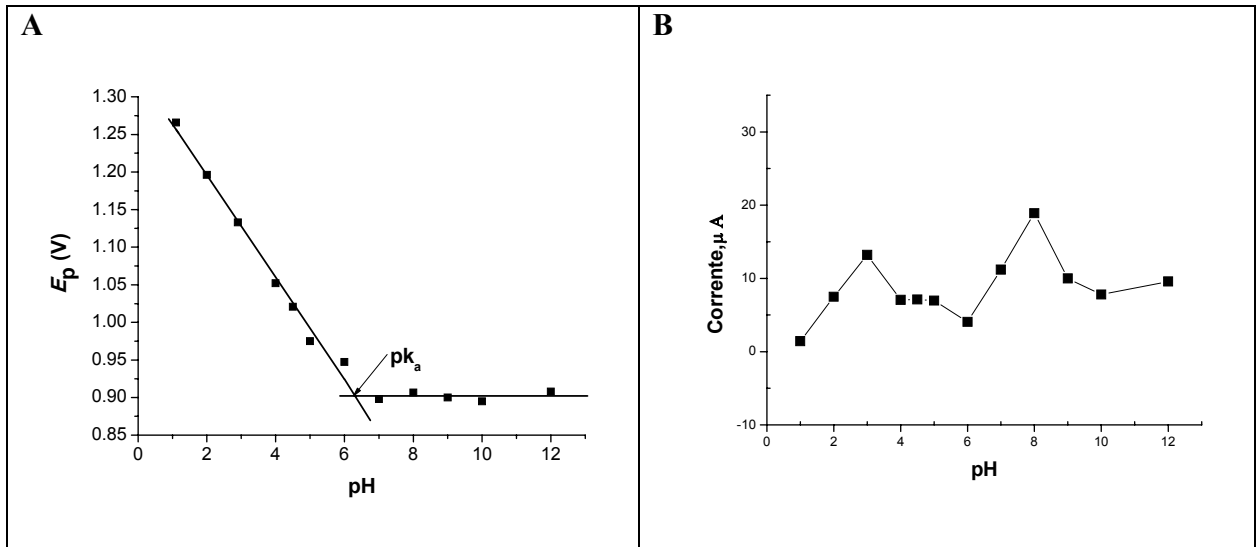
$v$ ( $Vs^{-1}$ )	$v^{1/2}$	Log $v$	$I_{pa}(\mu A)$	$E_{pa}$
0,010	0,1	-2	4,78	0,912
0,035	0,187	-1,455	8,24	0,925
0,050	0,223	-1,301	10,27	0,929
0,075	0,273	-1,125	12,62	0,934
0,100	0,316	-1,00	13,97	0,934
0,200	0,447	-0,699	18,16	0,938
0,300	0,547	-0,522	22,45	0,943
0,400	0,632	-0,398	26,39	0,946
0,500	0,707	-0,301	28,18	0,947
0,600	0,774	-0,221	32,07	0,947
0,700	0,837	-0,155	32,75	0,955
0,800	0,894	-0,097	36,33	0,955
0,900	0,948	-0,046	39,01	0,956
1,00	1,00	0	42,19	0,957



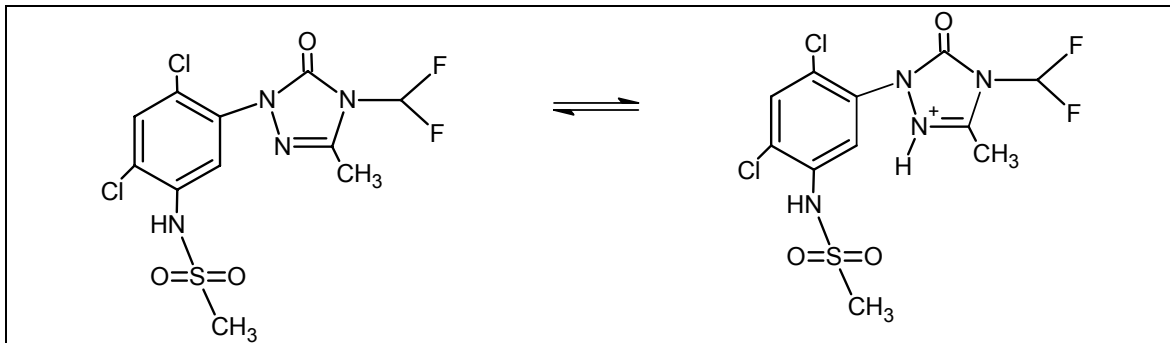
**Figura 28.** Gráficos da STZ de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão acetato pH 7,0, em eletrodo de carbono vítreo. (A):  $I_{pc}$  vs.  $v^{1/2}$  e (B):  $E_{pa}$  vs.  $\log v$ .

#### 4.2.2.2 Estudo do comportamento eletroquímico, variação do potencial e da corrente com o pH da STZ

Para estudo da variação do potencial da STZ em vários valores de pH (**Fig 29A**), utilizou-se a técnica de VPD, que mostrou queda de potencial linear com o aumento do pH com incremento de 67mV/unidade de pH. Este valor é típico para sistemas que envolvem igual número de prótons e elétrons, e está representado pela equação  $E(V) = 1,33 - 6,7 \times 10^{-2} \text{ pH}$  ( $r = 0,98563$ ), ratificando que o aumento do pH facilita a oxidação da STZ. A partir de pH 7,0 o estudo eletroquímico manteve-se independente do pH. O ponto de inflexão entre as duas retas revelou um  $pK_a$  em 6,26, muito próximo ao da literatura ( $pK_a=6,56$ ) [**POLUBESOVA et al., 2003**]. O gráfico  $I_p$  vs pH (**Fig. 29B**) mostrou que a STZ possui melhor sensibilidade em pH 3 e 8, contudo, escolheu-se o pH 7 para estudo, por estar mais próximo as condições das fontes naturais. O STZ é um ácido fraco e o equilíbrio ácido-base está relacionado ao N-2 do anel triazolona, funcionalizado com o par imina/imínio (**Fig.30**).



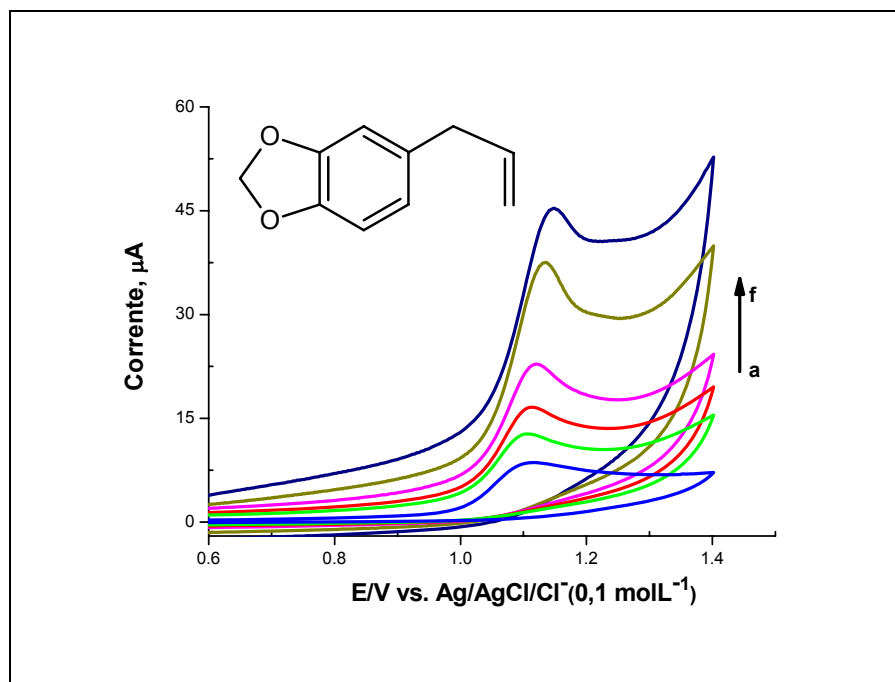
**Figura 29.** (A)  $E_p$  vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletrooxidação da STZ. Obtenção do  $pK_a$  (B):  $I_p$  vs pH.  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .



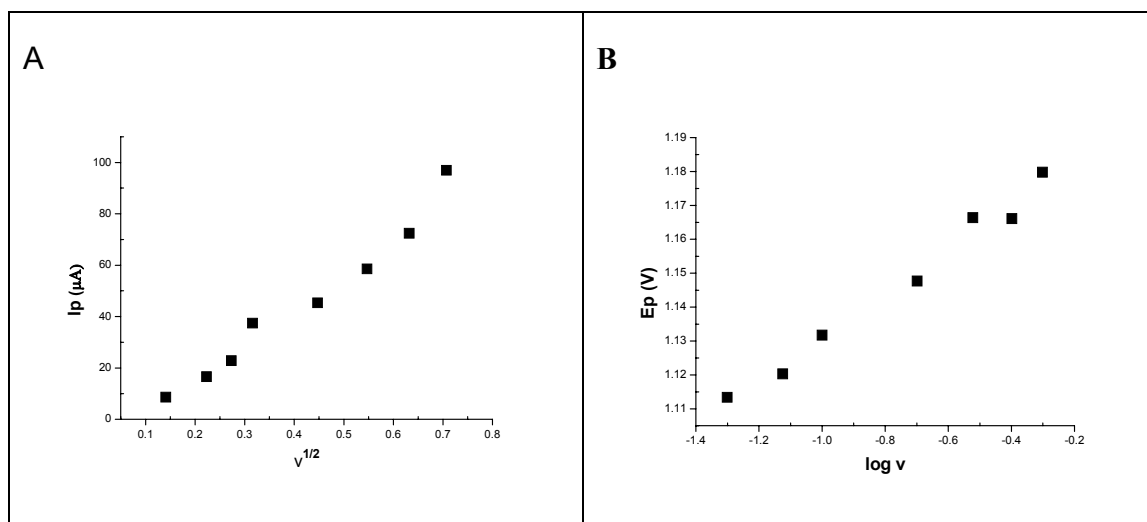
**Figura 30.** Esquema da protonação do STZ,  $pK_a = 6,26$  [adaptado, GREY *et al.*, 2000].

#### 4.2.3 Voltametria Cíclica do Safrol

O voltamograma cíclico do safrol revelou uma onda anódica em  $E_{pc} = +1,13 \text{ V}$  em  $0,100 \text{ V s}^{-1}$  (**Fig. 31**). O gráfico  $I_p$  vs  $v^{1/2}$  (**Fig. 32A**) revelou linearidade entre os parâmetros, indicando que o transporte das espécies foi controlado por processo difusional e o potencial  $E_p$  também variou linearmente com o  $\log v$ , conforme a **tabela 12**, mostrando irreversibilidade do processo (**Fig. 32B**).



**Figura 31.** Voltamograma cíclico do Safrol,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão fosfato, pH 7,0 nas velocidades de (a)0,020, (b)0,035, (c)0,050, (d)0,075, (e)0,100, (f)0,200  $\text{V s}^{-1}$ .

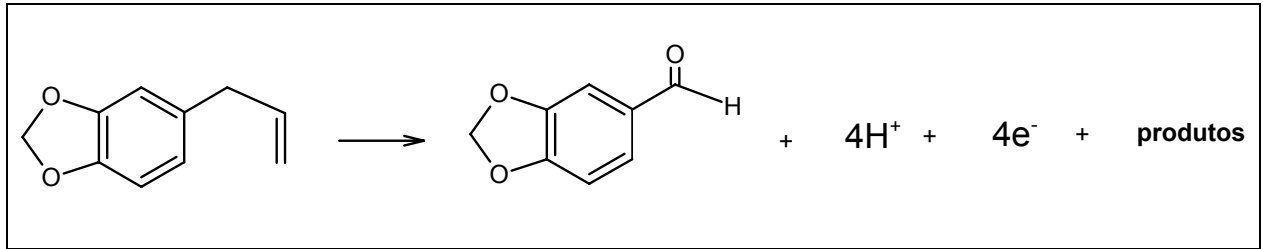


**Figura 32.** Gráficos do Safrol de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão fosfato pH 7,0, em eletrodo de carbono vítreo (A):  $I_{pc}$  vs.  $v^{1/2}$  e (B):  $E_{pa}$  vs.  $\log v$ .

**Tabela 12.** Parâmetros eletroquímicos para estudo da influência da velocidade de varredura do SAF.

$v$ ( $Vs^{-1}$ )	$v^{1/2}$	$\log v$	$I_{pa}(\mu A)$	$E_{pa}$
0,020	0,141	-1,699	8,61	1,094
0,050	0,223	-1,301	16,61	1,1134
0,075	0,273	-1,125	22,83	1,1203
0,100	0,316	-1,0	37,48	1,1317
0,200	0,447	-0,699	45,37	1,1477
0,300	0,547	-0,522	58,56	1,1661
0,400	0,632	-0,398	72,39	1,1664
0,500	0,707	-0,301	96,92	1,1798

**STETER *et al.*(2007)** estudaram a oxidação do safrol por eletrólise em potencial controlado utilizando eletrodo de feltro de carbono modificado em meio neutro, em cujo processo solou e caracterizou o piperonal (3,4 metilenodioxibenzaldeído) com rendimento de 61%. Propôs, então que a oxidação ocorre no grupo metileno que se encontra entre o anel aromático e a olefina, envolvendo quatro elétrons com perda de dois carbonos (**Fig. 33**).

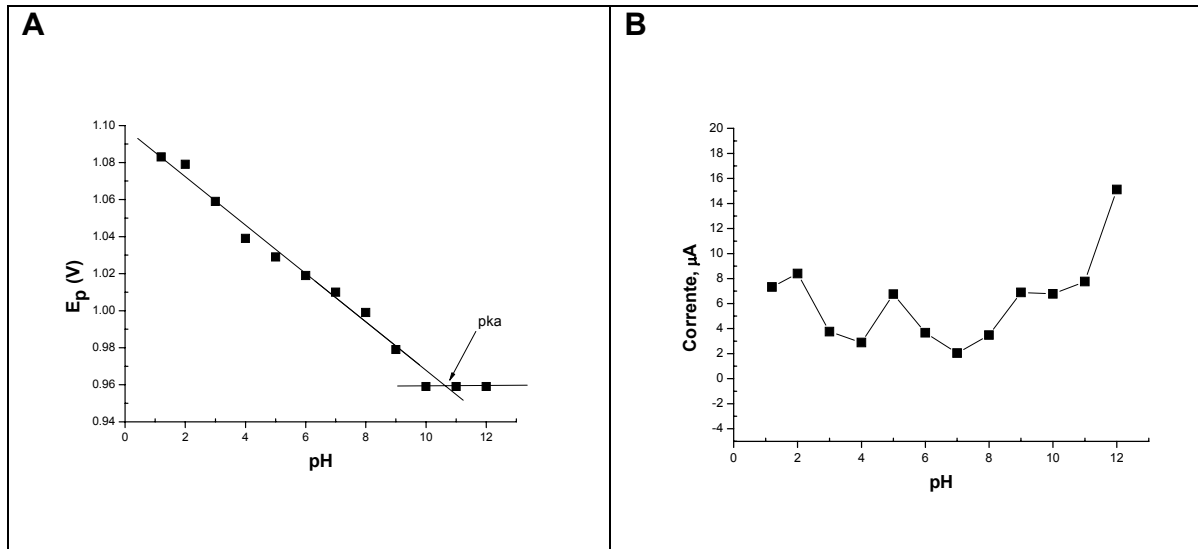


**Figura 33.** Representação da eletrooxidação do SAF [adaptado, STETER *et al.* 2007].

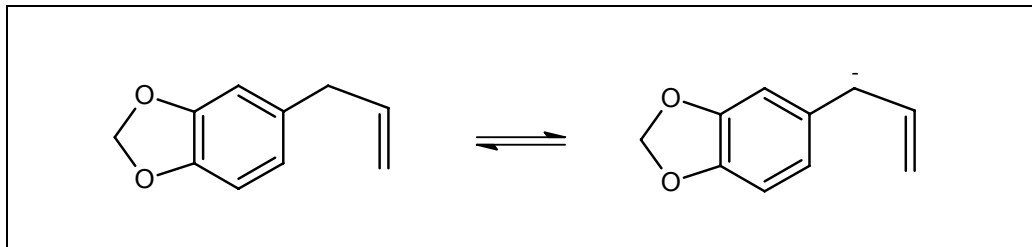
#### 4.2.3.2 Estudo de comportamento eletroquímico, variação do potencial e da corrente com o pH do Safrol

A sensibilidade eletroquímica do safrol em diversos meios, foi avaliada entre pH 1 e 12,0. O gráfico  $E_p$  vs pH (**Fig.34 A**) revelou que entre pH 1 e 10,0 houve um declínio linear do potencial com variação do pH, devido ao fato de a desprotonação favorecer o processo de oxidação, com equação  $E_p(\text{V}) = 1,10 - 1,3 \times 10^{-2} \text{ pH}$  ( $r = 0,99238$ ). Entre pH 10 e 12 não houve variação do potencial; o ponto de inflexão das duas retas revelou um  $pK_a$  de 10,6. Esse valor é condizente com a estrutura, haja vista a presença do grupo alílico e o dioximetileno ligado ao anel aromático. Ressalta-se a possibilidade da existência de outros valores de  $pK_a$  que não puderam ser encontrados em função da faixa de pH usada. O gráfico  $I_p$  vs pH (**Fig. 34 B**) mostrou baixa sensibilidade na faixa de pH 1-11, porém em pH 12 revelou uma sensibilidade significativa da corrente, não sendo um meio interessante para estudo pela elevada alcalinidade. O esquema de protonação do safrol está representado na **Fig. 35**.





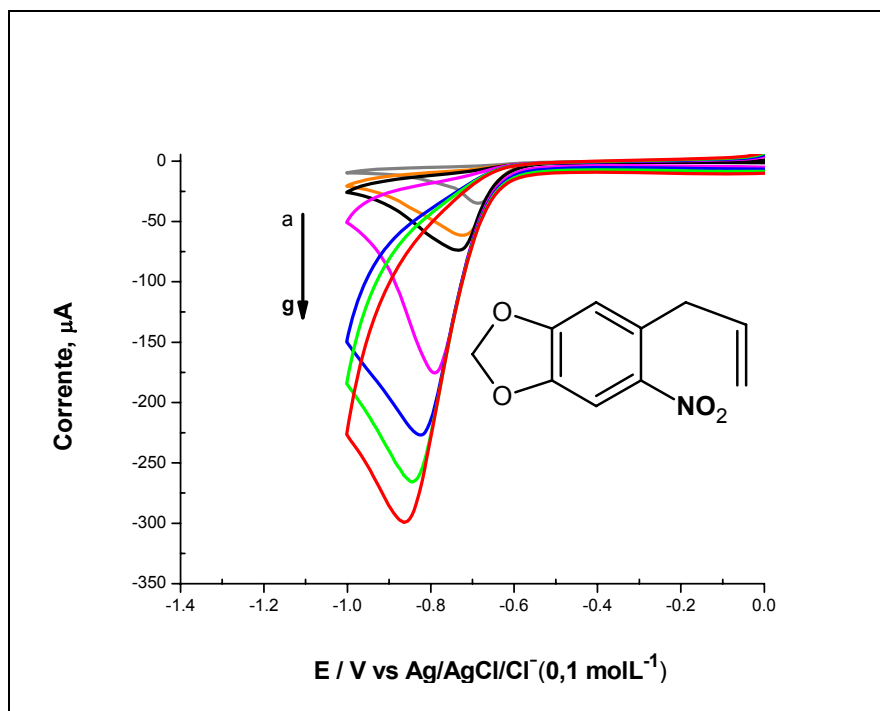
**Figura 34.** (A):  $E_p$  vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletrooxidação do SAF. Obtenção do  $pK_a$  (B):  $I_p$  vs pH,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 35.** Representação da protonação do SAF,  $pK_a = 10,5$ .

#### 4.2.4 Voltametria Cíclica do Nitrossafrol

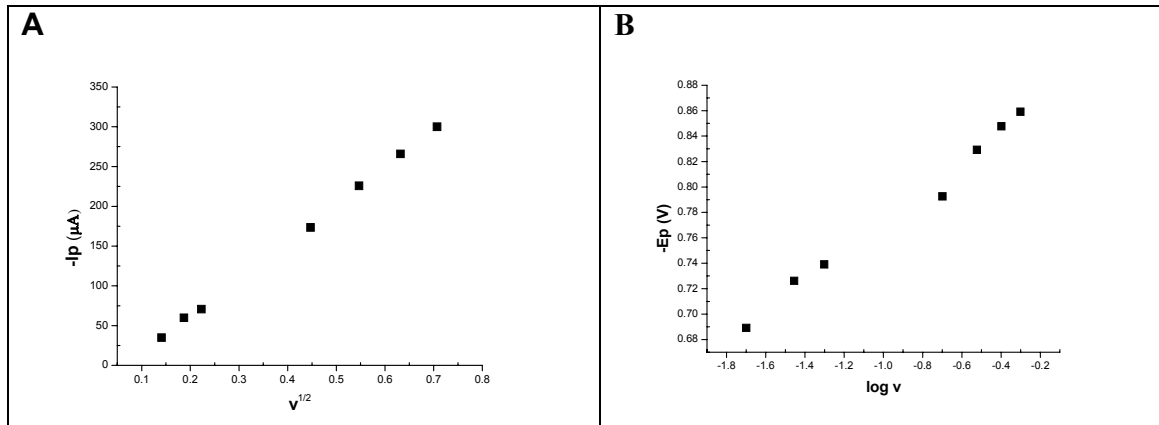
O estudo da velocidade do nitrossafrol foi feito em tampão fostato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em pH 7,0 em eletrodo de carbono vítreo. O voltamograma cíclico mostrou uma onda catódica irreversível em  $E_{pc} = -0,79 \text{ V}$  em  $0,200 \text{ V s}^{-1}$  (**Fig. 36**), que se desloca a potenciais mais negativos com o aumento da velocidade conforme **tabela 13**. O potencial de pico ( $E_p$ ) e a corrente de pico ( $I_p$ ) variou linearmente com  $\log v$  and  $v^{1/2}$ , respectivamente (**Fig. 37A e 37B**), indicando natureza irreversível e controlada por processo difusional.



**Figura 36.** Voltamograma cíclico do nitrossafrol,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão fosfato, pH 7,0 nas velocidades de (a)0,020, (b)0,035, (c)0,050, (d)0,200, (e)0,300, (f)0,400 e (g)0,500  $\text{Vs}^{-1}$ .

