

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO DE TIOCOMPOSTOS POR
VOLTAMETRIA E COULOMETRIA
EM MATRIZES SALINAS**

TESE DE DOUTORADO

Joselito Trevisan

Santa Maria, RS, Brasil

2006

**DETERMINAÇÃO DE TIOCOMPOSTOS
POR VOLTAMETRIA E COULOMETRIA
EM MATRIZES SALINAS**

por

Joselito Trevisan

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do
Programa de Pós-Graduação em Química,
Área de Concentração em Química Analítica, da
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),
Como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento

Santa Maria, RS, Brasil

2006

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**DETERMINAÇÃO DE TIOCOMPOSTOS POR VOLTAMETRIA E
COULOMETRIA EM MATRIZES SALINAS**

elaborada por
Joselito Trevisan

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Paulo Cícero do Nascimento, Dr.
(Presidente/Orientador)

Leandro Machado de Carvalho, Dr. (UFSM)

Solange Cristina Garcia Pomblum, Dr^a. (UFSM)

Reinaldo Simões Gonçalves, Dr. (UFRGS)

Almir Spinelli, Dr. (UFSC)

Santa Maria, 11 de Agosto de 2006.

Agradeço a Deus por ter me ajudado a superar os obstáculos que a vida impõe e também por ter me dado forças para superar mais esta etapa de minha qualificação profissional e de minha vida.

Dedico à

Meu Pai Elemar Luiz Trevisan, à minha Mãe Marilena de Castro Trevisan, ao meu Irmão Carlos Alberto Trevisan e à minha cunhada Gílvia Trevisan por sempre estarem comigo me apoiando nas horas difíceis.

Aos meus Tios e Primos, em especial ao meu Padrinho José Aldomar de Castro e à minha Tia Maria Elisa, por sua atenção e conselhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento, pela orientação e pelo esclarecimento de dúvidas durante esse trabalho de Doutorado, agradeço também por sua amizade, compreensão e pelos bons momentos de descontração vividos no laboratório durante o curso.

À Prof^a. Dr^a. Denise Bohrer do Nascimento, por sua atenção, amizade e esclarecimento de dúvidas.

Ao Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho pela co-orientação do trabalho e por sua amizade.

Aos colegas e amigos Adrian Gustavo Ramirez, Jean Karlo Acosta Mendonça, Denise Bertagnolli, Luciana Del Fabro, Marieli Marques, Maurício Hilgemann, Vanessa H., Emilene Becker, Vânia Polli, Sandra Oliveira, Regina Binotto, Lorenzo Visentin, Rafael Guadagnin, Euclésio Simionatto, Cláudia Wollmann, Marení Pauleto, Sabrina Schirmer, Zilda Vendrame, Raquel Facco, Raquel Stefanello, Cristiane Jost, Cristiane Spengler, Simone Noremberg, Júlia Gamartz, agradeço pelo apoio nas horas difíceis que enfrentamos juntos e também pelos bons momentos, que foram muitos.

À Coordenação e a todos os Funcionários e Professores que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade oferecida de realizar gratuitamente um Curso de Doutorado desse nível.

À Instituição CAPES pelo financiamento deste projeto e pela atenção nos momentos solicitados.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Estrutura química das triazinas	06
Figura 02: Estrutura molecular das tiotriazinas: desmetrina, ametrina, prometrina e terbutrina	08
Figura 03: Estrutura molecular da ETU	09
Figura 04: Estrutura dos EBDCs metálicos	10
Figura 05: Representação esquemática do caminho de um agroquímico em humanos.....	18
Figura 06: Esquema representativo do sistema de hemodiálise	33
Figura 07: Sistema amperométrico on line	47
Figura 08: Célula coulométrica para determinações on line	50
Figura 09: Sistema coulométrico on line.....	50
Figura 10: Pré-coluna utilizada na pré-concentração dos analitos	52
Figura 11: Célula de difusão para ETU utilizando membrana de PTFE	55
Figura 12: Altura do sinal voltamétrico da ametrina em função do tamanho da gota de mercúrio. (1) ametrina, (2) desmetrina, (3) prometrina, (4) terbutrina. ... (E _{pico} = -1,00 V. t _{pré-conc.} = 30 s). Concentração: 1,25 mg L ⁻¹	60
Figura 13: Saturação no eletrodo de mercúrio, utilizando diferentes concentrações de ametrina e tamanhos de gota. Velocidade de varredura: 16,6 mV s ⁻¹	61
Figura 14: Sinal voltamétrico típico de ametrina em água. (E _{pico} = -1,00 V; t _{pré-conc.} = 30 s). Concentração: 50 µg L ⁻¹ . Tamanho da gota: 0,60 mm ² . Velocidade de varredura: 16,6 mV s ⁻¹	63
Figura 15: Corrente x amplitude do pulso aplicado na determinação de ametrina por VARC. (E _{pico} = -1,00 V; t _{pré-conc.} = 30 s)	65
Figura 16: Curvas analíticas para determinação de tiotriazinas por VARC; (1) ametrina, (2) desmetrina, (3) prometrina e (4) terbutrina. (E _{pico} = -1,00 V, t _{pré-conc.} = 30 s).....	67
Figura 17: Perfil das linhas de base no meio salino. (1) 5 mL do FD, (2) 10 mL do FD, (3) 15 mL do FD, (4) 20 mL do FD. Volume da solução na célula voltamétrica: 20 mL	69