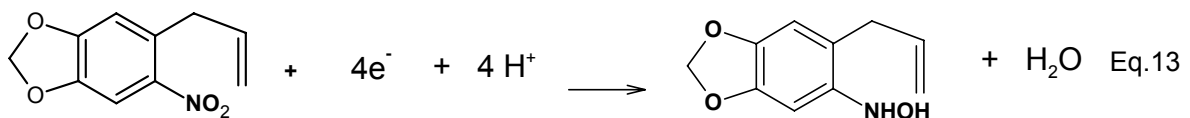
**Tabela 13.** Parâmetros eletroquímicos para estudo da influência da velocidade de varredura do NSAF

$v \text{ (Vs}^{-1}\text{)}$	$v^{1/2}$	$\text{Log } v$	$-\text{I}_{pc}(\mu\text{A})$	$-\text{E}_{pc}$
0,020	0,141	-1,699	34,75	0,689
0,035	0,187	-1,455	59,59	0,726
0,050	0,223	-1,301	70,74	0,739
0,200	0,447	-0,699	173,28	0,792
0,300	0,547	-0,523	225,69	0,829
0,400	0,632	-0,398	266,02	0,847
0,500	0,707	-0,301	299,95	0,859

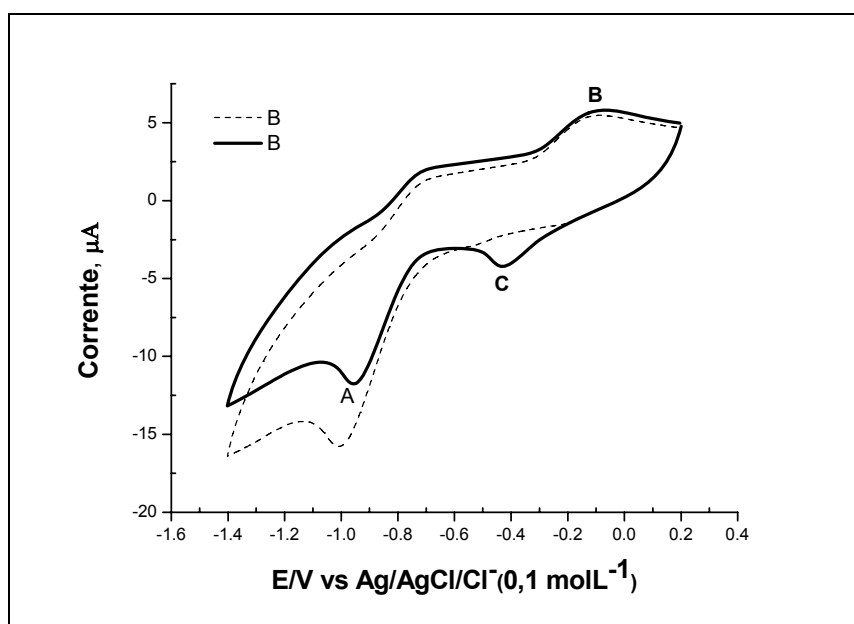
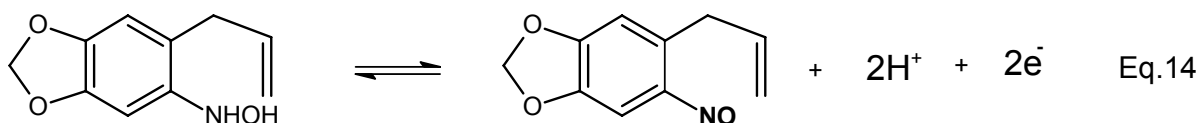


**Figura 37.** (A)  $I_p$  vs.  $v^{1/2}$  para os picos da VPD correspondendo a eletrorredução do Nitrossafrol (B)  $E_p$  vs.  $\log v$ .  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV, tempo de pulso: 50 ms,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .

O estudo voltamétrico do NSAF na região catódica, revelou um comportamento característico de nitro aromático em meio prótico. O voltamograma cíclico (**Fig.38**) mostrou uma onda de caráter irreversível ( $E_p = -1,00 \text{ V}$ ) e outro sinal na varredura reversa ( $E_p = +0,13 \text{ V}$ ). Entretanto após a segunda varredura revelou um terceiro pico ( $E_p = -0,42 \text{ V}$ ), revelando um total de três sinais para o sistema. Segue a proposta mecanística para o NSAF na região anódica de acordo com os sinais observados: o primeiro pico (A) refere-se à formação da hidroxilamina através da redução do grupo nitro envolvendo 4 elétrons e 4 prótons, conforme a equação 13.

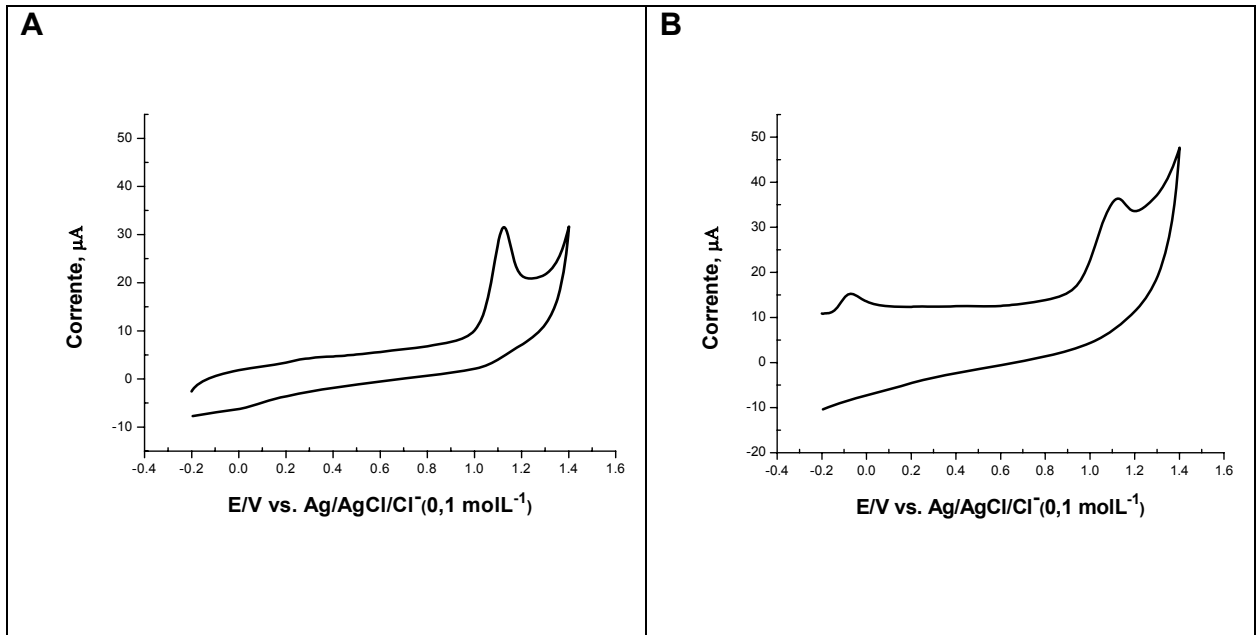


O pico anódico (B) refere-se a oxidação da hidroxilamina gerando o derivado nitroso durante a varredura reversa, envolvendo 2 elétrons. Reversivelmente o pico (C) resulta da redução conforme a equação 14 [DE SOUZA, 2007; SKOOG, 2002].



**Figura 38.** VC do NSAF na região catódica,  $\nu = 0,100 \text{ Vs}^{-1}$ ,  $c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , tampão fosfato pH 7,0.

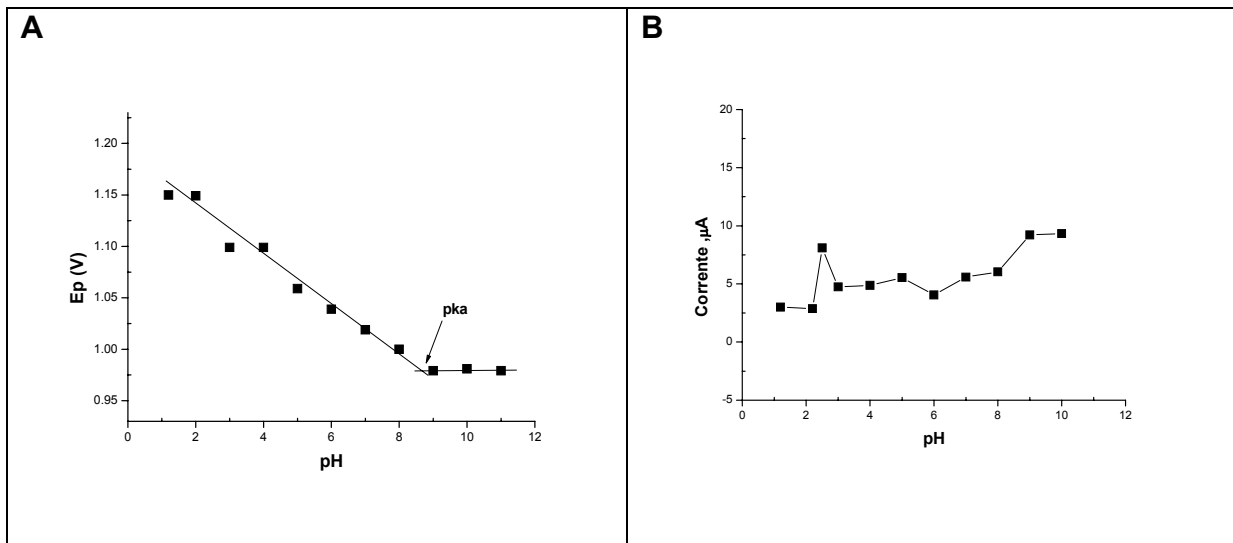
O comportamento voltamétrico do NSAF na região anódica, a partir do potencial  $E = -0,2 \text{ V}$  (**Fig. 39A**), revelou uma onda em  $E_p = +1,1 \text{ V}$  referente a oxidação do grupo metileno que se encontra entre o anel aromático e a olefina terminal. Entretanto, quando aplicado  $E_{ap} = -1,0 \text{ V}$  e  $t_d = 120 \text{ s}$ , o voltamograma mostrou uma onda  $E = -0,08 \text{ V}$  referente a oxidação da hidroxilamina e outro sinal em  $E = 1,1 \text{ V}$  referente à oxidação do grupo metileno, conforme descrito anteriormente (**Fig. 39B**).



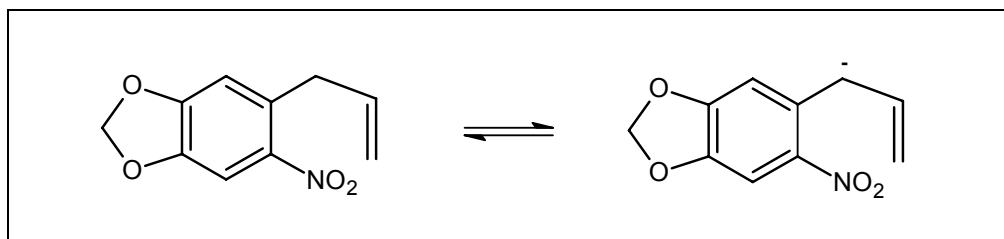
**Figura 39.** VC do NSAf na região anódica,  $v = 0,100 \text{ V s}^{-1}$ ,  $c = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , tampão fosfato pH 7,0 (A): VC na região anódica (B): VC na região anódica  $E_{ap} = -1,0 \text{ V}$  e  $t_a = 120 \text{ s}$ .

#### 4.2.4.2 Estudo do comportamento eletroquímico, variação do potencial e da corrente com o pH do Nitrossafrol

O comportamento eletroquímico do nitrossafrol entre pH 1 e 11 foi avaliado através de variações de potencial e corrente de pico, pela técnica de VPD, em que se observa comportamento parecido com o do safrol, com declínio linear entre o pH 1 e 8 com variação de 20 mV/unidade de pH com equação  $E(V) = 1,19 - 2,45 \times 10^{-2} \text{ pH}$  ( $r = 0,99336$ ). O potencial manteve-se constante entre os pH 9 e 11. A intersecção das retas do gráfico  $E_p$  vs pH (**Fig. 40A**) revelou um  $pK_a$  de 8,7. Com a introdução do grupo nitro na molécula do safrol, observa-se uma variação 1,9 nos valores de  $pK_a$  em função do grupo nitro ser eletro atraente, na posição para ao oxigênio. O gráfico  $I_p$  vs pH (**Fig. 40B**) não mostrou variação considerável de corrente na faixa de pH estudada. O esquema de protonação do nitrossafrol está representado na **Fig. 41**.



**Figura 40.** (A):  $E_p$  vs. pH para os picos da VPD correspondendo a eletrooxidação do NSAF. Obtenção do  $pK_a$  (B):  $I_p$  vs. pH,  $c = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , amplitude de pulso: 50 mV tempo de pulso: 50 ms,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 41.** Representação da protonação do NSAF,  $pK_a = 8,7$ .

### 4.3 Estudos de Quantificação de Metribuzin, Sulfentrazone, Safrol e Nitrossafrol

A eletroanalítica dispõe de uma variedade de métodos para estudos de analitos em baixas concentrações, com alta seletividade, baixo custo e portabilidade. Adicionalmente, há inovações constantes nos sensores eletroquímicos em busca de melhores resultados. Os eletrodos modificados utilizando carbono como matriz, são uma ferramenta relevante em tais experimentos, por possuir alta condutividade elétrica

ou da formação de compósitos que melhorem o sinal analítico. Para a determinação do limite de detecção utilizou-se o desvio padrão da média aritmética das correntes obtidas dos dez voltamogramas de brancos, no mesmo potencial do sinal voltamétrico da substância em estudo, conforme a equação 15.

$$LD = \frac{3 S_B}{b} \quad \text{Eq. 15}$$

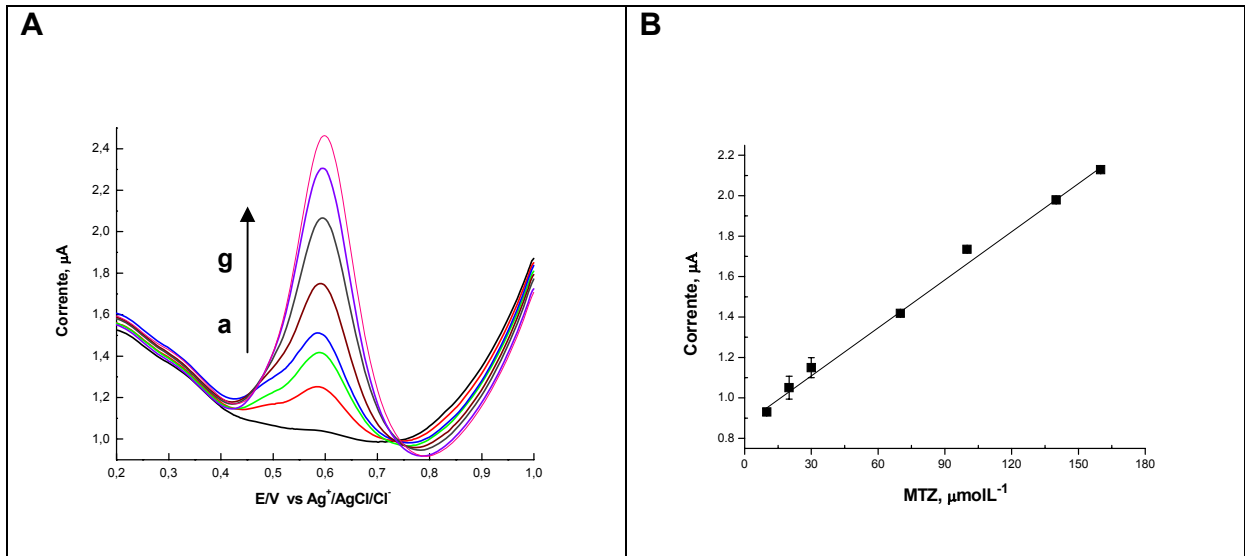
Onde,  $S_B$  é o desvio padrão da média aritmética das correntes dos brancos e o  $b$  o valor do coeficiente angular da curva analítica [COSTA *et al.*, 2008].

#### 4.3.1 Quantificação do MTZ por voltametria de redissolução anódica

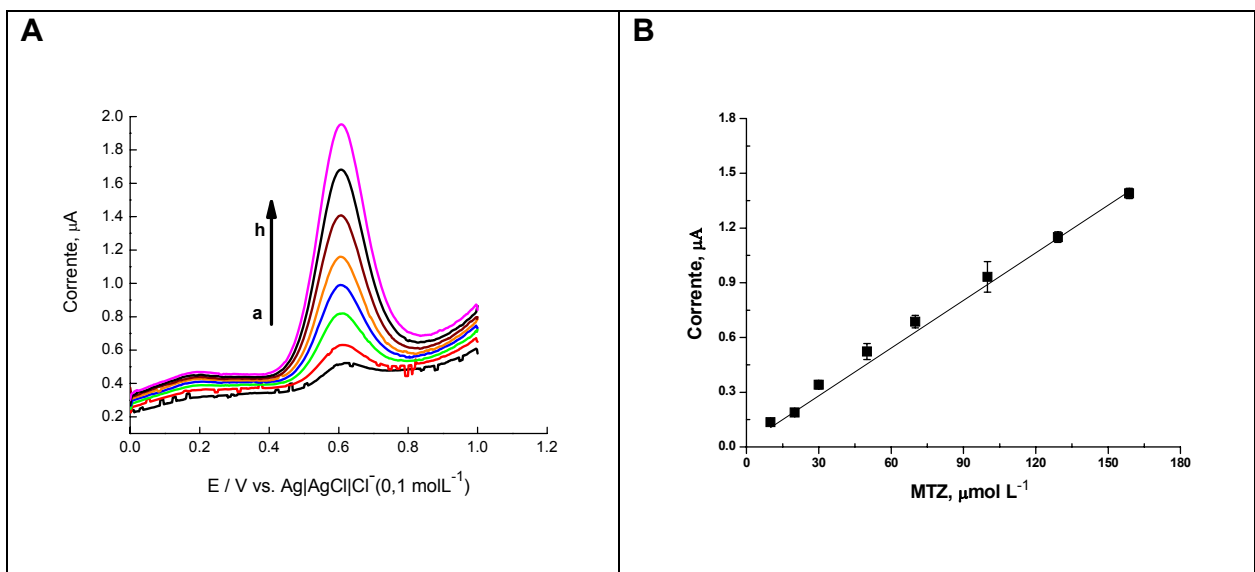
O método voltametria de redissolução anódica consiste na pré concentração de uma substância eletroquimicamente ativa na superfície do eletrodo aplicando-se um potencial de deposição ( $E_d$ ) durante um determinado tempo. O tempo de deposição é função da espécie eletroativa e, nessa etapa, ocorre a redução da substância e, ocorre conseqüentemente sua pré concentração na superfície do eletrodo.

A próxima etapa consiste na varredura de potencial na direção anódica, obtendo-se o sinal analítico de acordo com a técnica escolhida, pois nessa etapa o material depositado se redissolve, quando seus potenciais de pico são atingidos [BRETT, 1998].

O método desenvolvido para quantificar o MTZ foi a redissolução anódica, até então não registrado na literatura para o MTZ. Para tal, utilizou-se eletrodo de carbono vítreo (Fig. 42), eletrodo de pasta de carbono/óleo de mamona (Fig. 43) e eletrodo de pasta de carbono/nujol (Fig. 44). A técnica utilizada foi VOQ em tampão acetato  $pH_{ap}$  4,0. Para os três eletrodos, a corrente de pico mostrou linearidade na faixa de concentração de  $1 \times 10^{-6}$  a  $4,0 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$ .

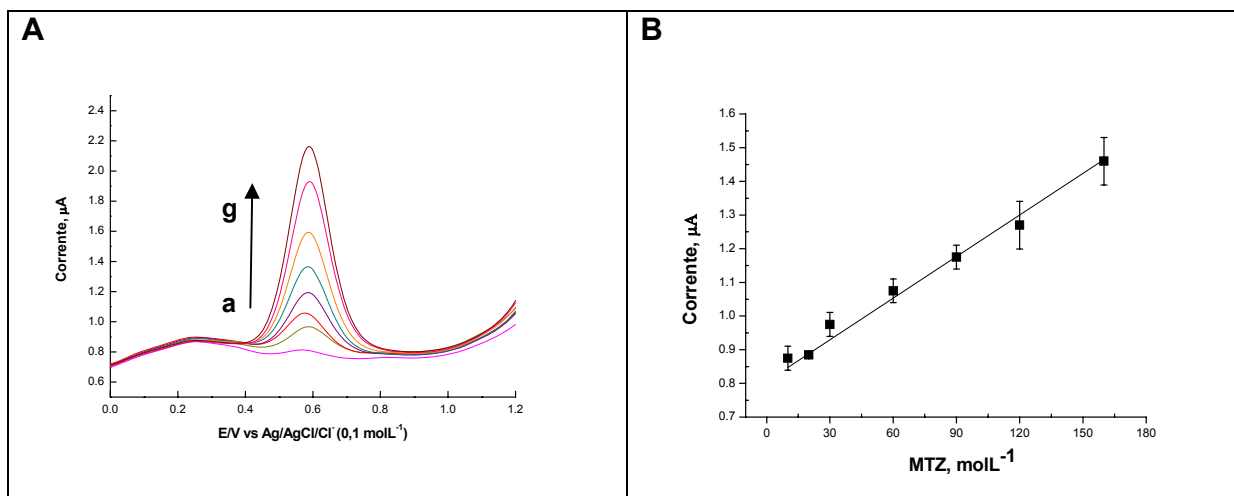


**Figura 42.** VOQ do MTZ por voltametria de redissolução anódica em tampão acetato pH<sub>ap</sub> 4,0, nas concentrações (a)  $1 \times 10^{-5}$ , (b)  $2 \times 10^{-5}$ , (c)  $3 \times 10^{-5}$ , (d)  $7 \times 10^{-5}$ , (e)  $1 \times 10^{-4}$ , (f)  $1,4 \times 10^{-4}$ , (g)  $1,6 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. (A): MTZ em eletrodo de CV Ip vs. E/V (B): MTZ em eletrodo de CV Ip vs. [MTZ] µmol L<sup>-1</sup>.



**Figura 43.** VOQ do MTZ por voltametria de redissolução anódica em tampão acetato pH<sub>ap</sub> 4,0 nas concentrações (a)  $1 \times 10^{-5}$ , (b)  $2 \times 10^{-5}$ , (c)  $3 \times 10^{-5}$ , (d)  $5 \times 10^{-5}$ , (e)  $7 \times 10^{-5}$ , (f)  $1 \times 10^{-4}$ , (g)  $1,3 \times 10^{-4}$ , (h)  $1,6 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. (A): MTZ em eletrodo de PC/ óleo de mamona Ip vs. E/V (B): MTZ em eletrodo de PC/ óleo de mamona Ip vs. [MTZ].





**Figura 44.** VOQ do MTZ por voltametria de redissolução anódica em tampão acetato pH<sub>ap</sub> 4,0. nas concentrações (a)  $1 \times 10^{-5}$ , (b)  $2 \times 10^{-5}$ , (c)  $3 \times 10^{-5}$ , (d)  $6 \times 10^{-5}$ , (e)  $9 \times 10^{-5}$ , (f)  $1,2 \times 10^{-4}$ , (g)  $1,6 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. (A): MTZ em eletrodo de PC/nujol Ip vs.E/V (B): MTZ em eletrodo de PC/nujol Ip vs.[MTZ] µmol L<sup>-1</sup>.

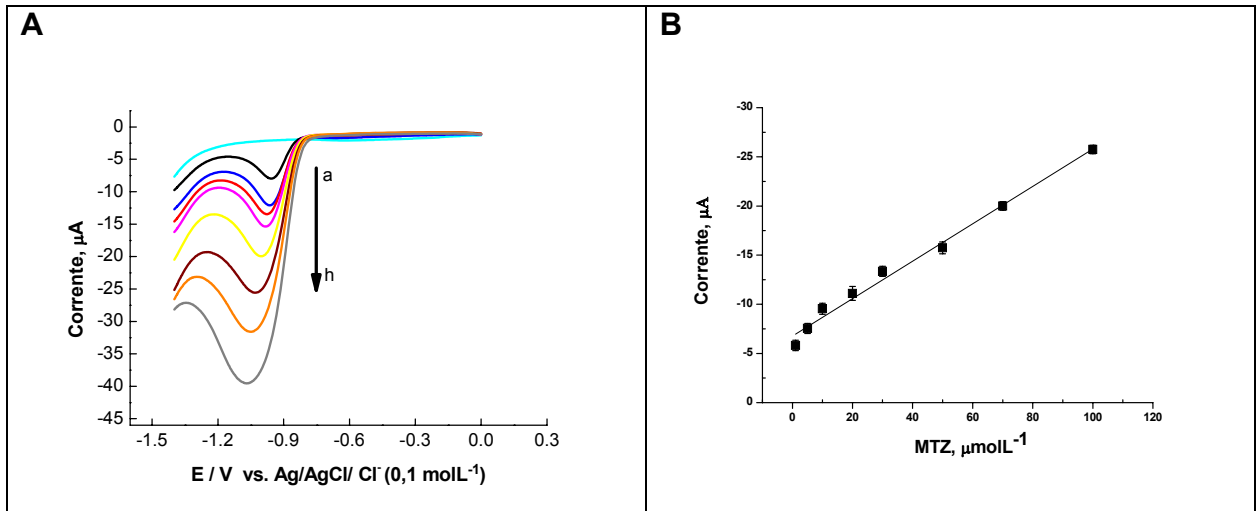
Os parâmetros de sensibilidade do método estão listados na **tabela 14**, revelando o eletrodo de pasta de carbono/óleo de mamona como mais sensível que a pasta de carbo/nujol e com sensibilidade de aproximadamente 100 (cem) vezes mais que o eletrodo de carbono vítreo, contudo é notável que o eletrodo de mercúrio mostre melhor resposta que os demais eletrodos, sabe-se, contudo que o eletrodo de mercúrio está banido por questões de segurança e ambiental.

**Tabela 14.** Estudos comparativos na quantificação do MTZ, em eletrodo de Carbono Vítreo, Pasta de carbono/Nujol, Pasta de carbono/óleo de mamona e eletrodo de mercúrio.

Eletrodo trabalho	R	LD ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Equação
CV	0,9954	116,0	$I (\mu\text{A}) = 0,92(\pm 0,32) + 0.12(\pm 0,0058) [\text{MTZ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$
PC/nujol	0,9922	3,752	$I (\mu\text{A}) = 0,83(\pm 0,024) + 0.24 (\pm 0,0004)[\text{MTZ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$
PC/óleo mamona	0,9989	1,248	$I (\mu\text{A}) = 0,055(\pm 0,013) + 0.008(\pm 0,0001) [\text{MTZ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$
Hg [SKOPALOVÁ et al., 2001 <sup>a</sup> ]	0,9998	0,0214	$I (\mu\text{A}) = 0,01 (\pm 0,0001) + 0.28 [\text{MTZ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$

#### 4.3.2 Quantificação do MTZ em EMQ (eletrodo modificado com quitosana)

Com o objetivo de quantificar o MTZ em eletrodo modificado com quitosana utilizou-se a técnica de VPD na região catódica, em tampão acetato  $\text{pH}_{\text{ap}} 4,0$  na faixa de concentração de  $1 \times 10^{-6}$  a  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em que se observou linearidade com a corrente de pico (**Fig.45**).

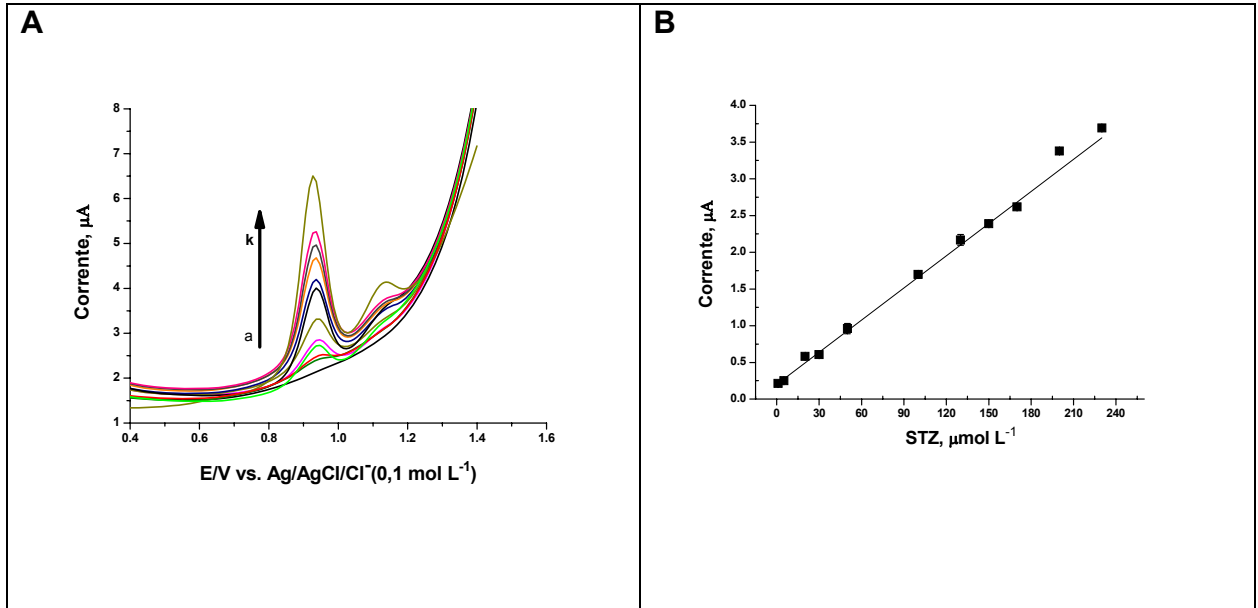


**Figura 45.** (A): VPD do MTZ em eletrodo de carbono vítreo/quitosana, tampão acetato  $\text{pH}_{\text{ap}} 4,0$  nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $5 \times 10^{-6}$ , (c)  $1 \times 10^{-5}$ , (d)  $2 \times 10^{-5}$ , (e)  $3 \times 10^{-5}$ , (f)  $5 \times 10^{-5}$ , (g)  $7 \times 10^{-5}$ , (h)  $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> (B): Relação entre corrente de pico com a concentração do MTZ.

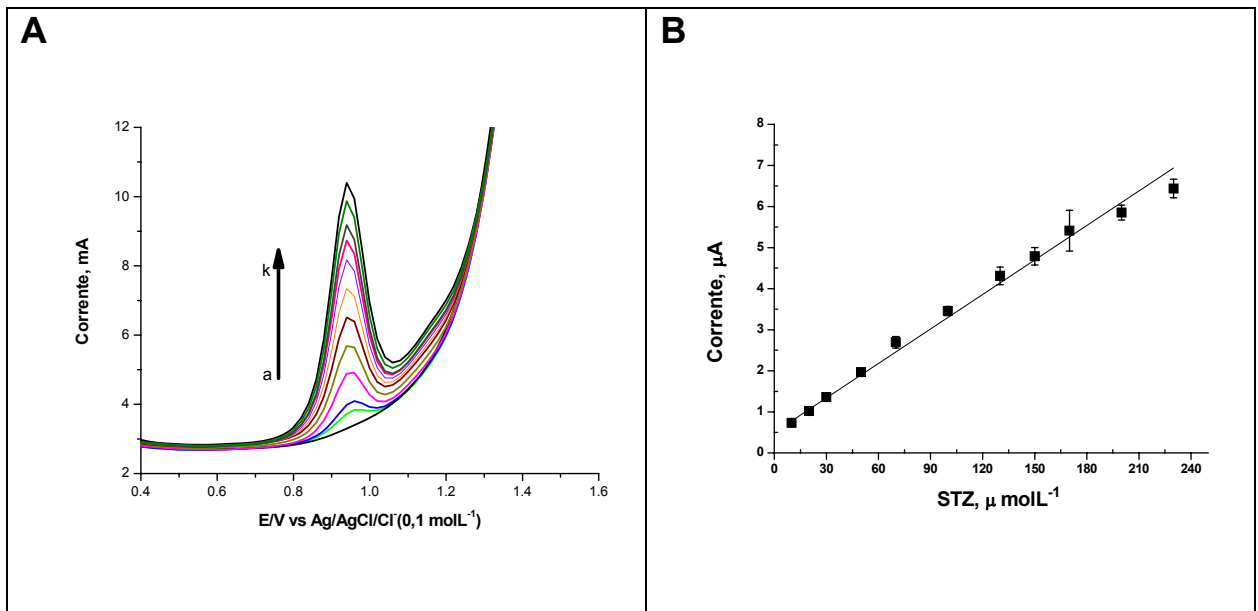
A análise direta do MTZ em eletrodo modificado de quitosana com equação  $I(\mu\text{A}) = 6,76 (\pm 0,3910) + 0,19 (\pm 0,0070) [\text{MTZ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$ , com  $r = 0,9953$  revelou um limite de detecção de  $3,81 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. Isso mostra que o sensor EMQ é bastante sensível na análise do MTZ.

### 4.3.3 Quantificação da Sulfentrazona

A sulfentrazona foi analisada em VPD em tampão fosfato  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . Para tal utilizou-se eletrodo de carbono vítreo (**Fig.46**) e eletrodo de carbono vítreo/nanotubo de carbono de paredes múltiplas (**Fig.47**) nas concentrações de  $1,0 \times 10^{-6}$  a  $2,3 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> em que se observa linearidade para ambos os eletrodos.



**Figura 46.** VPD da STZ em eletrodo de CV nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $5 \times 10^{-6}$ , (c)  $2,0 \times 10^{-5}$ , (d)  $3,0 \times 10^{-5}$ , (e)  $5,0 \times 10^{-5}$ , (f)  $1,0 \times 10^{-4}$ , (g)  $1,3 \times 10^{-4}$ , (h)  $1,5 \times 10^{-4}$ , (i)  $1,7 \times 10^{-4}$ , (j)  $2,0 \times 10^{-4}$ , (k)  $2,3 \times 10^{-4} \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . (A):  $I_p$  vs. E/V (B):  $I_p$  vs.  $[\text{STZ}] \mu\text{mol L}^{-1}$ .



**Figura 47.** VPD da STZ em eletrodo de CV nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-5}$ , (b)  $2 \times 10^{-5}$ , (c)  $3 \times 10^{-5}$ , (d)  $5 \times 10^{-5}$ , (e)  $7 \times 10^{-5}$ , (f)  $1 \times 10^{-4}$ , (g)  $1,3 \times 10^{-4}$ , (h)  $1,5 \times 10^{-4}$ , (i)  $1,7 \times 10^{-4}$ , (j)  $2,0 \times 10^{-4}$ , (k)  $2,3 \times 10^{-4} \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . (A) STZ em eletrodo de CV/NTC  $I_p$  vs. E/V (B) STZ em eletrodo de CV/NTC  $I_p$  vs.  $[\text{STZ}] \mu\text{mol L}^{-1}$ .

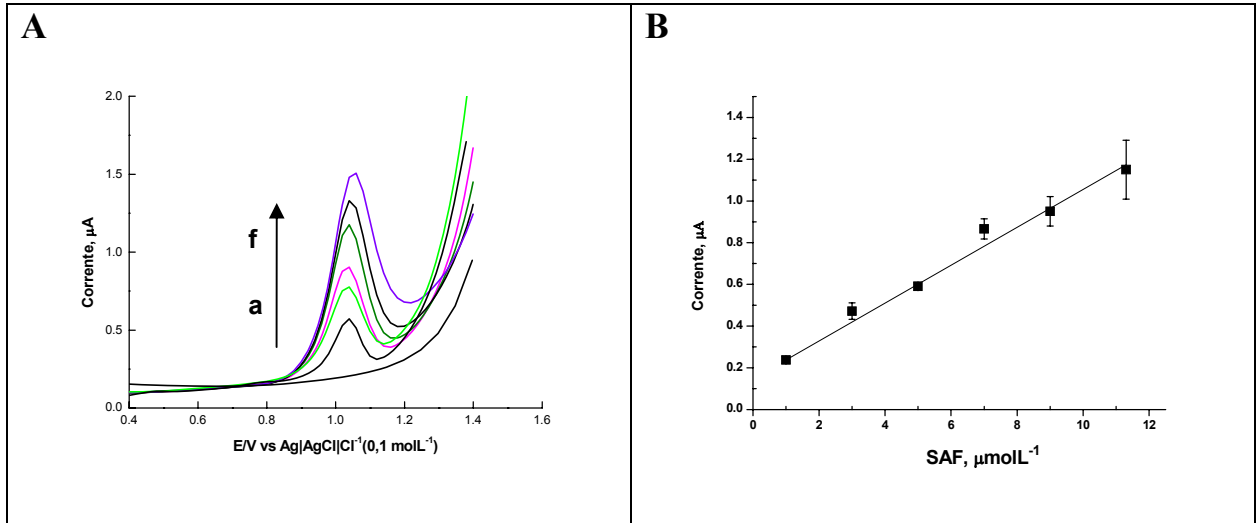
Os parâmetros de avaliação encontram-se na **tabela 15**, em que o eletrodo de CV/NTC revelou melhor sensibilidade e limite de detecção que o eletrodo de CV nas condições estudadas. O resultado é atribuído à eficiência de transferência de elétrons entre a sulfentrazona e o nanotubo de carbono em razão das características do nanomaterial, como a alta condutividade e alta área superficial [ALÁRCÓN-ANGELES et al., 2008; DUMITRESCU et al., 2009].

**Tabela 15.** Estudos comparativos na quantificação do STZ, em eletrodo de carbono vítreo e eletrodo de carbono vítreo/nanotubo de carbono de paredes múltiplas.

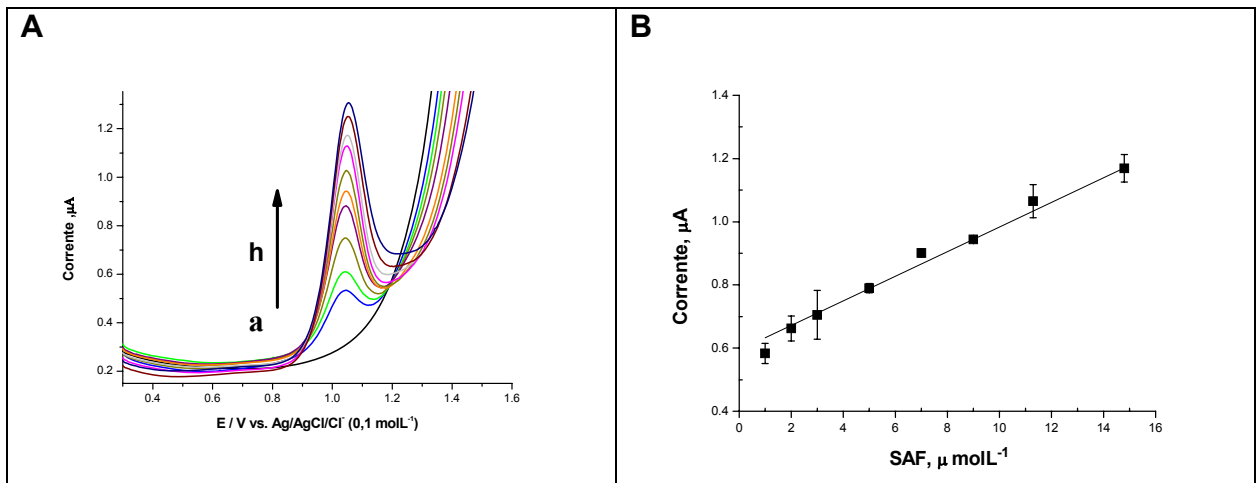
Eletrodo de trabalho	R	LD ( $\mu\text{molL}^{-1}$ )	Equação
CV	0,9980	17,2	$I(\mu\text{A}) = 0,17(\pm 0,034) + 0,015(\pm 3,00 \times 10^{-4}) [\text{STZ}](\mu\text{molL}^{-1})$
CV/NTC	0,9974	2,70	$I(\mu\text{A}) = 0,61(\pm 0,091) + 0,026(\pm 7,10 \times 10^{-4}) [\text{STZ}](\mu\text{molL}^{-1})$

#### 4.3.4 Quantificação do Safrol

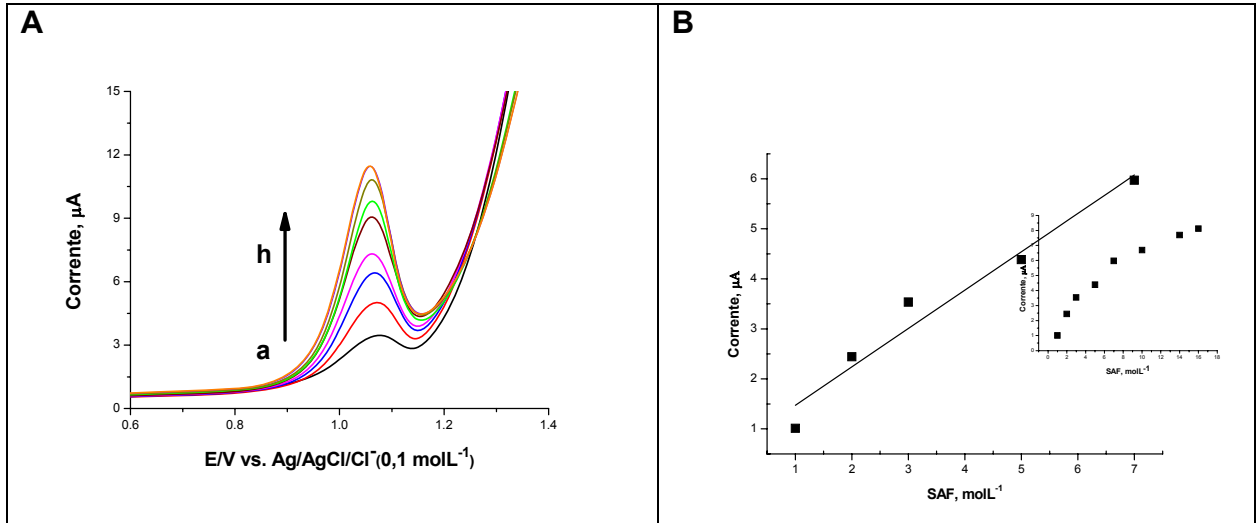
O estudo da concentração do SAF em eletrodos modificados foi feito em tampão fosfato  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$  utilizando a técnica de VPD na faixa de concentração de  $1 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$  a  $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Os eletrodos de CV (**Fig. 48**), CV/NTC (**Fig. 49**) e CV/NTC/ $\beta$ -CD (**Fig. 50**) mostraram boa linearidade entre a corrente e concentração do analito .



**Figura 48.** VPD do SAF em eletrodo de CV nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $3 \times 10^{-6}$ , (c)  $5 \times 10^{-6}$ , (d)  $7 \times 10^{-6}$ , (e)  $9 \times 10^{-6}$ , (f)  $11 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . (A):  $I_p$  vs. E/V (B):  $I_p$  vs. [SAF]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .



**Figura 49.** VPD do SAF em eletrodo de CV/NTC nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $2 \times 10^{-6}$ , (c)  $3 \times 10^{-6}$ , (d)  $5 \times 10^{-6}$ , (e)  $7 \times 10^{-6}$ , (f)  $9 \times 10^{-6}$ , (g)  $11 \times 10^{-6}$ , (h)  $15 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . (A):  $I_p$  vs. E/V (B):  $I_p$  vs. [SAF]  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .



**Figura 50.** VPD do SAF em eletrodo de CV NTC/ $\beta$ -CD nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b)  $2 \times 10^{-6}$ , (c)  $3 \times 10^{-6}$ , (d)  $5 \times 10^{-6}$ , (e)  $7 \times 10^{-6}$ , (f)  $11 \times 10^{-6}$ , (g)  $15 \times 10^{-6}$ , (h)  $18 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . (A):  $I_p$  vs.  $E/V$  (B):  $I_p$  vs.  $[\text{SAF}] \mu\text{mol L}^{-1}$ ; Inserção: saturação do safrol no sensor NTC/ $\beta$ -CD.

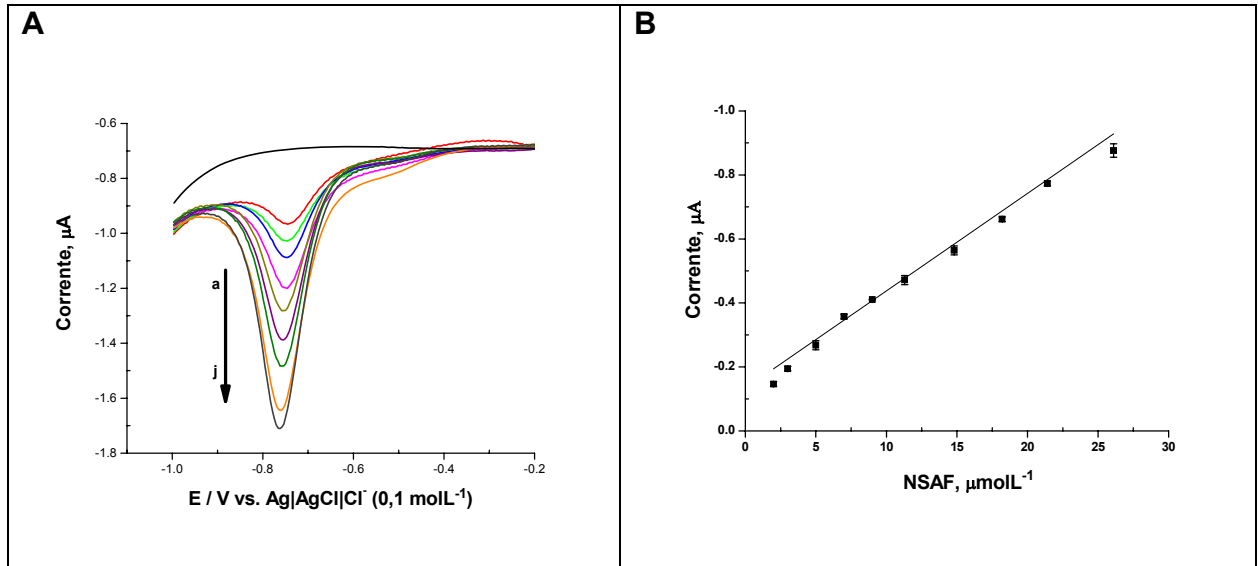
Os resultados dos estudos do Safrol nos eletrodos de carbono vítreo (CV), carbono vítreo/nanotubo de carbono de paredes múltiplas (CV/NTC) e carbono vítreo/nanotubo de carbono de paredes múltiplas/ $\beta$ -ciclodextrina (CV/NTC/ $\beta$ -CD) encontram-se na **tabela 16**, em que o eletrodo de CV/NTC surge com melhor resposta que os eletrodos de CV e CV/NTC/ $\beta$ -CD, sendo esse último um pouco mais sensível que o eletrodo de carbono vítreo a sugerir uma boa interação da  $\beta$ -CD com o Safrol e saturação a partir da concentração de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

**Tabela 16.** Estudos comparativos na quantificação do Safrol em eletrodo de CV, eletrodo de CV/NTC e eletrodo de CV/NTC/ $\beta$ -CD.