- Figura 18: Sinal voltamétrico característico das tiotriazinas ($E_{\text{pico}} = +1,05 \text{ V}$) utilizando eletrodo de ouro com $0,32 \text{ cm}^2$ de superfície. Eletrólito: NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH= 9,0). $t_{\text{pré-concentração}} = 60 \text{ s}$. $E_{\text{pré-concentração}} = -1,60 \text{ V}$ 75
- Figura 19: Sinal voltamétrico de ETU em meio ácido utilizando eletrodo de ouro no modo estático. Concentração na célula= $25 \mu\text{g L}^{-1}$. $E_{\text{pico}} = +1,20 \text{ V}$ 78
- Figura 20: Sinal amperométrico on line de desmetrina utilizando como eletrólito uma solução tampão de acetato de sódio $1 \times 10^{-6} \text{ M}$. Adição de 1, 5, 20, 35, 50, 75, 100 e $150 \mu\text{g L}^{-1}$. Eletrodo de Trabalho: CRV. $E_{\text{detecção}} = +1,78 \text{ V}$. Fluxo do sistema: 1 mL min^{-1} . $r_8 = 0,9916$ 82
- Figura 21: Sinal amperométrico de desmetrina utilizando como eletrólito uma solução de ACN (40%)/ H_2O (60%). Adição de 1, 5, 20, 35, 50, 75, 100 e $150 \mu\text{g L}^{-1}$. Eletrodo de Trabalho: CRV. $E_{\text{detecção}} = +1,78 \text{ V}$. Fluxo do sistema: 1 mL min^{-1} 83
- Figura 22: Sinal amperométrico característico da desmetrina em meio aquoso. Adição de 20, 50, 100 e $150 \mu\text{g L}^{-1}$. Eletrodo de Trabalho: CRV. $E_{\text{detecção}} = +1,78 \text{ V}$. Fluxo do sistema: 1 mL min^{-1} . $r_3 = 0,9991$; $r_4 = 0,9989$. Eletrólito: Solução de HNO_3 (pH=5,0) 84
- Figura 23: Espectros obtidos com diferentes fluxos investigados para a extração de ametrina. Concentração: $30 \mu\text{g L}^{-1}$. Volume: 25 mL 108
- Figura 24: Espectros de ametrina em solução salina com fator de pré-concentração de 33 vezes. Curva A: espectro sem a pré-concentração. Curva B: espectro após a pré-concentração. Concentração da amostra A: $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 109
- Figura 25: Espectros da curva analítica de ametrina em meio aquoso com padrões de 5, 10, 20, 30, $40 \mu\text{g L}^{-1}$. (Curva de 1 a 5, respectivamente)..... 110
- Figura 26: Espectro de ETU em meio aquoso ($\mu = 0,01$). Curva A: $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Curva B: $40 \mu\text{g L}^{-1}$ 111
- Figura 27: Espectros de ametrina em meio salino ($\mu = 4,20$) utilizando padrões de 100, 200, 300, 400, $500 \mu\text{g L}^{-1}$. (Curva 1 a 5, respectivamente). $\lambda = 225 \text{ nm}$. $r_5 = 0,9970$ 112
- Figura 28: Espectros de ETU no meio salino ($\mu = 4,20$) com concentrações de 50, 100, 200, 300 e $400 \mu\text{g L}^{-1}$ para os pontos de 1 a 5, respectivamente. $\lambda = 230 \text{ nm}$. $r_5 = 0,9932$ 113

- Figura 29: Espectros de ametrina no meio salino, pré-concentrada em coluna de PS. Concentrações de $8,3 \mu\text{g L}^{-1}$, $24,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $41,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para as curvas A, B e C, respectivamente. $\lambda_{\text{detecc\~{a}o}} = 290 \text{ nm}$. $r_5 = 0,9922$ 115
- Figura 30: Espectros de ETU no meio salino, pré-concentrado em coluna de PS, utilizando padrões de $8,3 \mu\text{g L}^{-1}$, $24,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $41,5 \mu\text{g L}^{-1}$. $\lambda_{\text{detecc\~{a}o}} = 295 \text{ nm}$ 116

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Classificação dos volumes de herbicidas aplicados nas lavouras	04
Tabela 02: Coeficiente de solubilidade de herbicidas tiotriazínicos em água	07
Tabela 03: Grupo dos fungicidas classificados por eficácia e potencial de resistência a enfermidades	11
Tabela 04: Classificação da toxicidade aquática	12
Tabela 05: Toxicidade aguda (DL 50) de herbicidas triazínicos em ratos	14
Tabela 06: Classificação dos herbicidas de acordo com sua toxicidade	15
Tabela 07: Concentrações das soluções padrões estoque das tiotriazinas e ETU ..	41
Tabela 08: Limite de detecção para as tiotriazinas em solução aquosa	55
Tabela 09: Comportamento voltamétrico para diferentes tempos de pré-concentração em função da corrente (nA). ($E_{\text{pico}} = -1,00 \text{ V}$). Concentração: $50 \mu\text{g L}^{-1}$	62
Tabela 10: Valores de coeficiente de correlação linear para as tiotriazinas em solução aquosa	66
Tabela 11: Valores de corrente para diferentes concentrações de ametrina na presença de diferentes volumes de fluidos de diálise na célula voltamétrica. Tamanho da gota: $0,60 \text{ mm}^2$. $t_{\text{pré-concentração}} = 30 \text{ s}$	70
Tabela 12: Concentração de EDTA mínima necessária para a supressão do sinal de Zn	72
Tabela 13: Ensaios de adição e recuperação de ametrina em amostras reais ($\mu = 4,20$)	72
Tabela 14: Velocidade de varredura em função da corrente (μA). Eletrodo de ouro. $t_{\text{pré-concentração}} = 60 \text{ s}$. $E_{\text{pré-concentração}} = -1,60 \text{ V}$. Concentração de ametrina: $50 \mu\text{g L}^{-1}$	76
Tabela 15: Tempos de pré-concentração x corrente (μA). $E_{\text{pico}} = +1,05 \text{ V}$. $E_{\text{pré-concentração}} = -1,60 \text{ V}$. Eletrólito: $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Massa de ametrina na célula: $0,10 \mu\text{g}$. Velocidade de varredura: $16,6 \text{ mV s}^{-1}$	77
Tabela 16: Tempo de pré-concentração ideal para o sistema voltamétrico. Eletrodo de ouro no modo estático. Eletrólito: $\text{H}_2\text{SO}_4 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Concentração de ETU: $50 \mu\text{g L}^{-1}$	79

Tabela 17: Comportamento da desmetrina utilizando o método amperométrico de detecção com eletrodo de carbono vítreo reticulado, em meio à solução tampão acetato de sódio. $E_{\text{detecção}} = +1,78 \text{ V}$	81
Tabela 18: Determinação off line de tiotriazinas em meio alcalino (pH= 9,0). Correlação linear para 3 pontos da curva analítica $r_3 = 0,9999$ e para 4 pontos da curva, $r_4 = 0,9825$. $E_{\text{pico}} = -1,05 \text{ V}$. Eletrólise: 3 minutos	88
Tabela 19: Cargas geradas durante as eletrólises na determinação off line de ametrina em meio a solução tampão Britton Robinson (pH=4,0). $r_3 = 0,9895$; $r_4 = 0,9927$	89
Tabela 20: Relação entre o tempo de eletrólise e rendimento. Massa de ametrina: $5 \times 10^{-4} \text{ g}$	91
Tabela 21: Relação entre a superfície do eletrodo de trabalho e o rendimento na eletrólise, utilizando massa constante de $5 \times 10^{-4} \text{ g}$ de ametrina. Tempo de eletrólise: 3 min.	92
Tabela 22: Determinação coulométrica de desmetrina utilizando como eletrodo de trabalho uma placa de CVR com Hg eletrodepositado.....	93
Tabela 23: Determinação off line de ETU em solução tampão Britton Robinson (pH= 4,3) utilizando uma placa de CVR com mercúrio eletrodepositado ($r_3 = 0,93$; $r_4 = 0,96$). Tempo de eletrólise: 3 minutos	94
Tabela 24: Determinação off line de desmetrina em meio salino ($\mu = 4,20$), utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado. ($r_3 = 0,9162$). Eletrólise: 3 minutos	95
Tabela 25: Determinação off line de ETU em meio salino ($\mu = 4,20$), utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado. $r_3 = 0,9989$; $r_4 = 0,9396$	96
Tabela 26: Determinação on line de ametrina em meio alcalino, utilizando um fio de cobre com Hg eletrodepositado como eletrodo de trabalho. Massa de ametrina: $50 \mu\text{g}$	99
Tabela 27: Rendimentos (%) obtidos através da pré-concentração de tiotriazinas nas fases estacionárias estudadas com diferentes forças iônicas. Concentração da solução original: $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Volume de amostra: 25 mL. Fator de pré-concentração: 8,33	106