Eletrodo de trabalho	R	LD ( $\mu\text{molL}^{-1}$ )	Equação
CV	0,9933	0,646	$I(\mu\text{A}) = 0,15(\pm 6 \times 10^{-4}) + 0,09(\pm 3,3 \times 10^{-3})[\text{SAF}] \mu\text{molL}^{-1}$
CV/NTC	0,9988	0,0869	$I(\mu\text{A}) = 0,59(\pm 0,025) + 0,04(\pm 2 \times 10^{-4})[\text{SAF}] \mu\text{molL}^{-1}$
CV/NTC/ $\beta$ -CD	0,9746	0,474	$I(\mu\text{A}) = 0,70(\pm 0,379) + 0,76(\pm 0,0905)[\text{SAF}] \mu\text{molL}^{-1}$

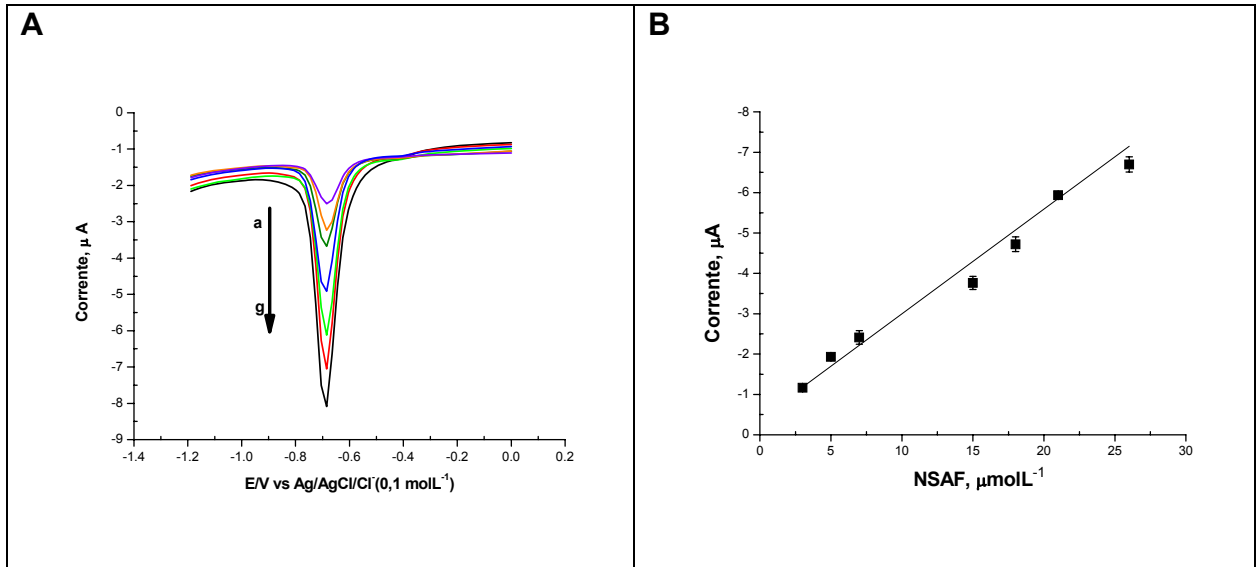
#### 4.3.5 Quantificação do Nitrossafrol

Os estudos eletroanalíticos do nitrossafrol foram realizados em VPD,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$  nas concentrações de  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  a  $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Foram utilizados os eletrodos de CV (**Fig. 51**), CV/NTC (**Fig. 52**) e CV/NTC/ $\beta$ -CD (**Fig. 53**). As análises utilizando os três sensores evidenciaram expressiva linearidade, entre a corrente de pico e a concentração do analito.

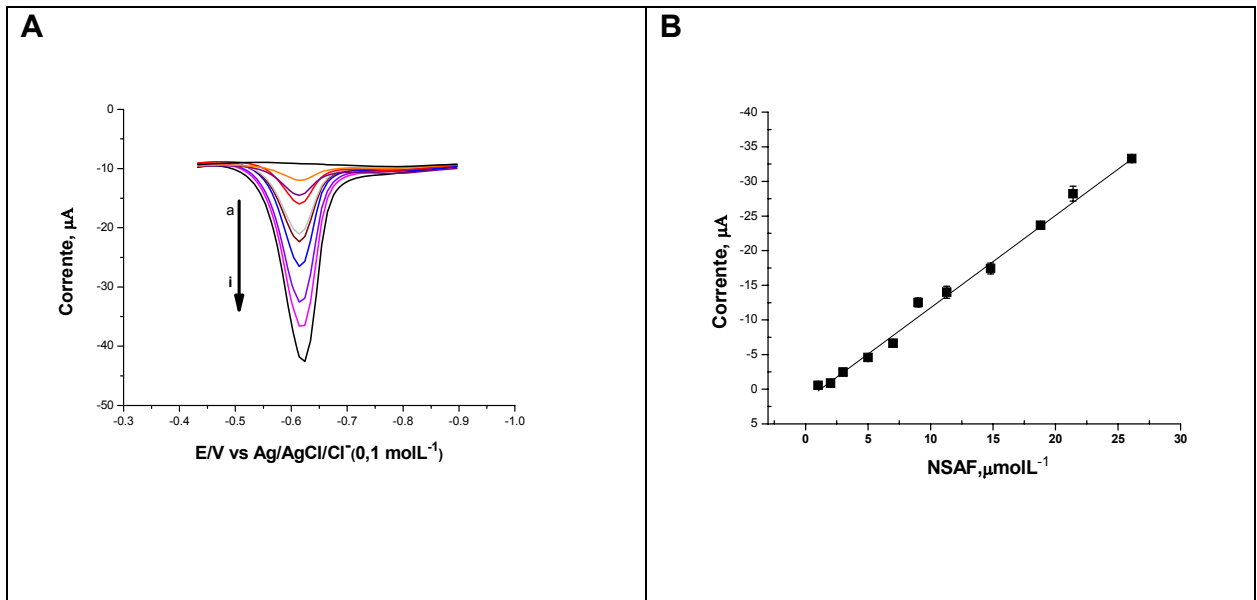


**Figura 51.** VPD do NSAF em eletrodo de CV nas concentrações de (a)  $2 \times 10^{-6}$ , (b)  $3 \times 10^{-6}$ , (c)  $5 \times 10^{-6}$ , (d)  $7 \times 10^{-6}$ , (e)  $9 \times 10^{-6}$ , (f)  $11 \times 10^{-6}$ , (g)  $15 \times 10^{-6}$ , (h)  $18 \times 10^{-6}$ , (i)  $21 \times 10^{-6}$ , (j)  $26 \times 10^{-6} \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . (A):  $I_p$  vs. E/V (B):  $I_p$  vs.  $[\text{NSAF}] \mu\text{mol L}^{-1}$ .





**Figura 52.** VPD do NSAf em eletrodo de CV/NTC nas concentrações de (a) $3 \times 10^{-6}$  (b) $5 \times 10^{-6}$ , (c) $7 \times 10^{-6}$ , (d) $15 \times 10^{-6}$ , (e) $18 \times 10^{-6}$ , (f) $21 \times 10^{-6}$ , (g) $26 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . (A):  $I_p$  vs.  $E/V$  (B):  $I_p$  vs.  $[\text{NSAF}] \mu\text{mol L}^{-1}$ .



**Figura 53.** VPD do NSAf em eletrodo de CV/NTC/β-CD nas concentrações de (a)  $1 \times 10^{-6}$ , (b) $2 \times 10^{-6}$  (c) $3 \times 10^{-6}$ , (d) $5 \times 10^{-6}$ , (e) $7 \times 10^{-6}$ , (f) $9 \times 10^{-6}$ , (g) $11 \times 10^{-6}$ , (h) $21 \times 10^{-6}$ , (i)  $26 \times 10^{-6}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}_{\text{ap}} 7,0$ . (A):  $I_p$  vs.  $E/V$  (B):  $I_p$  vs.  $[\text{NSAF}] \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Os resultados eletroanalíticos para o nitrossafrol encontram-se na **tabela 17**, o que revelou boa sensibilidade com os três sensores, destacando-se o sensor com NTC/ $\beta$ -CD que mostrou menor limite de detecção. A **tabela 18** nos mostra que o pico de redução do nitrossafrol utilizando eletrodo de CV/NTC/ $\beta$ -CD aparece em potencial mais positivo do que o eletrodo de CV, com ganho de 130 mV, e um aumento da corrente de pico de 33 vezes, quando comparado com o mesmo, mostrando a forte interação do NSAF com a  $\beta$ -CD. Esses resultados mostram maior sensibilidade do sensor CV/NTC/ $\beta$ -CD com o nitrossafrol.

**Tabela 17.** Estudos comparativos na quantificação do NSAF, em eletrodo de CV, eletrodo de CV/NTC e eletrodo de CV/NTC/ $\beta$ -CD.

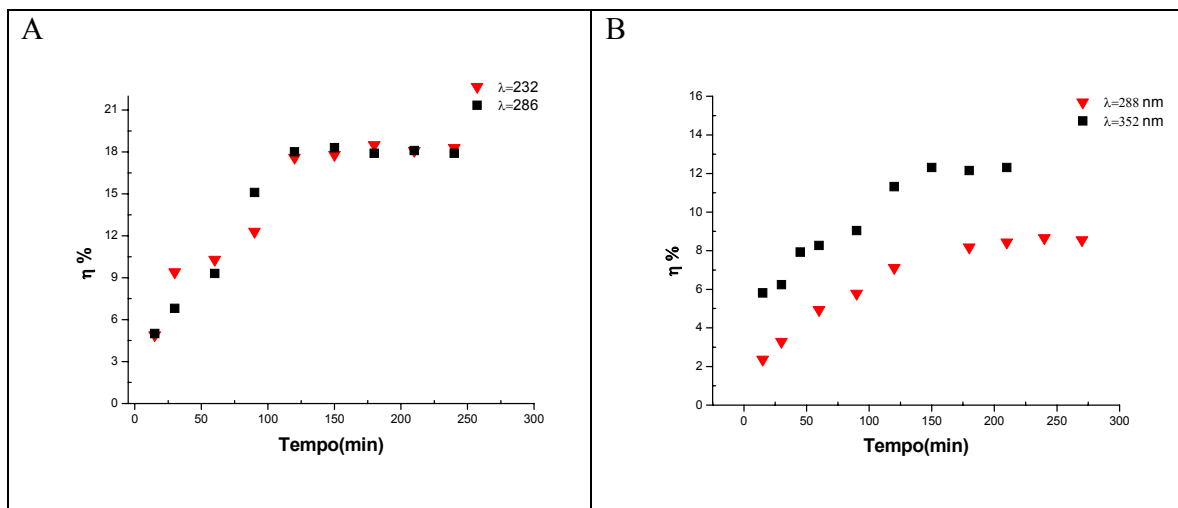
Eletrodo de trabalho	R	LD ( $\mu\text{molL}^{-1}$ )	Equação
CV	0,9920	1,830	$I(\mu\text{A}) = 0,13(\pm 0,012) + 0,03(\pm 0,0013)[\text{NSAF}]$ ( $\mu\text{molL}^{-1}$ )
CV/NTC	0,9955	0,585	$I(\mu\text{A}) = 0,54(\pm 0,21) + 0,23(\pm 0,013)[\text{NSAF}]$ ( $\mu\text{molL}^{-1}$ )
CV/NTC/ $\beta$ -CD	0,9965	0,231	$I(\mu\text{A}) = 1,77(\pm 0,4771) + 1,34(\pm 0,033)[\text{NSAF}]$ ( $\mu\text{molL}^{-1}$ )

**Tabela 18.** Estudos comparativos para potencial de pico ( $E_{pc}$ ) e intensidade de corrente ( $I_{pc}$ ) na eletrorredução do NSAF, em eletrodos de CV, CV/NTC e CV/NTC/ $\beta$ -CD.

Eletrodo de trabalho	$-E_{pc}$ (mV)	$-I_{pc}$ ( $\mu\text{A}$ )
CV	758	0,86
CV/NTC	684	6,57
CV/NTC/ $\beta$ -CD	624	33,14

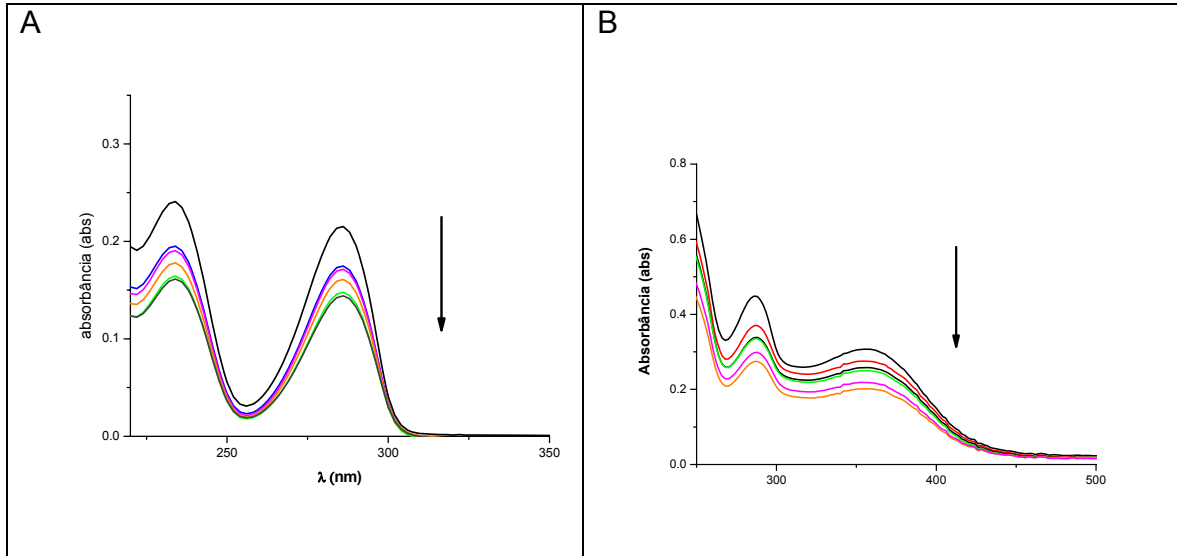
#### 4.4 Estudo da interação do Safrol e Nitrossafrol com a $\beta$ -ciclodextrina

Com os bons resultados encontrados com os sensores formados pelo compósito NTC/ $\beta$ -CDs nos estudos eletroanalíticos do safrol e nitrossafrol, decidimos investigar a interação dessas substâncias com o oligossacarídeo  $\beta$ -CD. A princípio foram efetuados estudos cinéticos do safrol e nitrossafrol na região do UV-VIS (**Fig. 54**), por um período de 240 minutos, em que revelaram grande variação nos primeiros 90min, atingindo o equilíbrio a partir de 120 minutos para o safrol e 150 minutos para o nitrossafrol, servindo como tempo de contato padrão para os estudos subseqüentes.



**Figura 54.** Cinética de complexação (A) SAF:  $\beta$ -CD e (B) NSAF:  $\beta$ -CD. Razão molar 1:1.

Depois da determinação do tempo de equilíbrio para as duas substâncias com a  $\beta$ -CD, estudou-se a formação do complexo de inclusão, utilizando também a técnica de espectroscopia no UV-VIS como parâmetro de avaliação. Mantendo-se fixa a concentração dos substratos, observou-se que a absorvância da mistura entre a  $\beta$ -CD/SAF e a  $\beta$ -CD/NSAF sofreu gradativa redução com aumento da concentração da  $\beta$ -CD revelando a interação das substâncias com o oligossacarídeo (**Fig. 55**).



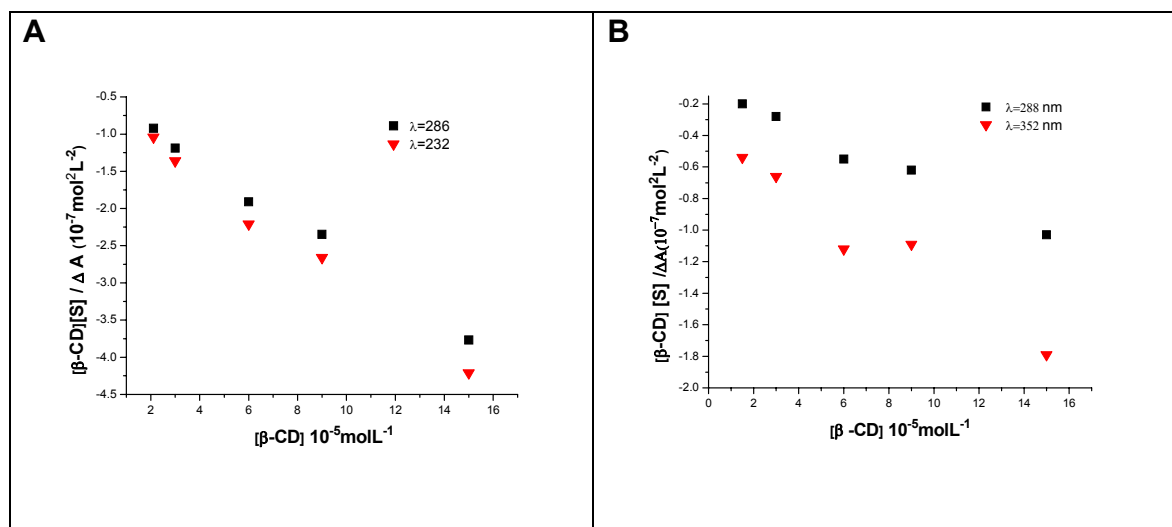
**Figura 55.** Espectros na região do UV-VIS. (A) Safrol,  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  (B) Nitrossafrol,  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  na presença da  $\beta$ -CD nas concentrações de  $2,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $15 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

Para determinar a constante de formação e dissociação dos complexos em estudo foi utilizada a equação Benesi Hildebrand (**HERNÁNDEZ-BENITO *et al.*, 1999**) (Equação 16).

$$\frac{[CD][S]_0}{\Delta A} = \frac{K_D}{\Delta \epsilon} + \frac{[CD]}{\Delta \epsilon} \quad \text{Eq. 16}$$

em que  $[CD]$  é a concentração da  $\beta$ -ciclodextrina,  $[S]_0$  a concentração inicial do substrato,  $K_D$  a constante de dissociação,  $\Delta A$  é variação da absorvência e  $\Delta \epsilon$  é a variação da absorvidade molar.

A **Fig. 56** revela o perfil da relação  $[CD][S]_0 / \Delta A$  vs.  $[CD]$  nos respectivos comprimentos de onda e as **tabelas 19 e 20** encontram-se os coeficientes de formação dos complexos de inclusão, que estão na grandeza de  $10^4 \text{ L mol}^{-1}$  para os dois substratos. Esses resultados corroboram com a seletividade do sensor NTC/ $\beta$ -CD para o safrol e nitrossafrol nos estudos eletroanalíticos realizados.



**Figura 56.** Gráficos para determinação da constante de equilíbrio do complexo (A) SAF:β-CD e (B) NSAF: β-CD.

**Tabela 19.** Constante de dissociação e formação do complexo SAF:β-CD, para 120 min de contato

SAFROL	$\lambda = 234 \text{ nm}$		$\lambda = 286 \text{ nm}$	
	$K_D/\text{mol L}^{-1}$	$K_F/\text{mol L}^{-1}$	$K_D/\text{mol L}^{-1}$	$K_F/\text{mol L}^{-1}$
	$2,40 \times 10^{-5}$	$4,17 \times 10^4$	$2,59 \times 10^{-5}$	$3,86 \times 10^4$

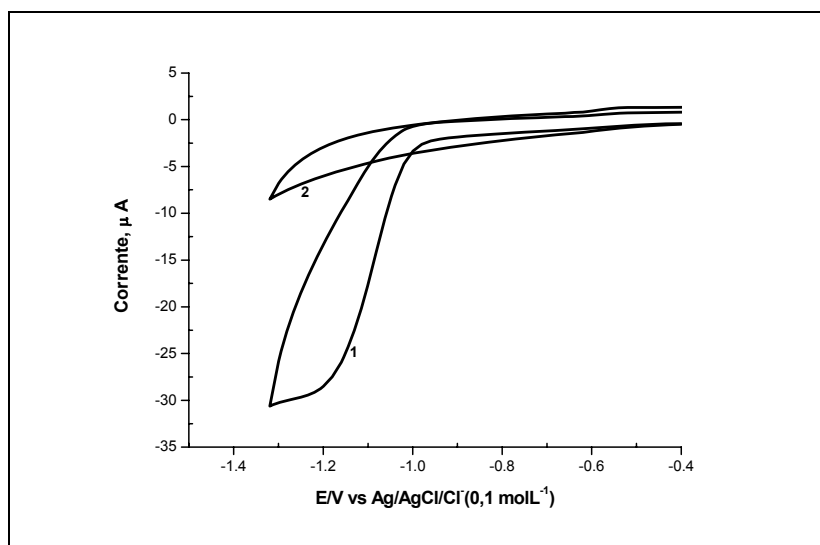
**Tabela 20.** Constante de dissociação e formação do complexo NSAF:β-CD, para 150 min de contato.

NITRO SAFROL	$\lambda = 286 \text{ nm}$		$\lambda = 352 \text{ nm}$	
	$K_D/\text{mol L}^{-1}$	$K_F/\text{mol L}^{-1}$	$K_D/\text{mol L}^{-1}$	$K_F/\text{mol L}^{-1}$
	$1,95 \times 10^{-5}$	$5,12 \times 10^4$	$4,74 \times 10^{-5}$	$2,10 \times 10^4$

## 4.5 Estudo da eletrodegradação do metribuzin e sulfentrazona

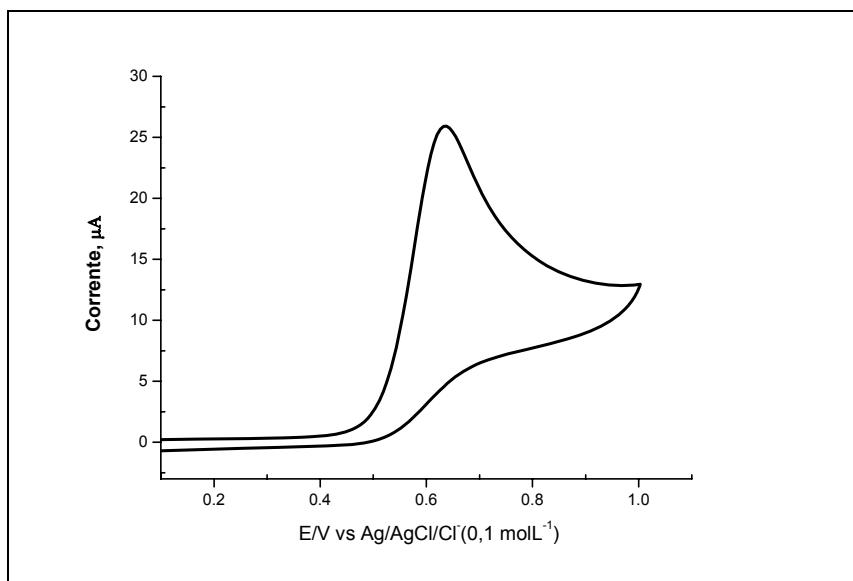
### 4.5.1 Eletrólise do Metribuzin

A eletrólise do MTZ foi conduzida em potencial controlado (-0,85V) em meio misto, tampão fosfato,  $\text{pH}_{\text{ap}} = 5,8$  com 20% de etanol com duração de 4 horas, com consumo de 8,26 mol elétron. Apesar de o sinal eletroquímico estar em aproximadamente -1,2 V, a eletrólise só obteve êxito em -0,85V, em razão de o sinal estar muito próximo do eletrólito suporte gerando interferentes, impedindo assim a diminuição da corrente. Todo o experimento foi monitorado por voltametria cíclica em eletrodo de carbono vítreo e a eletrólise foi interrompida após o desaparecimento do sinal (**Fig. 57**).



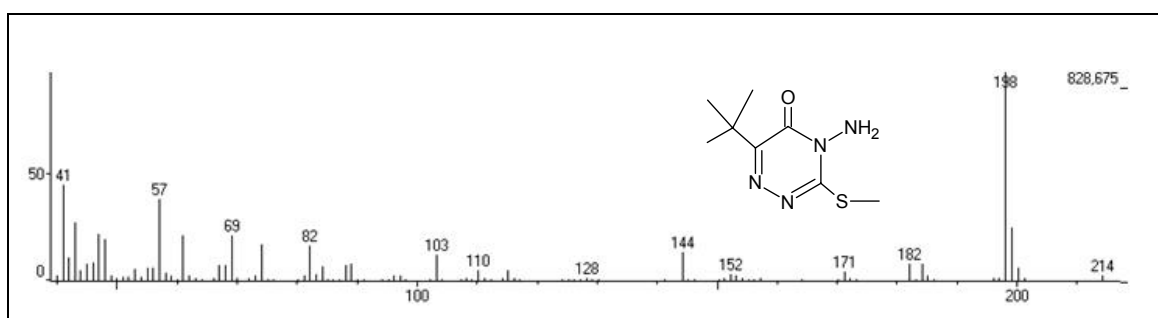
**Figura 57.** (1) VC do MTZ antes da eletrólise,  $c = 2,33 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  tampão fosfato/etanol (1:20)  $\text{pH}_{\text{ap}} = 5,80$ . (2) VC após a eletrólise.

Concomitantemente com a evolução da eletrólise, houve o aparecimento de um sinal na região anódica em aproximadamente 0,6 V (**Fig. 58**). Conforme citado anteriormente, este está associado com a oxidação do metil tiol gerado no processo eletrolítico.

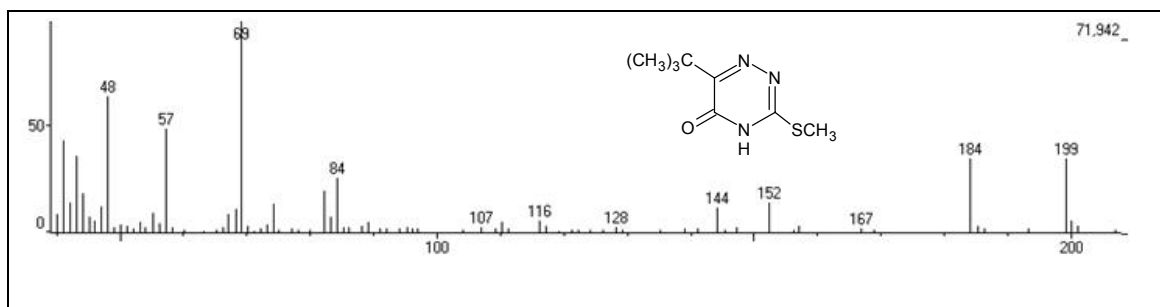


**Figura 58.** VC do produto da eletrólise do MTZ, em varredura na região anódica.

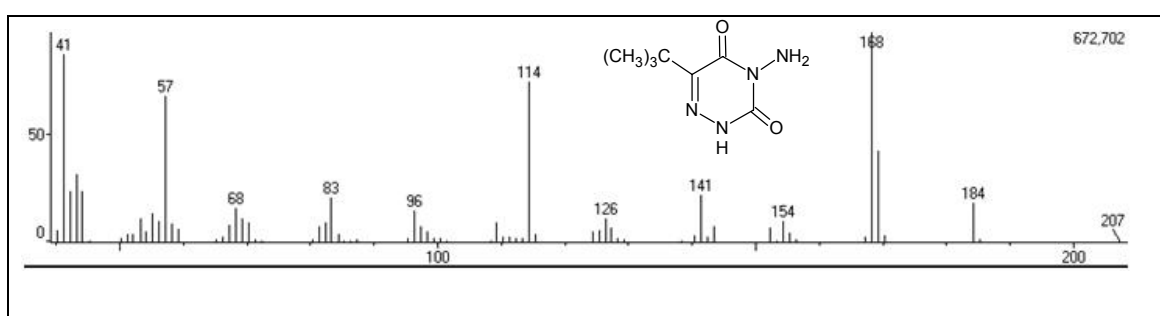
Após a eletrólise, a fase orgânica foi analisada por cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas que revelou, o pico do íon molecular indicativos do MTZ  $[M]^+$  214 uma (**Fig.59**) e três outros produtos de degradação, o DA - desamino metribuzin  $[M]^+$  199 uma (**Fig.60**), DK - diceto metribuzin  $[M]^+$  184 uma (**Fig.61**) e o DADK - desamino diceto metribuzin  $[M]^+$  169 uma (**Fig.62**), estando de acordo com os estudos de caracterização dos metabólitos do MTZ por **ALBRO et al.(1984<sup>b</sup>)**. De acordo com os resultados obtidos acima descritos, obtivemos a mesma rota de degradação por processos microbiológicos do MTZ (**Fig.63**) [**QUESADA-MOLINA et al., 2007**].



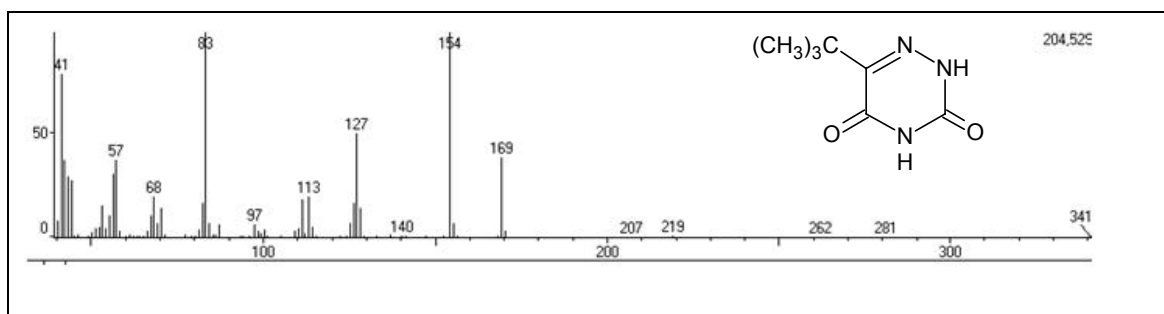
**Figura 59.** Espectro de massas do MTZ



**Figura 60.** Espectro de massas do DA

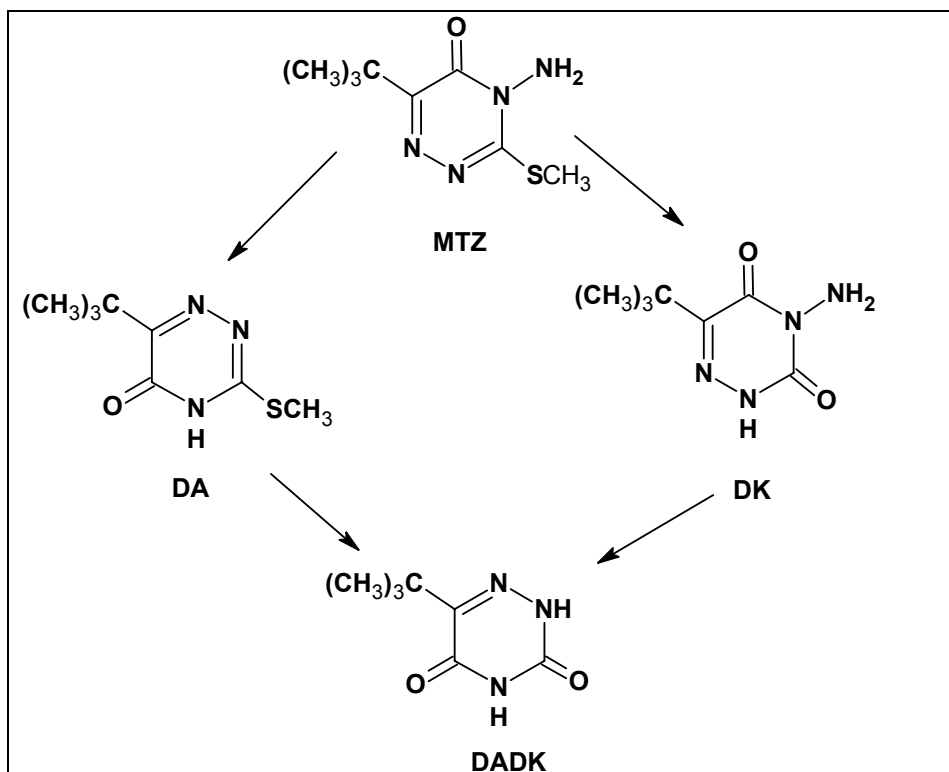


**Figura 61.** Espectro de massas do DK



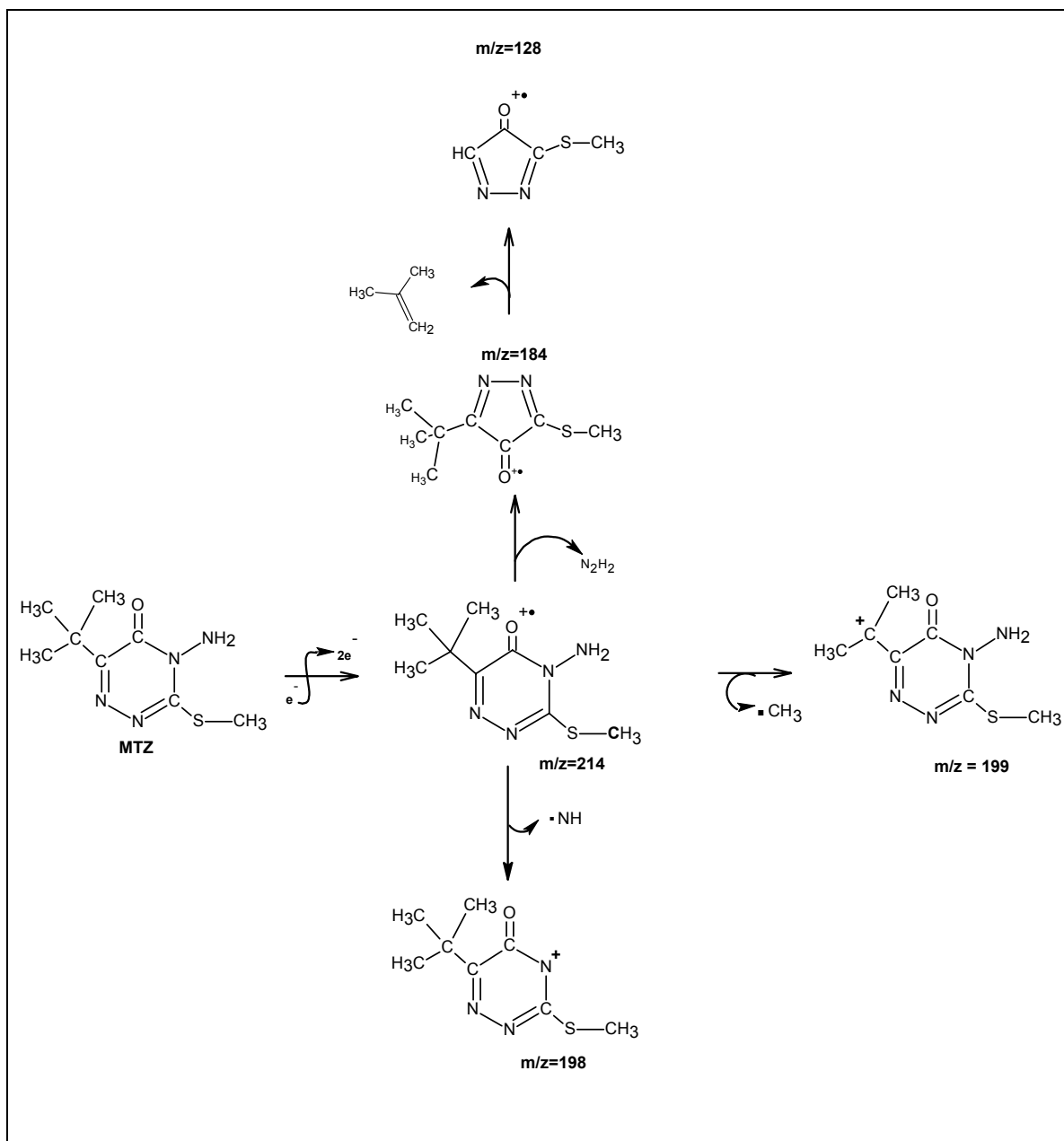
**Figura 62.** Espectro de massas do DADK





**Figura 63.** Rota de degradação do MTZ na eletrólise

Conforme espectro de massas do MTZ (Fig.59, p.80), segue abaixo a interpretação mecânica para os principais picos observados no EM do metribuzin.



**Figura 64.** Interpretação mecânica dos principais picos observados no EM do MTZ.

#### 4.5.2 Eletrólise da Sulfentrazona

Com o objetivo de propor o mecanismo de oxidação eletroquímica, bem como identificar os produtos da oxidação, a eletrólise da STZ ocorreu em potencial controlado (0,85V) em tampão fosfato, pH 7,0 com duração de 6 horas, que consumiu 2,07 elétrons/mol de acordo com a equação de Faraday. Todo o experimento foi monitorado

por carbono vítreo e a eletrólise foi interrompida nas proximidades do desaparecimento do sinal eletroquímico (**Fig.65**).

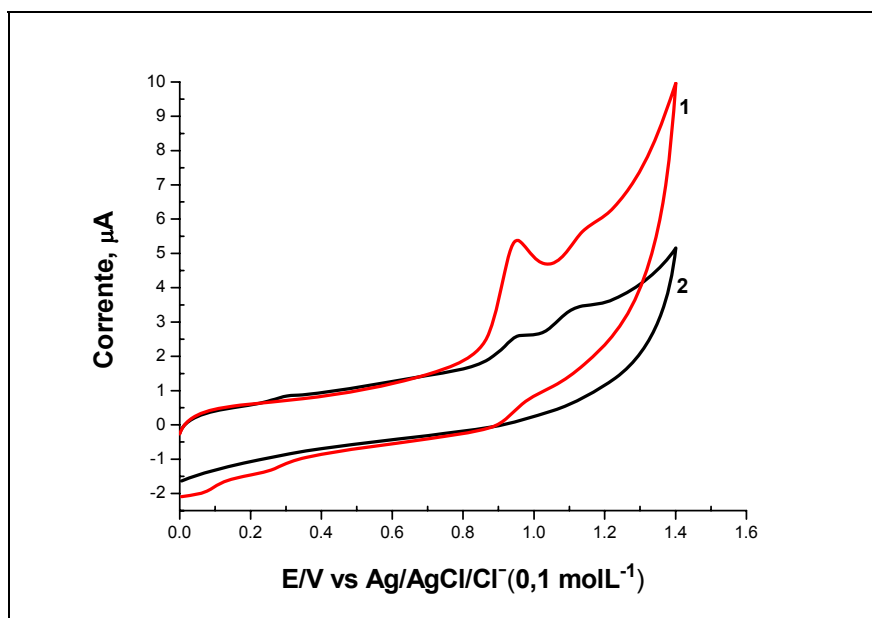
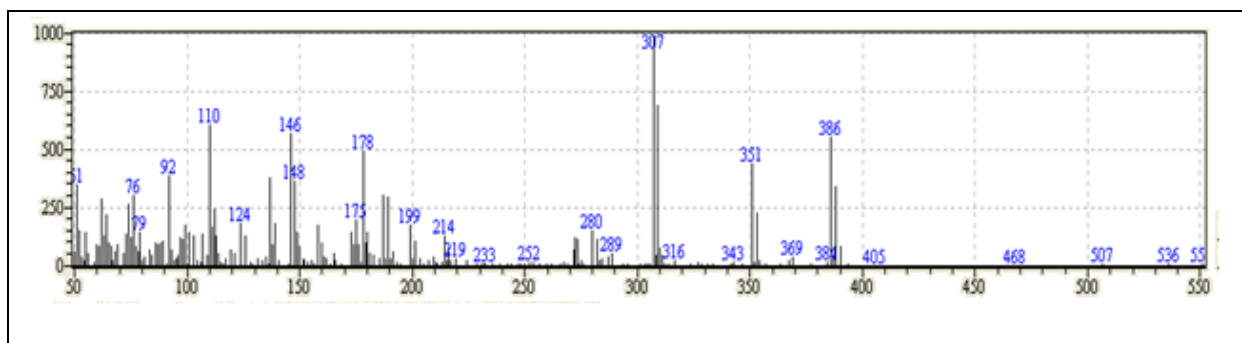


Figura 65. (1) VC da STZ antes da eletrólise,  $c = 1,29 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  tampão fosfato pH= 7,0. (2) VC após a eletrólise.

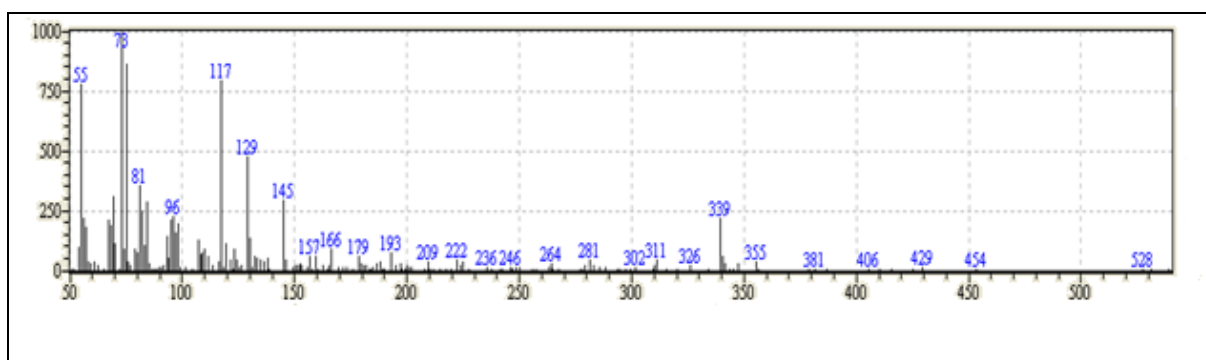
A solução eletrooxidada foi analisada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, que revelou o íon molecular da STZ  $[M]^+$  386 uma (**Fig.66**) e dois outros produtos, o STZP1  $[M+H]^+$  355 uma, *N*-[2,4-dicloro-5[4,5-diidro-3-metil-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il]fenil]metanossulfonamida (**Fig.67**) ou o STZP2 *N*-[2,4-dicloro-5[4,5-diidro-3-metil-3-idroxi-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il]fenil] metanossulfonamida e o STZP3  $[M+H]^+$  313 *N*-[2,4-dicloro-5[4,5-diidro-3-metil-3-idroxi-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-il]fenil]metanossulfonamida (**Fig.68**) pois diferentemente dos metabólitos informados por **DAYAN et al,(1998)** obtidos via degradação microbiológica em que a rota de degradação é por oxidação do grupo metila ligado ao anel triazólico produzindo o 3-hidroximetil-sulfentrazona e o ácido 3-sulfentrazona carboxílico.

O esquema da eletrodegradação da STZ (**Fig. 69**) mostrou que o efeito captodativo estabiliza o cátion radical em N-4 do anel triazínico após a primeira eletrooxidação. A perda do difluorocarbênio é esperada por  $\alpha$  eliminação do íon  $R-C=N^+-CF_2^-$ , visto que o difluorocarbênio é estável, devido à interação dos elétrons dos átomos

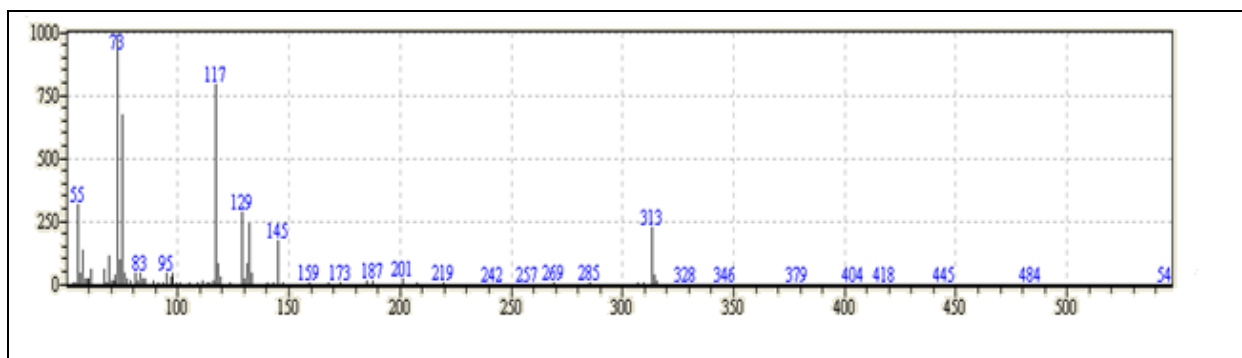
de flúor com o carbono eletrodeficiente [DOLBIER *et al.*, 2004]. Assim, a eletrooxidação da STZ envolve dois elétrons, com reação de hidratação ou oxidação do grupo metil no heterociclo e abertura do anel triazolínico.