Tabela 28: Pré-concentração de ametrina em colunas de PS utilizando meio salino com $\mu = 4,20$. $\lambda_{\text{detecção}} = 290$ nm. Fator de pré-concentração: 8,33. Volume de amostra: 25 mL.....	114
Tabela 29: Pré-concentração de ETU em colunas de PS utilizando meio salino com $\mu = 4,20$. $\lambda_{\text{detecção}} = 295$ nm. Fator de pré-concentração: 8,33. Volume de amostra: 25 mL.....	115
Tabela 30: Difusão de ETU em meio salino através de membrana de PTFE. Fluxo do sistema: 1 mL min^{-1} . $\lambda_{\text{detecção}} = 230$ nm. $\mu = 4,20$	120
Tabela 31 Comparativo entre os resultados obtidos entre os métodos eletroanalíticos utilizados no presente trabalho.....	127

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A - Absorvância

ADC - Conversor Analógico Digital

C - Coulombs

CG-EM/IC - Cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de Massa ou Ionização em Chama

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLAE/UV - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção Ultra Violeta

CVR - Carbono Vítreo Reticulado

DL - Dose Letal

E - Potencial

EBDC - Etilenobisditiocarbamato

EFS - Extração Fase Sólida.

ETU - Etilenotiourea

FE - Fase Estacionária

FD - Fluidos de Diálise

HMDE - Hanging Mercury Drop Electrode – eletrodo de gota de mercúrio suspensa

i – densidade de corrente

LD - Limite de Detecção

PE - Polietileno

PTFE - Teflon

PS - Poliestireno

Q - Carga

r - Coeficiente de correlação linear

T - Tempo

TU - Tiourea

UV/Vis - Ultra Violeta/Visível

V - Volts

VARC - Voltametria Adsorptiva de Redissolução Catódica

μ - Força Iônica

ϵ - Constante Dielétrica

λ - Comprimento de onda

RESUMO

DETERMINAÇÃO DE TIOCOMPOSTOS POR VOLTAMETRIA E COULOMETRIA EM MATRIZES SALINAS

Autor: Joselito Trevisan

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento

Universidade Federal de Santa Maria/RS

O Laboratório de Apoio a Clínicas de Hemodiálise – LACHEM vem há anos investigando o comportamento de várias espécies em matrizes salinas como os sais para hemodiálise. No presente trabalho, a determinação de cinco tiocompostos relacionados à defensivos agrícolas foi investigada através de métodos eletroanalíticos em meios salinos, tomando-se por base as forças iônicas presentes nos concentrados salinos utilizados em hemodiálise e água do mar. Os tiocompostos estudados foram as tiotriazinas ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina que pertencem a uma classe de herbicidas e a ETU (Etilenotiourea) que é um produto de degradação da classe dos EBDCs (Etilenobisditiocarbamatos). A alta persistência das tiotriazinas no meio ambiente e os altos índices de produtos de degradação dos EBDCs que são aplicados nas lavouras como defensivos agrícolas, foram as principais razões para escolha destas espécies. Além disso, outra razão muito importante é o fato da legislação brasileira ainda não exigir o controle de agroquímicos para os fluidos utilizados em hemodiálise, talvez pelo pequeno número de metodologias para esse fim.