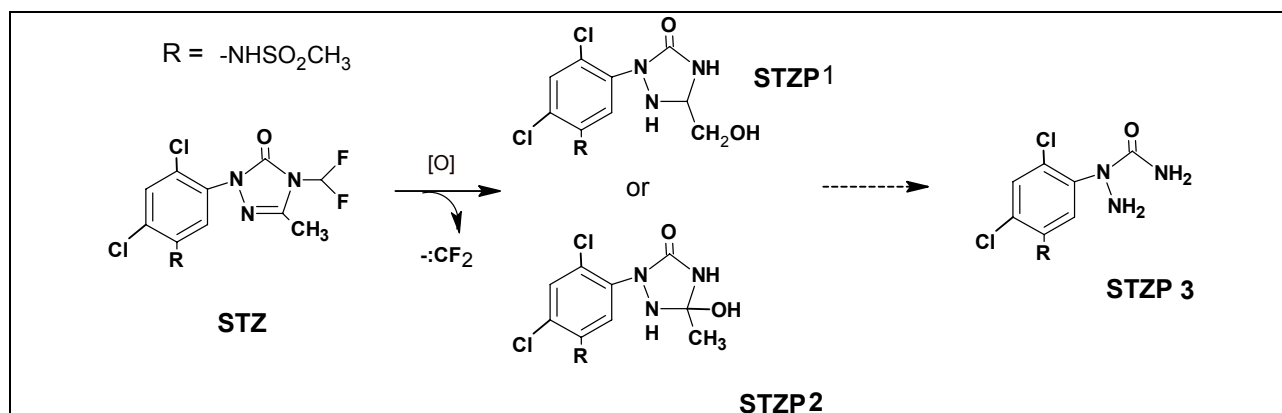
**Figura 66.** Espectro de massas da STZ



**Figura 67.** Espectro de massas da STZP1 ou STZP2



**Figura 68.** Espectro de massas da STZP3



**Figura 69.** Rota de degradação eletrooxidativa da STZ

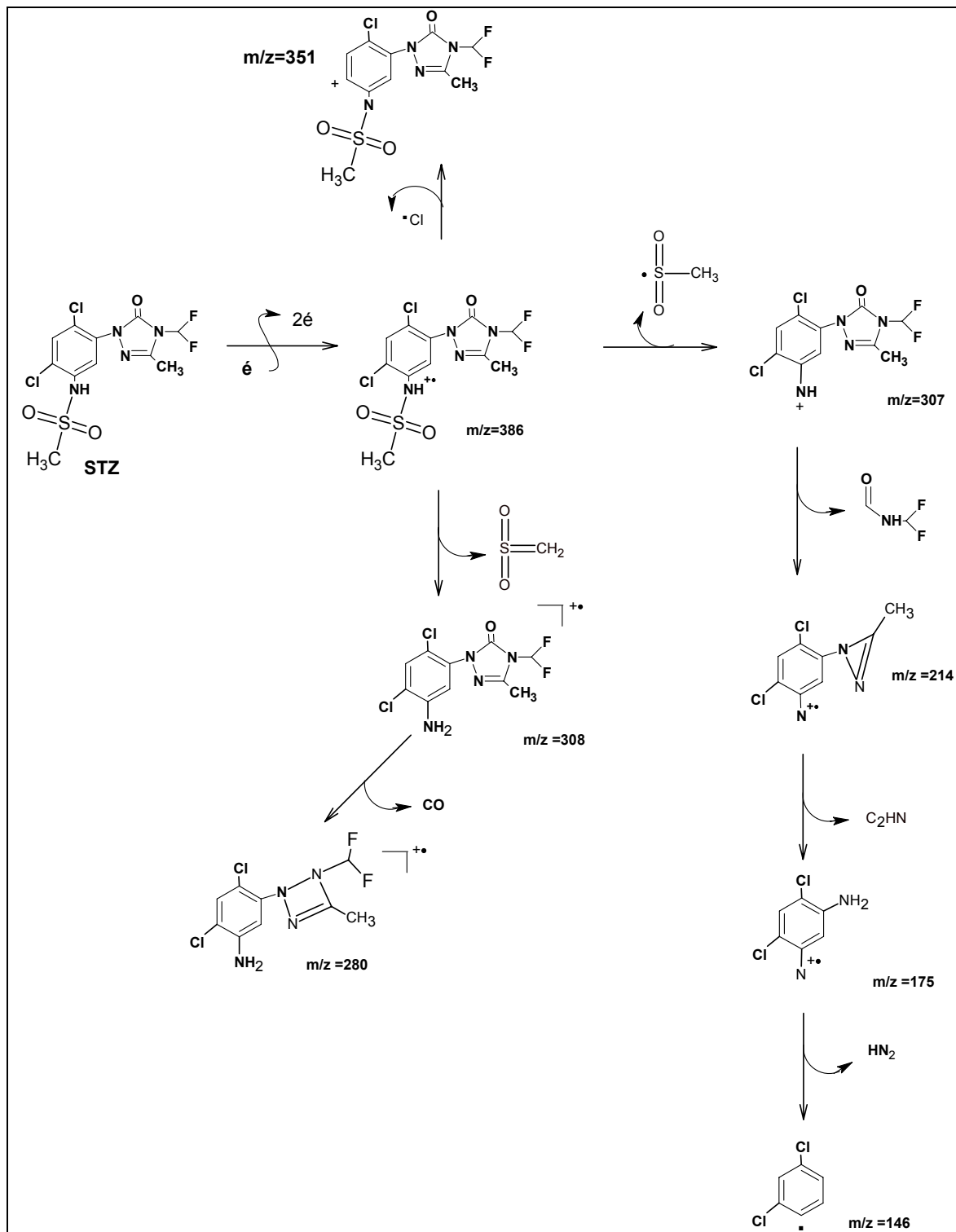
A **Fig.70** mostra a interpretação mecânica dos principais picos observados no EM do STZ.

## 4.6 Estudo da eletrodegradação do MTZ e STZ por eletro-fenton

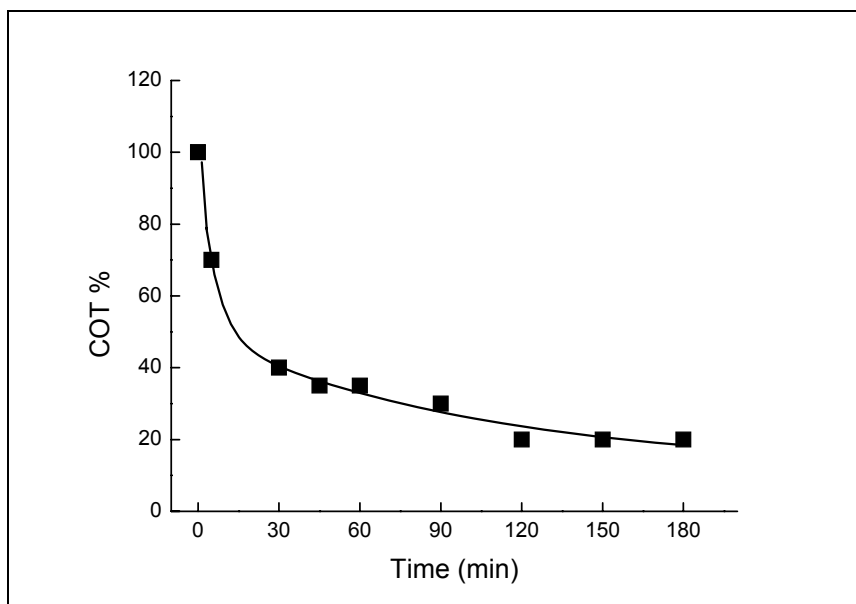
### 4.6.1 Eletro-fenton do MTZ

Segundo **KJAER et al.(2005)**, apenas 10 % do MTZ aplicado na agricultura é mineralizado a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O e **HUERTAS-PÉREZ et al.(2006)** citam que a degradação microbológica em laboratório do MTZ não ultrapassa 20%. Entretanto, a degradação por processos químicos foi estudada por **SCHERER et al.(2004)** utilizando Fenton Anódico com anodo de sacrifício, em que obteve bons resultados, com o desaparecimento do MTZ em 12,5 minutos. Com o objetivo de estudar a eletrodegradação do MTZ, optou-se pelo método eletro-fenton por tratar-se de uma técnica limpa, de baixo custo e de fácil operação. Como o MTZ tem os heteroátomos Nitrogênio e Enxofre, sua mineralização além de produzir CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, possivelmente deve produzir ácidos inorgânicos como NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [**PIGNATELLO et al., 2006**]. Os produtos foram analisados por TOC e por espectroscopia na região do UV-VIS, em que os resultados obtidos foram considerados satisfatórios. O TOC foi rapidamente removido nos primeiros 30 minutos, atingindo 80% em 120 minutos (**Fig.71**); as análises espectroscópicas (**Fig.72**) mostraram o desaparecimento do

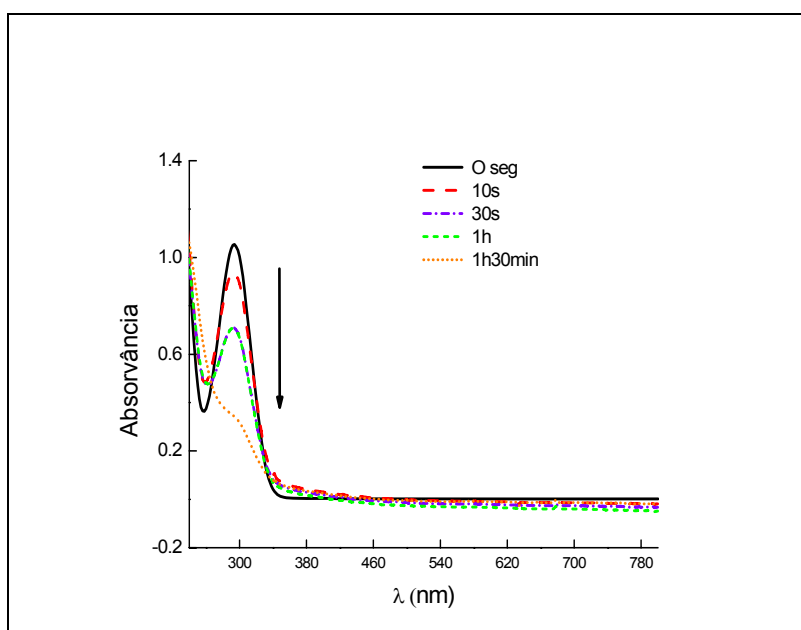
cromóforo a partir dos 90 minutos, corroborando com o sucesso do estudo e a eficiência da técnica.



**Figura 70.** Interpretação mecânica dos principais picos observados no EM do STZ.



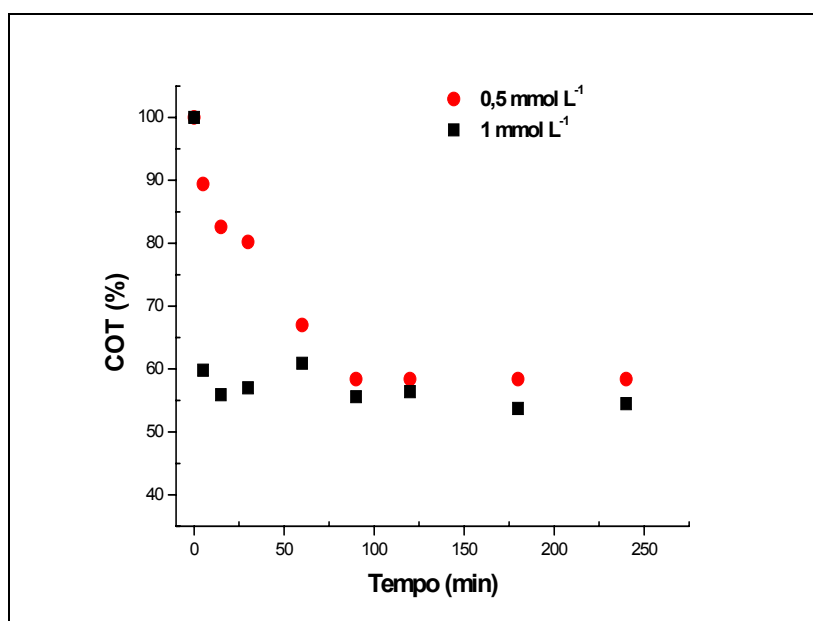
**Figura 71.** Eficiência da remoção de carbono orgânico total “COT” do metribuzin [MTZ] =  $4,66 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ; [sal de Mohr] =  $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , pHi = 3,0.



**Figura 72.** Espectro UV-VIS do MTZ durante o processo Electro-Fenton

#### 4.6.2 Eletro-fenton da STZ

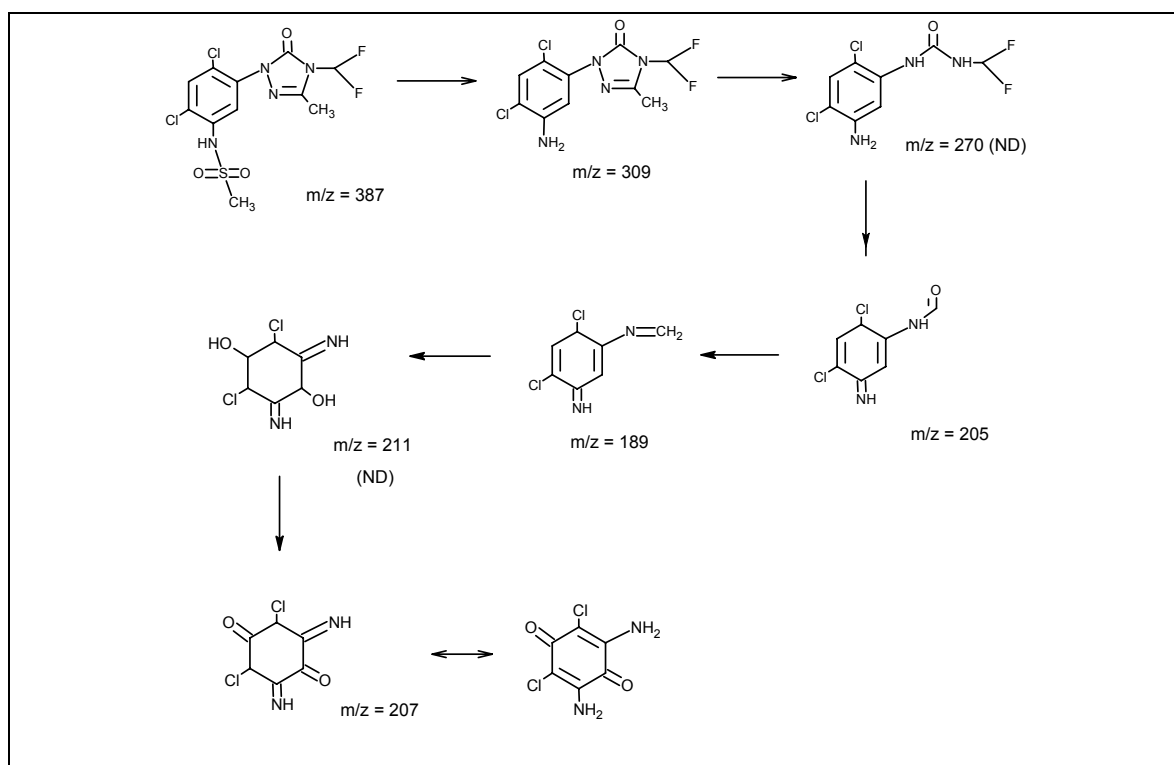
Os estudos da eletrodegradação da Sulfentrazona foram feitos por eletro-fenton em que foram otimizadas as concentrações do sal de Mohr. Inicialmente utilizou-se  $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  com uma redução do teor de carbono de aproximadamente 55%, em 90 minutos; e ao utilizar  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  obteve-se 40% de redução de carbono em 5 minutos, revelando a consistência do experimento e a eficiência do método (**Fig.73**). Na mineralização da STZ, possivelmente houve produção de intermediários originários do anel aromático, como ácidos carboxílicos de cadeia curta, a saber, ácido maleico, fumárico, oxálicos até a formação de  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Também há a formação de ácidos inorgânicos, como  $\text{HCl}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{HF}$  em virtude da presença de heteroátomos na molécula STZ (Cl, N, S e F) [**BRILLAS et al., 2009**]. Ressalte-se que até o presente momento não há registro de estudos da degradação da STZ por processos químicos.



**Figura 73.** Eficiência da remoção de carbono orgânico total “COT” da sulfentrazona [STZ] =  $2,58 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$   $\text{pHi} = 3,0$ ;  $t = 0$  a 240 min.



Tendo em vista que o método eletro-Fenton mineralizou 55% da STZ, objetivou-se estudar uma possível rota de degradação. O radical gerado hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ) ataca a molécula em várias posições, gerando vários produtos conforme **Fig. 74**. A estrutura destes compostos foi proposta com base nos espectros de massa e com suas correspondentes fragmentações. Há quebra no grupo sulfonamida, gerando o composto com  $m/z$  309. O ataque no anel triazolinico, conduziu aos compostos com  $m/z$  205, 189 e 207. A oxidação no anel benzenóide substituído foi também observada, produzindo derivados benzoquinonicos, com  $m/z$  207 uma.



**Figura 74.** Possível rota para degradação da STZ por processo eletro-Fenton.

#### 4.7 Estudo da citotoxicidade da STZ e dos produtos da eletrólise.

Os resultados dos testes de atividade citotóxica utilizando a Sulfentrazona e os produtos da eletrólise, podem ser observados na **tabela 21** em que revela ambos os substratos não são tóxicos em células epiteliais da córnea de ovinos.

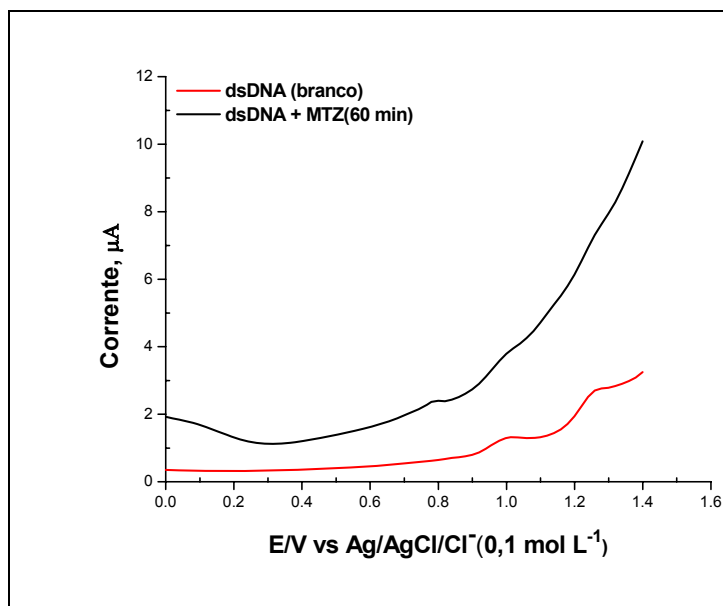
**Tabela 21.** Resultado da citotoxicidade da STZ e dos produtos da eletrólise pelo teste de exclusão do Azul de tripan ( $c = 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

Substâncias	Concentração do solvente	Toxicidade (%)
STZ	EtOH 2%	$4.34 \pm 1.91$
Produtos da eletrólise da STZ	EtOH 2%	$4.47 \pm 1.58$

## 4.8 Estudo da interação de MTZ, STZ, SAF e NSAF com dsDNA e ssDNA

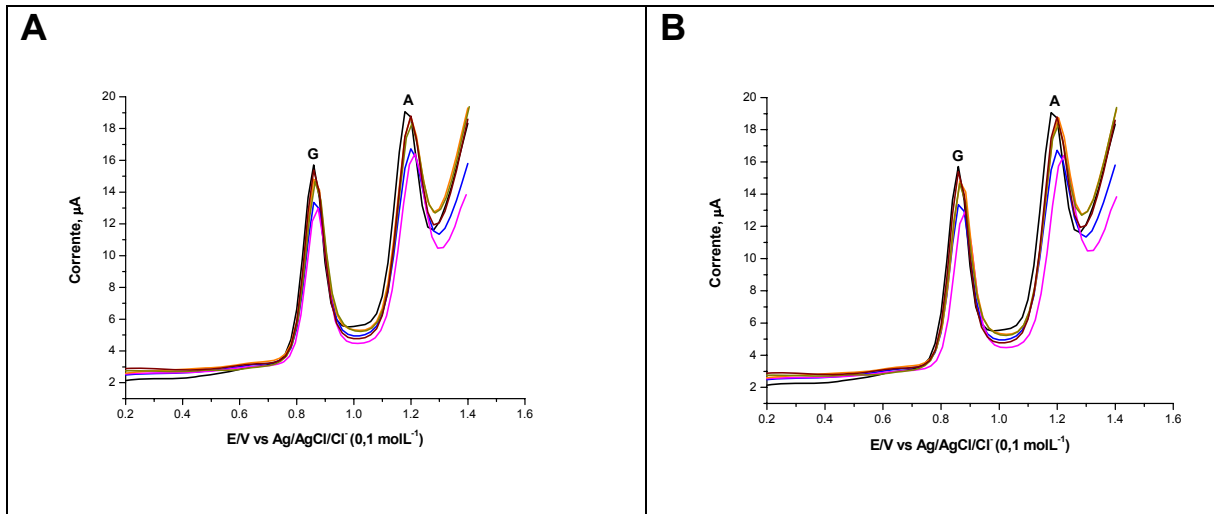
### 4.8.1 Interação do MTZ com dsDNA e ssDNA

O biossensor dsDNA esteve em contato com a solução de MTZ por um período de 60 minutos; em seguida foi feita a varredura na região anódica. Conforme a **Fig. 75**, observa-se que não houve mudança no comportamento voltamétrico do biossensor, pois não revelou aumento dos sinais das nucleobases, revelando assim que não houve interação com o dsDNA.



**Figura 75.** VPD do MTZ em biossensor de dsDNA na presença do MTZ,  $2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>.

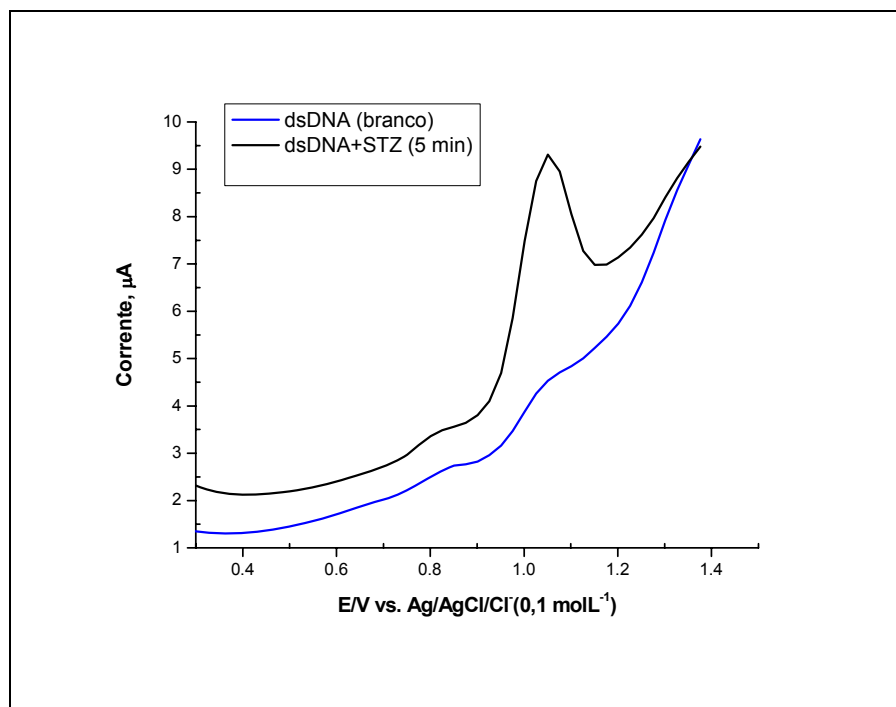
Quanto aos estudos de interação do MTZ com a solução ssDNA, os sinais característicos da oxidação das bases guanina (G) e adenina (A) ( $E_{p_a} = +0,86V$  e  $E_{p_a} = +1,18V$ ) foram intensos e definidos. A análise da interação das bases do ssDNA com o MTZ pode ser avaliada por meio da adição de alíquotas da substância a solução de DNA, em que foi observada uma pequena redução dos sinais de oxidação das bases com a adição do MTZ (**Fig. 76A**). Com o condicionamento ( $E = -1,0 V$ ,  $t_a = 30 s$ ) também houve uma discreta diminuição no comportamento voltamétrico das bases (**Fig. 76B**) bem como o desaparecimento do sinal da oxidação do metil tiol. A ausência do pico pode estar associada à formação de aduto com a nucleobase sem comprometimento da oxidação das bases. A pouca interação entre as bases do DNA com o MTZ, corrobora os estudos de **CLEMENTS et al.(1997)**, que estudou a genotoxicidade do MTZ usando o 'teste do cometa' em girinos no qual os resultados revelaram fraca toxicidade no anfíbio.



**Figura 76.** VPD do MTZ em diferentes concentrações em tampão acetato (desnaturação da solução dsDNA em pH 4,5) na presença  $4 \times 10^{-5}$ ,  $6 \times 10^{-5}$ ,  $8 \times 10^{-5}$  e  $2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> do MTZ. (A) VPD na região anódica (B) VPD do MTZ na região anódica com  $t_a = 30$  s e  $E_{ap} = -1,0$  V.

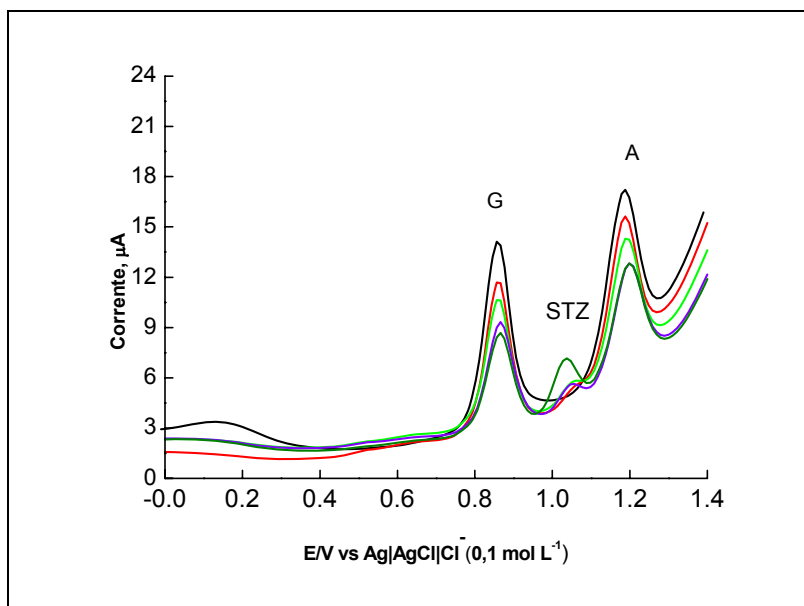
#### 4.8.2 Estudo da interação da STZ com dsDNA e ssDNA

A literatura contém várias informações sobre a genotoxicidade da STZ. **CASTRO et al.,(2007)** estudaram os efeitos na gestação de ratos expostos a STZ, do ponto de vista físico e neuro viral utilizando o teste do cometa, no qual usou leucócitos da mãe e dos filhotes, em que os resultados não mostraram toxicidade pelo herbicida. Entretanto, nosso estudo descreve os efeitos da STZ em sensor de dsDNA e em solução de ssDNA. O Voltamograma de pulso diferencial da oxidação da STZ utilizando o biossensor de DNA não mostrou nenhuma interação com o DNA (**Fig. 77**), pois não houve mudanças nos sinais das bases de DNA após a varredura anódica. Somente a pré-concentração da STZ foi observada e o pico da intensidade de corrente manteve-se constante após 5 minutos.



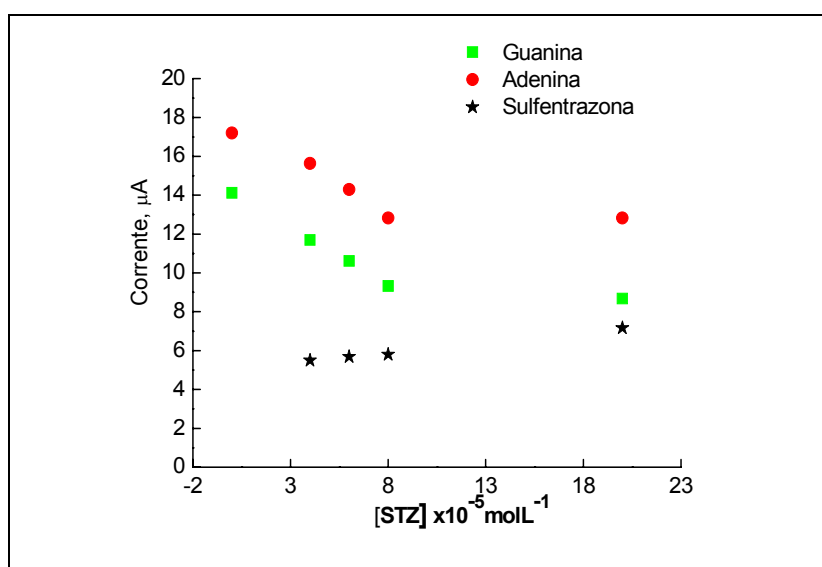
**Figura 77.** VPD da STZ em biossensor de dsDNA na presença da STZ,  $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

Entretanto, os estudos das bases em solução, evidenciaram a interação entre ssDNA e a STZ, haja vista a modificação do perfil voltamétrico das bases (poli-guanina e poli-adenina) com a adição de alíquotas da solução da STZ. O VPD do ssDNA em eletrodo de carbono vítreo (**Fig. 78**) mostrou o decréscimo na corrente de pico nos sinais das bases, sugerindo interação com as mesmas. No ssDNA, estas bases estão mais expostas e suscetíveis a interação ou reações.



**Figura 78.** VPD da eletrooxidação das bases guanina e adenina em tampão acetato (desnaturação da solução dsDNA em pH 4,5) na presença de  $4 \times 10^{-5}$ ,  $6 \times 10^{-5}$ ,  $8 \times 10^{-5}$  e  $2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> da STZ.

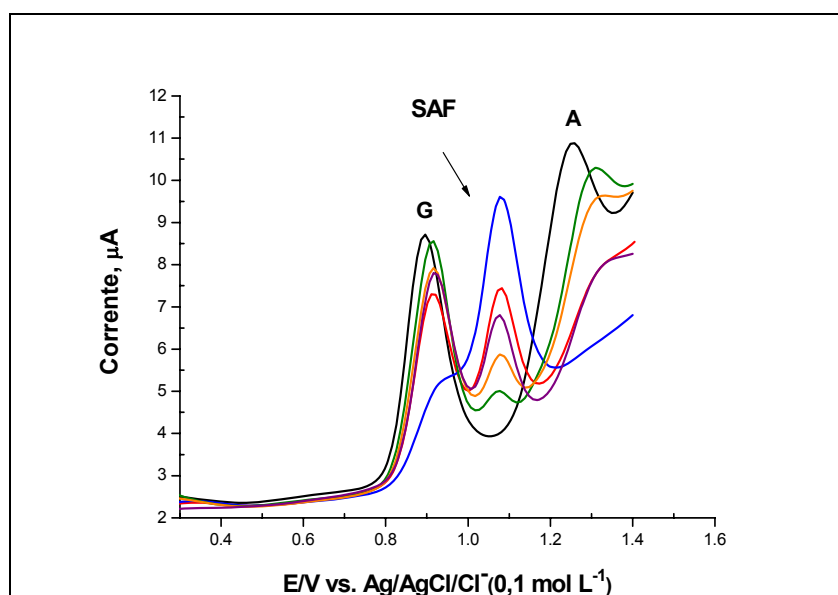
Esta interação pode ser monitorada através do pico da oxidação da STZ, que se comportou linearmente com a concentração, mostrando que não houve bloqueio na superfície do eletrodo após a oxidação da guanina (**Fig. 79**).



**Figura 79.** Gráfico da corrente de pico da oxidação da guanina e adenina vs. [STZ].

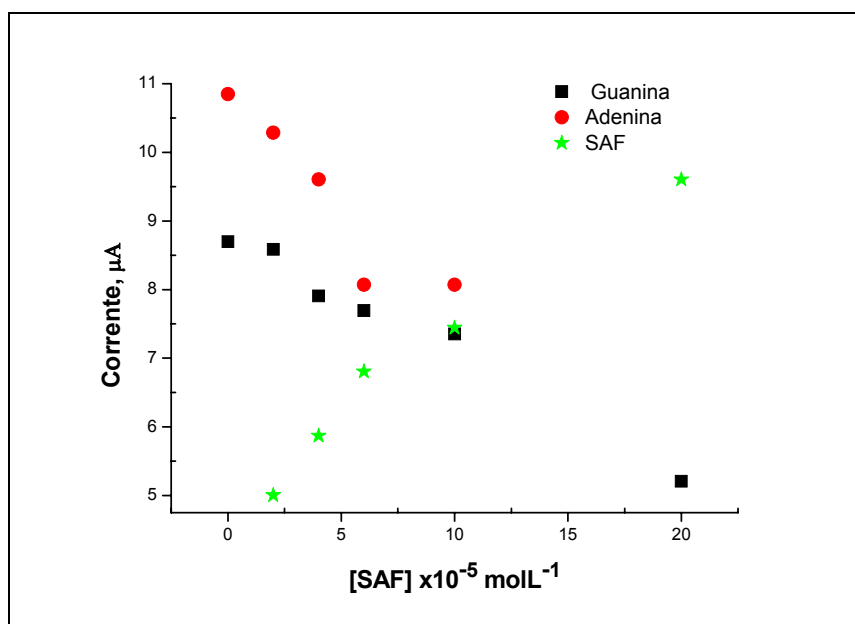
### 4.8.3 Estudo da interação do SAF com dsDNA e ssDNA

A caracterização das bases da solução ssDNA revelaram sinais de oxidação das bases Guanina(G) e Adenina(A) em potenciais 0,89 V e 1,24 V respectivamente. Após a adição das alíquotas do safrol, observamos o aparecimento do sinal eletroquímico do mesmo, com bastante linearidade com a concentração e a diminuição da intensidade de corrente de pico das bases (**Fig.80**). Comparando com a guanina(G), há uma grande variação da corrente de pico da adenina (A) com deslocamento para potenciais mais positivos com o completo desaparecimento do referido sinal, mostrando assim uma interação preferencial desta base com o safrol. Esse resultado corrobora os estudos de interação do safrol com o DNA, haja visto o safrol causar carcinogênese hepática em roedores, e essa toxicidade esta associada à formação de adutos com o DNA [**CHUNG et al., 2008**].



**Figura 80.** VPD da eletrooxidação das bases guanina e adenina em tampão acetato (desnaturação da solução dsDNA em pH 4,5) na presença de  $4 \times 10^{-5}$ ,  $6 \times 10^{-5}$ ,  $7 \times 10^{-5}$ ,  $8 \times 10^{-5}$  e  $2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> da STZ.

A **Fig. 81** mostra o perfil das bases e o do pico da oxidação do SAF, que se comportou linearmente com a concentração, mostrando que não houve bloqueio na superfície do eletrodo após a oxidação da guanina.

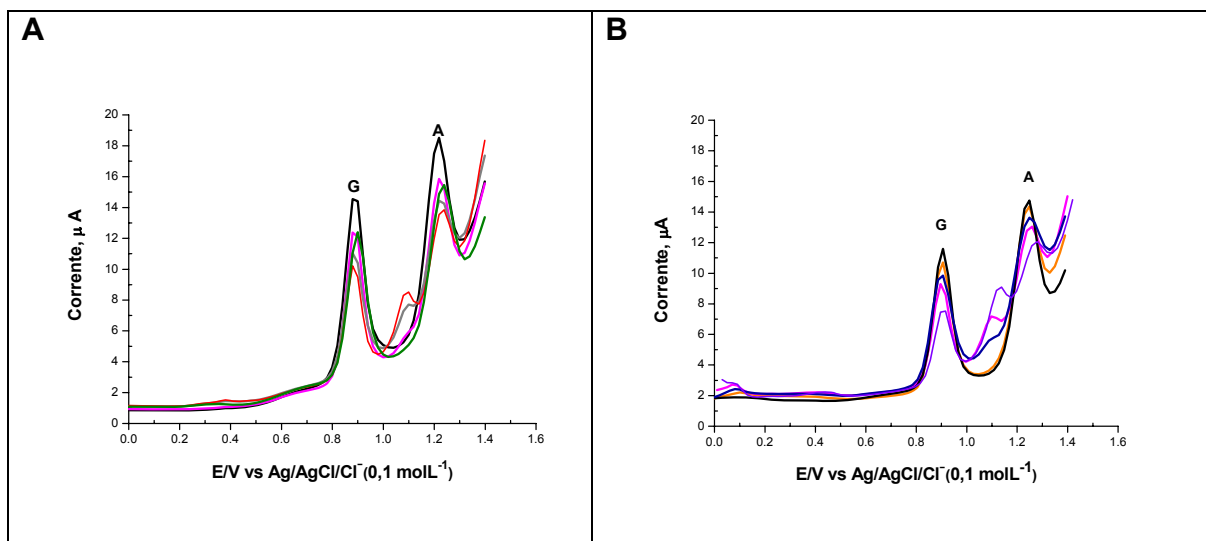


**Figura 81.** Gráfico da corrente de pico da oxidação da guanina e adenina vs. [SAF].

#### 4.8.4 Estudo da interação do NSAF com dsDNA e ssDNA

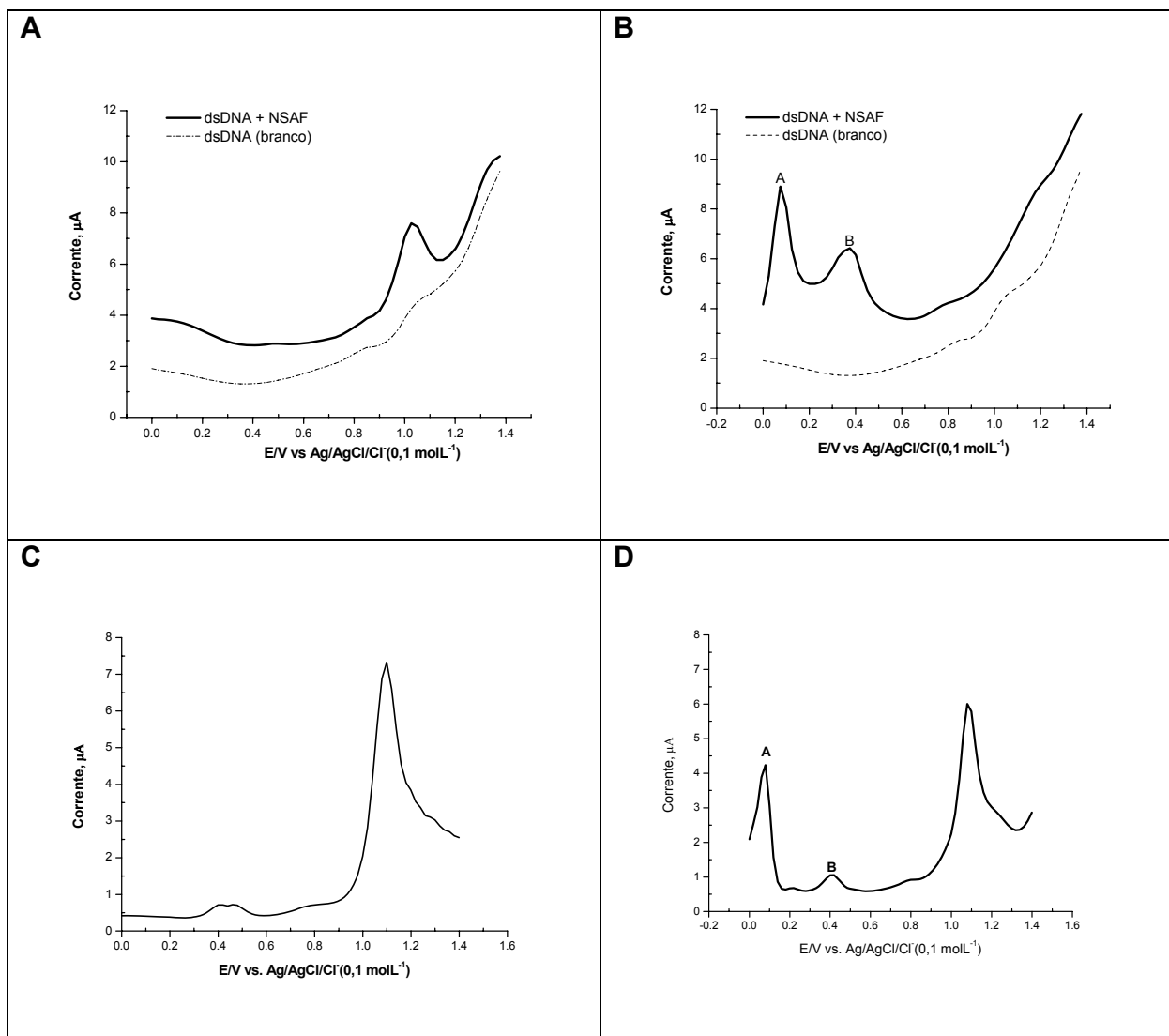
Os estudos de interação do nitrossafrol com o ssDNA foram feitos em condições eletroquímicas diferentes: sem condicionamento e com condicionamento. Observa-se que os sinais de oxidação das bases Guanina (G) e Adenina (A) estão bem definidos e caracterizados. Com as adições das alíquotas do nitrossafrol, obteve-se o aparecimento do sinal eletroquímico da substância e diminuição das bases (**Fig. 82A**), quando o nitrossafrol é submetido ao condicionamento com tempo de 120 segundos em potencial de -0,6 V (**Fig. 82B**) observamos discreta mudança no comportamento voltamétrico das bases e o aparecimento do sinal da hidroxilamina em E = +0,08V.



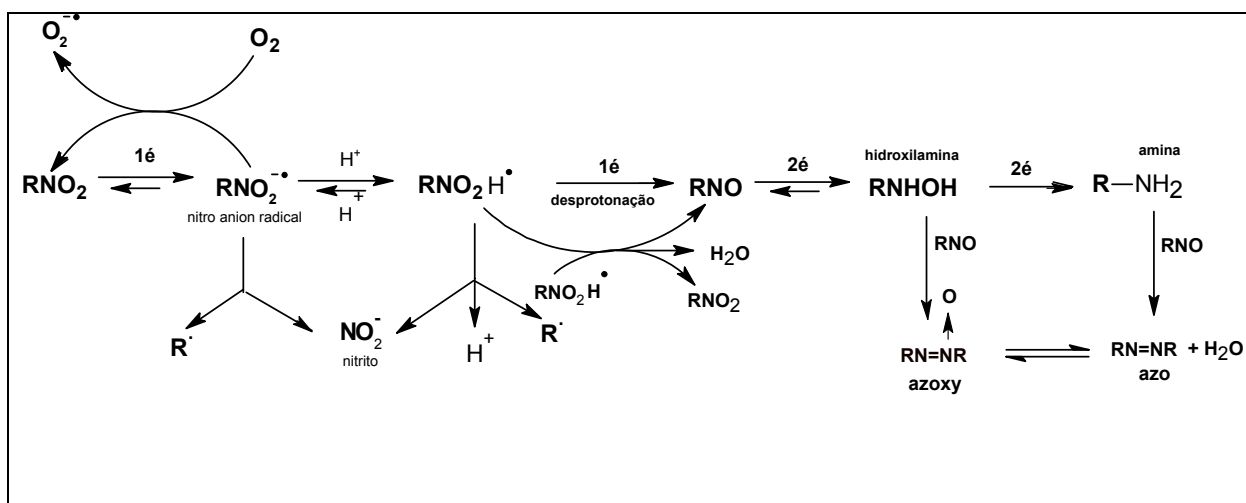


**Figura 82.** VPD da eletrooxidação das bases guanina e adenina em tampão acetato na presença  $4 \times 10^{-5}$ ,  $6 \times 10^{-5}$ ,  $8 \times 10^{-5}$  e  $2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> do NSAF (A) Nitrossafrol sem condicionamento (B) Nitrossafrol com tempo de condicionamento de 120 s e potencial de -0,6 V.

A **Fig. 83A** mostra o comportamento do biossensor dsDNA em contato com a solução do nitrossafrol, em que não há mudança no comportamento voltamétrico do sinal da base guanina, entretanto não podemos avaliar o comportamento da adenina, por coincidir com o sinal eletroquímico do nitrossafrol com a referida nucleobase. Entretanto, quando o NSAF é condicionado a um potencial de -0,6 V por um período de 120 segundos, houve o aparecimento do sinal da hidroxilamina, seguido de outro sinal referente ao composto azoxi ou azo (**Fig. 83B**) conforme previsto no esquema de redução de nitrocompostos (**Fig. 84**). Este comportamento do biossensor com o NSAF corrobora o estudo em eletrodo de CV no mesmo meio conforme a **Fig. 83 C e D**.



**Figura 83.** VPD de NSAF em tampão acetato pH 4,5,  $c = 2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  na região anódica (A) varredura com biossensor de dsDNA (B) varredura com biossensor de ds DNA,  $t_a = 120 \text{ s}$  e  $E_{ap} = -0,6 \text{ V}$  (C) varredura em eletrodo de CV (D) varredura em eletrodo de CV,  $t_a = 120 \text{ s}$ .



**Figura 84.** Esquema da redução de nitrocompostos aromáticos [adaptado, TOCHER, 1997].

## 5 CONCLUSÕES

⇒ O estudo eletroquímico do MTZ, utilizando eletrodo de CV revelou um pico anódico no qual foi observado após a eletrorredução do metribuzin, este sinal foi utilizado para estudos de quantificação do MTZ por “stripping” anódico em diversos sensores, como CV, PC/nujol e PC/óleo de mamona, sendo esse último o que obteve melhor resultado com LD =  $1,248 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>.

⇒ A eletrólise exaustiva do MTZ levou a formação de três produtos, o DA, DK e o DADK, iguais produtos obtidos pela degradação microbiológica.

⇒ O estudo eletroquímico da STZ, em eletrodo de CV, revelou uma onda anódica de caráter irreversível, seguida de outra onda mal definida, que não foi objeto de estudo. Os estudos de quantificação foram feitos em eletrodos de CV e CV/NTC, em que esse último apresentou melhor resultado com LD =  $2,70 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>.

⇒ A eletrólise do STZ consumiu 2,05 F mol L<sup>-1</sup> e a análise reacional revelou três produtos: STZP1 ou STAP2 e STZP3, sugerindo a rota eletrodegradativa com perda do difluor carbeno, com reação de hidratação ou oxidação do grupo metil no heterociclo e abertura do anel triazólico.

⇒ O processo oxidativo por eletro-fenton para o MTZ e STZ, mostrou-se satisfatório, em que obtivemos 80% de mineralização em 120 min para o MTZ e 60% nos primeiros 5 min para o STZ, mostrando a eficiência do método para a degradação de ambos os herbicidas.

⇒ O comportamento eletroquímico do SAF e NSAF foram estudados em eletrodo de CV, em que foi observada uma onda anódica de caráter irreversível para o SAF. Para o NSAF, foi observado uma onda de redução irreversível, e um pico anódico correspondente à oxidação do grupo hidroxilamínico, seguido de um pequeno sinal, que sugere a formação do grupo azoxi ou azo, gerado na varredura catódica. Outro sinal anódico foi também observado associado à oxidação da olefina terminal.

⇒ A quantificação do SAF e NSAF foi estudada nos sensores de CV, CV/NTC, CV/NTC/  $\beta$ -CD em que o SAF obteve melhor resultado com o sensor CV/NTC com  $LD = 0,869 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  e para o NSAF a melhor resposta foi com o eletrodo modificado CV/NTC/  $\beta$ -CD com  $LD = 0,231 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ .

⇒ Os estudos de interação do SAF e NSAF com a  $\beta$ -CD utilizando a técnica de UV-VIS, evidenciaram a formação do complexo de inclusão com ambos os substratos, no qual foi obtido a constante de formação de  $4,14 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$  e  $5,12 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$  para o SAF e NSAF respectivamente.

⇒ A análise do comportamento de  $E_{pc}$  para os valores de pH estudado, através da VPD, revelou através da curva pH vs.  $E_{pc}$  os valores de  $pK_a$  1,0; 6,26; 10,5 e 8,6 para o MTZ, STZ, SAF e NSAF, respectivamente.

⇒ O comportamento eletroquímico do MTZ, STZ, SAF e NSAF em biossensor dsDNA incorporado na superfície do eletrodo de CV, não mostrou mudanças no voltamograma das bases, revelando que não houve interação com as substâncias em estudo.

⇒ O estudo eletroquímico do MTZ, utilizando a VPD em presença de ssDNA em solução, mostrou discreta mudança no comportamento voltamétrico, sugerindo pouca interação com as bases púricas, entretanto para o STZ, SAF e NSAF quando estiveram em contato com a referida solução, provocaram mudanças significativas nos sinais das bases, indicando forte interação com o DNA.

## 6 PERSPECTIVAS

Este trabalho proporcionou o aprendizado de técnicas eletroquímicas, desenvolvimento de sensores e técnicas de eletrodegradação, servindo como suporte para alguns trabalhos a serem desenvolvidos na COMPESA – Companhia Pernambucana de Saneamento. Tais como:

Desenvolver sensores eletroquímicos para o monitoramento de pesticidas nos mananciais que estão sob a responsabilidade da empresa.

Estudar novos adsorventes para pesticidas na composição de leitos filtrantes.

Elaboração do artigo sobre estudos eletroanalíticos do safrol e nitrosafrol e interação com o DNA.

Promover cooperação com o Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Unidade Serra Talhada) para estudos de detecção e degradação de pesticidas utilizados na região.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDESSALEM, A.K.; BELLAKHALN.; OTURAN, N.; DACHRAOUI M.; OTURAN, M.A. Treatment of a mixture of three pesticide by photo- and electro-Fenton processes. *Dessalination* 250, **2010**, 450.

ALÁRCON-ANGELES, G.; PÉREZ-LÓPEZ, B.; PALOMAR-PARDAVE, M.; RAMÍREZ-SILVA, M.T.; ALEGRET, S.; MERKOÇI, A. enhanced host-guest electrochemical recognition of dopamine using cyclodextrin in the presence of carbon nanotubes. *Carbon* 46, **2008**, 898.

ALBRO, P. W.; PARKER, C.E.; ABUSTEIT, E.O.; MESTER, T.C.; HASS, J.R.; SHELDON, Y.S.; CORBIN, F.T. Determination of the pKa values of metribuzin and three of its metabolites: A comparasion of spectrophotometric and potentiometric methods. *J. Agric. Food Chem.* 32, **1984<sup>a</sup>**, 212.

ALBRO, P. W.; PARKER, C.E.; MARBURY, G.D.; HERNANDEZ, O.; CORBIN, F.T. Spectrometric characterization of metribuzin and its metabolites. *J. Applied Spectroscopy.* 38 (4) **1984<sup>b</sup>**, 556.

BACHEGA, T.F.; PAVANI, M.C.M.D.; ALVES, P.L.C.A.; SALES, L.P.; BOSCHIEIRO, M.; Lixiviação de sulfentrazone e amicarbazone em colunas de solo com adição de óleo mineral. *Planta Daninha, Viçosa-MG*, 27, 2, **2009**, 363.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. A utilização do safrol, principal componente químico do óleo de sassafráz, na síntese de substâncias bioativas na cascata do ácido araquidônico: antiinflamatórios, analgésicos e anti-trombóticos. *Quím. Nova.* 22 (5), **1999**, 1.

BRETT, A.M.C.; BRETT, A.M.O. *Electroanalysis*. 1ª Ed., United States, Editora Oxford, **1998**, 63.

BRILLAS, E.; SIRÉS, I.; OTURAN, M.A. Electro-fenton process and related electrochemical technologies based on fenton's reaction chemistry. *Chemical Reviews*. 109 (12), **2009**, 6570.

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. *Eclética Química*, 28 (2) **2003**.

CASTRO, V.L.L.; DESTEFANI, C. R.; DINIZ, C. Evaluation of neurodevelopmental effects on rats exposed prenatally to sulfentrazone. *Neuro Toxicology* 28, **2007**, 1249.

CHEN, W.S.; LIANG, J.S. Decomposition of nitrotoluenes from trinitrotoluene manufacturing process by Electro-Fenton oxidation. *Chemosphere* 72, **2008**, 601.

CHUNG, Y.; CHEN, C.; WU, C.; CHAN, S.; CHI, C.; LIU, T. Safrole –DNA adduct in hepatocellular carcinoma associated with betel quid chewing. *Toxicology Letters* 183, **2008**, 21.

CLEMENTS, C.; RALPH, S.; PETRAS, M. Genotoxicity of select herbicides in *Rana Catesbeiana* tadpoles using the alkaline single-cell gel DNA electrophoresis (Comet) assay. *Environ. and Molec. Mutagen.* 29, **1997**, 277.

COUTINHO, C.F.B.; TANIMOTO, S.T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G.S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R.B.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, S.A.S. Pesticidas: Mecanismo de ação, degradação e toxicidade. *Pesticidas: r. ecotox. e m. amb.*, 15, **2005**, 65.

COSTA, C.O.; DE SOUZA, A.A.; LUZ, R.C.S.; LEMOS, T.L.G.; PESSOA, O.D.L.; KUBOTA, L.T.; GOULART, M.O.F. Electrochemical determination of oncocalyxone A



using na iron-phthalocyanine/iron-porphyrin modified glassy carbon electrode. J. Braz. Chem. Soc. 14 (4), **2008**, 697.

COSTA, P.R.R. Safrol e eugenol : Estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. Quím. Nova, 23 (3) **2000**, 357.

DAYAN, F.E.; ARMSTRONG, B.M.; WEETE, J.D. Inhibitory activity of sulfentrazone and Its metabolites derivatives on Soybean (*Glycine max*) protoporphyrinogen oxidase. J. Agric. Food Chem. 46, **1998**, 2024.

DE ABREU, F.C.; DE PAULA, F.S.; FERREIRA, D.C.M.; NASCIMENTO, V.B.; SANTOS, A.M.C.; SANTORO, M.M.; SALAS, C.E.; LOPES, J.C.D.; GOULART, M.O.F. The application of DNA-biosensors and differential scanning calorimetry to the study of the DNA-binding agent berenil. Sensors, 8, **2008**, 1519.

DE ABREU, F.C.; GOULART, M.O.F.; BRETT, A.M.O. Detection of the damage caused to DNA by niclosamide using an electrochemical DNA-biosensor. Biosensors and Bioelectronics 17, **2002**, 913.

DE ARMAS, E.D.; MONTEIRO, R.T.R.; AMÂNCIO, A.V.; CORREA, R.M.L.; GUERCIO, M.A. Uso de agrotóxico em cana-de-açúcar na bacia do Rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. Quím. Nova, 28 (6) **2005**, 975.

DE MOURA, M.A.B.F. Atividade antitumoral de nitroquinona derivada da nor- $\beta$ -lapachona. Contribuição da farmacoeletroquímica na pesquisa do mecanismo de ação de novos fármacos. Maceió, 47, **2008**. Tese de doutorado–Instituto de Química e Biotecnologia, UFAL.

DE PAULA, F.S.; “Estudo bioeletroquímico de compostos eletrobioativos. Relação estrutura-eletroatividade e utilização de biossensor de DNA no estudo de agentes

intercalantes e alquilantes de DNA". Maceió, 89, **2006**. Tese de doutorado–Instituto de Química e Biotecnologia, UFAL.

DE SOUZA, A.A.; Estudos eletroquímicos do 2-[p-Nitrofenil(Hidroxi)Metil]Acrilato de Metila – Um fármaco antitumoral e sua reatividade frente a GSH, dsDNA e Oxigênio. Maceió, 44-47, **2007**. Dissertação de mestrado – Instituto de Química e Biotecnologia, UFAL.

DE SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A.R.; TOLEDO, R.A.; PEDROSA, V.A.; OLIVEIRA, R.T.S.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, A.S.A. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. *Quim.Nova*, 27(5) **2004**, 790.

DOLBIER, W.R., TIAN, F., DUAN, J., LI, A., AIT-MOHAND, S., BATISTA, O., BUATHONG, S., BAKER, J. M., CRAWFORD, J., ANSELME, P., CAI, X.H., MODZELEWSKA, A., KORONIAK, H., BATISTE, M. A., CHEN, Q. Trimethylsilyl fluorofonyldifluoroacetate (TFDA): a new, highly efficient difluorocarbene reagent. *J. of Fluorine Chem.* 125, **2004**, 459.

DUMITRESCU, I., UNWIN, P.R., MACPHERDSON, J.V. Electrochemistry at carbon nanotubes: perspective and issues. *Chem. Commun.*, **2009**, 6886.

FAIRCHILD, J.F.; SAPPINGTON, L.C. Fate and effects of the triazinone herbicide metribuzin in experimental Pond Mesocosms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43, **2002**, 198.

FARZINNEJAD, N.; BEIGI, A.A.M.; FOTOUHI, L.; TORKESTANI, K.; GHADIRIAN, H.A. Electrochemical behavior of some triazine derivatives at glassy carbon electrode in non-aqueous media. *J. of Electroanal. Chem.* 580, **2005**, 245.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; DE LIMA, M.S.; Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. ; *Piper aduncum*

L. and *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K.Shum SOBRE *Tenebrio molitor* L., 1758. Ciên.agrotec., Lavras, 31(1) **2007**, 113.

FRESHNEY, R. I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 15.ed, New York, John Wiley & Sons, **2005**. 642p.

GREY, T.L.; WALKER, R.H.; DAYAN, F.E.; WEETE, J.D.; HANCOCK, H.G.; KWON, O. Behavior of sulfentrazone in ionic exchange resins, electrophoresis gels, and cation-saturated soils. Weed Science, 48, **2000**, 239.

HERNÁNDEZ-BENITO, J.; GONZALEZ- MANCEBO ,S.; CALLE E., GARCIA –SANTOS M.P. andp CASADO J.; A practical integrated approach to supramolecular chemistry. Equilibria in inclusion phenomena. J. Chem .Educ. 76, **1999**, 419.

HUERTAS-PÉREZ, J.F.; IRUELA, M.O.,; GARCÍA-CAMPAÑA, A.M.; GONZÁLEZ-CASADO, A.; SÁNCHEZ-NAVARRO, A. Determination of the herbicide metribuzin and its major conversion products in soil by micellar electrokinetic chromatography. J. of Chromatographya A. 1102, **2006**, 280.

KITOUS, O.; CHEIKH, A.; LOUNICI, H.; GRIB, H.; PAUSS, A.; MAMERI, N. Application of the electrosorption technique to remove metribuzin pesticide. J. of Harzadous Materials. 161, **2009**, **1035**.

KJAER, J.; OLSEN, P.; HENRIKSEN,T.; ULLUM, M. Leaching of metribuzin metabolites and the associated contamination of a sandy danish aquifer. Environ. Sci. Technol. 39, **2005**, 8374.

LA-SCALEA, M.A , SERRANO, S. H. P., GUTZ, I. G. R. Eletrodos modificados com DNA: Uma nova alternativa em eletroanálise. Quim. Nova, 22 (3), **1999**, 417.

LIMA, N.M.F. Hidroxiquininas e derivados: Síntese, avaliação de atividades biológicas e de toxicidade seletiva e verificação do mecanismo transferência eletrônica-estresse oxidativo. Maceió, 3-5. **2004**. Tese de doutorado. Instituto de Química e Biotecnologia, UFAL.

LUDVIK J.; RIELD F.; ZUMAN P.; Electrochemical reduction of metribuzin. *Electroanalysis*. 13, **1998** , 869.

MARTINEZ, C.O.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F.; MAIA, A.H.N.; ABAKERLI, R.B.; DURRANT, L.R. Degradation of the herbicide sulfentrazone in a Brazilian Typic Hapludox soil. *Soil Biology & Biochemistry* 40, **2008<sup>a</sup>**, 879.

MARTINEZ, C.O.; SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F.; MAIA, A.H.N.; ABAKERLI, R.B.; DURRANT, L.R. The effects of moisture and temperature on the degradation of sulfentrazone. *Geoderma*. 147, **2008<sup>b</sup>**, 56.

MASTERS, J. R. W. **Animal** Cell Culture. A Practical Approach, 3.ed.London, Oxford University Press, 2000. 315p.

MELO, A.M.S; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; ABREU, F.C. Adsorption studies of trifluralin on chitosan and its voltammetric determination on a modified chitosan glassy carbon electrode. *J. Braz. Chem. Soc.* 19 (4), **2008**, 704.

MELO, A.M.S. Estudos eletroquímicos da trifluralina, adsorção em quitosana, interação com o biossensor dsDNA e toxicidade frente ao caramujo *Biomphalaria glabata*. Maceió, 3-4, **2007**. Tese de doutorado–Instituto de Química e Biotecnologia, UFAL.

MELLO, L.D.; HERNANDEZ, S.; MARRAZZA, G.; MASCINI, M.; KUBOTA, L.T. Investigation of the antioxidant proprieties of plant extracts using a DNA-electrochemistry biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 21 (7), **2006**, 1374.

MOREIRA, D.R.M.; LEITE, A.C.L.; FERREIRA, P.M.P.; DA COSTA, P.M.; LOTUFO, L.V.C.; DE MORAES, M.O.; BRONDANI, D.J.; PESSOA, C.O.; Synthesis and antitumor evaluation of peptidyl-like derivatives containing the 1,3 benzodioxole system. *European Journal of Medicinal Chemistry* 42, **2007**, 351.

OTURAN, A.M.; OTURAN, N., LAHITTE, C.; TREVIN, S. Production of hydroxyl radicals by electrochemical assisted fenton's reagent. Application to the mineralisation of organic micropollutant, pentachlorophenol. *J. Electroanal. Chem.* 507, **2001**, 96.

OTURAN, M.A. An ecologically effective water treatment technique using electrochemically generated hydroxyl radicals for *in situ* destruction of organic pollutants: Application to herbicide 2,4-D. *J. of Appl. Electrochem.* 30, **2000**.

OTURAN, N.; PANIZZA, M.; OTURAN, M.A. Cold incineration of chlorophenols in aqueous solution by advanced electrochemical process electro-Fenton. Effect of number and position of chlorine atoms on the degradation kinetics. *J. Phys. Chem. A* 113, **2009**, 10988.

OZCAN, A.; SAHIN, Y.; OTURAN, M.A. Removal of protham from water by using electro-fenton technology: kinetics and mechanism. *Chemosphere* 73, **2008**, 737.

PARAÍBA, L.C.; CERDEIRA, L.A.; DA SILVA, E.F.; MARTINS, J.S.; COUTINHO, H.L.C. Evaluation of soil temperature effect on herbicide leaching potential into groundwater in the Brazilian cerrado. *Chemosphere* 53, **2003**, 1087.

PALECEK, E. Fifty years of nucleic acid electrochemistry. *Electroanalysis*, 21 (3), **2009**, 239.

PASTRE, W. Controle da tirrica (*Cyperus royundus* L.) com aplicação de sulfentrazona e flazasulfuron aplicados isoladamente e em mistura no cultivo da cana-de-açúcar. Campinas, 15, **2006**. Dissertação de mestrado. Instituto Agrônômico, UNICAMP.

PAULA, F.R.; SERRANO, S.H.P.; TAVARES, L.C. Aspectos macanísticos da bioatividade e toxicidade do nitrocompostos. Quím. Nova 32 (4), **2009**, 1013.

PIGNATELLO, J.J.; OLIVEROS, E.; MACKAY, A. Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the fenton reaction and related chemistry. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 36, **2006**, 1.

PIMENTEL, M.; OTURAN, N.; DEZOTTI, M.; OTURAN, M.A. Phenol degradation by advanced electrochemical oxidation process electro-fenton using a carbon felt cathode. Appl. Catalysis B: Environ.l 83, **2008**, 140.

POLUBESOVA, T.; NIR, S.; RABINOVITZ, O.; BORISOVER, M.; RUBIN, B. Sulfentrazone Adsorbed on micelle-montmorillonite Complexes for slow release in Soil. J. Agric. Food Chem. 51, **2003**, 3410.

PORTARIA 518 DO MINISTÉRIO DA SAÚDE. Artigo 14, **2004**.

PRESTEL, D.; WEISGERBER, I.; KLEIN, W.; KORTE, F. Bilanz der verteilung und umwaldlung von metribuzin- 14C (Sencor) in kartoffeln, mohren und boden unter freilandbedingungen. Chrmosphere, 2, **1976**, 137.

QUESADA-MOLINA, C.; GARCÍA-CAMPAÑA, A.M.; OLMO-IRUELA, L.; OLMO, M. Large volume sample stacking in capillary zone electrophoresis for monitoring of the degradation products of metribuzin in environmental samples. J. of Chromatog. A, 1164, **2007**, 320.

RIMANDO, A.M.; DUKE, S.O. Natural Products for Pest Management. ACS Symposium Series, American Chemical Society: Washington, DC, **2006**, chapter 1.

RAUF S.; GOODING, J.J.; AKHTAR, K.; GHOURI, M.A.; RAHMAN, M.; ANWAR M.A.; KHALID, A.M. Electrochemical approach of anticancer drugs-DNA interaction. J. Pharm. Biomed. Anal., 37, **2005**, 205.

SANTOS, R. Síntese, modelagem molecular e avaliação da atividade inseticida de novos piretróides do tipo éter oxima. Seropédica, 48, **2006**. Dissertação de mestrado. Instituto de ciências exatas, UFRRJ.

SCHERER, E.M.; WANG, Q.Q.; HAY, A.G.; LEMLEY, A.T. The binary treatment of aqueous using anodic fenton treatment and biodegradation. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 47, **2004**, 154.

SINGH, N. Adsorption of herbicides on coal fly ash from aqueous solutions. J. of Harzadous Materials. 168, **2009**, 233.

SHAH, J.; JAN, M.R.; ARA, B.; MOHAMMAD, M. Extractive spectrophotometric method for determination of metribuzin herbicide and application of factorial design in optimization of various factors. J. of Harzadous Materials. 164, **2009**, 918.

STETER, R.J.; PONTÓLIO, O.J.; CAMPOS, M.L.A.M; ROMERO, R.J. Modified electrodes complex and metal ligand anchored by azo covalent bond. Modified Electrodes Bond. J. Braz. Chem. Soc. 19 (4) **2008**, 660.

STETER, R.J.; PONTÓLIO, O.J.; COSTA, M.I.C.F.; ROMERO, R.J. A new polyphenol modified electrode containing an anchored ruthenium complex and its use electrocatalytic oxidation of organic substrates. Polyhedron, 26, **2007**, 996.

SKOPALOVÁ, J.; LEMR, K.; KOTOUCER M.; CÁP, L. Electrochemical behavior and voltametric determination of the herbicide metribuzin at mercury electrodes. *Fresenius J. Anal. Chem.* 370, **2001**<sup>a</sup>, 963.

SKOPALOVÁ, J.; LEMR, K.; KOTOUCER M.; CÁP, L. Ondra, P. Electrochemical reduction of prometryne and the other 2-methylthio-4,6-dialkylamino-s-triazine herbicides at mercury electrodes. *Electroanalysis*, 10 (5), **1998**<sup>b</sup>, 331.

SKOOG, D.A.; HOLLE, F.J.; NIEMAN, T.A.; *Princípios de Análise Instrumental*, 5<sup>a</sup> Ed., Porto Alegre, Editora Bookman, **2002**, 581.

TOCHER, J.H.; Reductive of Nitroheterocyclic Compounds. *Gen. Pharmac.* 28, 4, **1997**, 485.

USEPA–UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Office of Prevenscion, Pesticides and Toxic Substances (7501C). February 27, **1997**.

VELISEK, J.; SVOBODOVA, Z.; PIACKOVA, V.; NOVOTNY, L.; BLAHOVA, J.; SUDOVA, E.; MALY, V. Effects of metribuzin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Veterinari Medicina* 53 (6), **2008**, 324.

VIEIRA, R.F.; SILVA, C.M.M.S.; SILVEIRA, A.P.D. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. *Plant Soil*, 300, **2007**, 95.

[www22.sede.embrapa.br/pimentalonga/faqs.htm](http://www22.sede.embrapa.br/pimentalonga/faqs.htm), acessado em 17/03/2010.



WEISENTHAL, L.M., MARSDEN, J.A., DILL, P.L., MACALUSO, C.K., 1983. A Novel Dye Exclusion Method for Testing *in Vitro* Chemosensitivity of Human Tumors 1. *Cancer Research*, 43, 749-57.

ZANTA, C.L.P.S.; ANDRADE, A.R.; BOODTS, J.F.C. Eletrochemical behavior of olefins: oxidation at ruthenium-titanium dioxide and iridium-titanium dioxide coated electrodes. *J. of Appl. Electrochem.* 30, **2000**, 467.

ZHANG, S.; YANG, G.; ZHENG, Z. CHEN, Y. On-line preconcentration and analysis of metribuzin residues in corn fields by use of a molecularly imprinted polymer. *Chromatographia*. 69 (7), **2009**, 615.