O comportamento eletroquímico destas espécies foi investigado através da Voltametria, Amperometria e Coulometria em amostras aquosas de diferentes forças iônicas. A pré-concentração dos analitos em colunas e a difusão através de membranas de teflon simulando o processo de hemodiálise foram também investigadas neste trabalho.

Com a Coulometria de potencial constante comparou-se o comportamento eletroquímico dos agroquímicos em relação a eletrodos de carbono vítreo reticulado (CVR) com eletrodeposição de Hg e com eletrodo de cobre após eletrodeposição de Hg, em um sistema off line. Em sistema on line, uma célula eletroquímica foi

construída para a determinação das espécies utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado.

A pré-concentração dos analitos em colunas de Poliestireno (PS) foi uma alternativa para determinar os agroquímicos por Coulometria, considerando que através desta técnica somente foi possível detectar concentrações na faixa de mg L^{-1} de ETU e tiotriazinas utilizando eletrodos de mercúrio construídos com grandes áreas superficiais que produzem melhores rendimentos na eletrólise. Neste trabalho rendimentos de eletrólise inferiores a 100% foram adotados visando diminuir o tempo de análise.

Para medidas amperométricas, investigou-se um sistema on line com eletrodo de CVR na determinação de tiotriazinas. Este sistema de detecção permitiu análises com alta sensibilidade e rapidez. Curvas analíticas com concentrações a partir de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ foram obtidas utilizando este sistema.

Em medidas por voltametria foram utilizados eletrodos de Hg (HMDE) e Au para a determinação de tiotriazinas e ETU em concentrações a partir de $2 \mu\text{g L}^{-1}$.

Neste trabalho, também foi investigada a difusão de ETU através de membranas de teflon, simulando o processo de hemodiálise, onde a célula de difusão é dividida em duas partes, o caminho de fluxo e do contra fluxo por onde circulam as soluções doadoras (soluções salinas com diferentes forças iônicas) e a solução absorvente. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do meio salino na difusão das espécies através da membrana de teflon. No processo de hemodiálise, as membranas utilizadas apresentam permeabilidade muito maior do que o teflon de modo que este material foi escolhido como indicador de uma situação limite. O meio salino foi responsável por incrementos na difusão do analito através do teflon de 1,5% a 2,5% em relação à água pura. Contudo, diferenças significativas nas taxas de difusão para meios salinos com as forças iônicas investigadas (correspondentes aos fluidos de hemodiálise e água do mar) não foram observadas.

O presente trabalho discute os resultados obtidos nos sistemas eletroquímicos, comparando as determinações dos analitos com os diferentes eletrodos utilizados em amostras aquosas e salinas com diferentes forças iônicas.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Autor: Joselito Trevisan

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento

Título: Determinação de Tiocompostos por
Voltametria e Coulometria em Matrizes Salinas

Tese de Doutorado em Química

Santa Maria, agosto de 2006

ABSTRACT

DETERMINATION OF THIOCOMPOUNDS BY VOLTAMMETRY AND COULOMETRY IN SALINE MATRICES

Author: Joselito Trevisan

Adviser: Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento

University Federal of Santa Maria

The Laboratory of Support to Hemodialysis Clinics (LACHEM) has been investigating for many years the behaviour of many species in saline matrices as hemodialysis salts. In this work, the determination of the five thiocompounds related to agricultural defensives was investigated through electrochemical techniques in saline medium, based on the ionic forces present in saline concentrates used in Hemodialysis also in the sea water. The thiocompounds studied were thiotriazines ametryn, desmetryn, prometryn and terbutryn, which belong to the class of herbicides and the Ethylenethiourea (ETU), which is a degradation product in the class of Ethylenebisdithiocarbamate (EBDC). The high persistence of the triazines in the environment and the high levels of EBDC degradation products applied in crops as defensives, were the principal reason why these species were chosen. Moreover, another important reason is the fact the Brazilian legislation still do not requires the control of agrochemicals for fluids used in hemodialysis, perhaps for the small number of methodologies existent for this case.

The electrochemical behaviour of these species was investigated by Voltammetry, Amperometry and Coulometry in aqueous samples of different ionic strenght. The preconcentration of analytes in columns and the diffusion through of the membranes of Teflon simulating the hemodialysis process were also investigated in this work.

Constant-potential coulometry was used to compare the electrochemical behaviour of agrochemicals in relation to carbon vitreous reticulated (CVR) electrodes with Hg electrodeposition as well as with copper electrode after Hg electrodeposition, in an off line system. In an on line system, an electrochemical cell

was built to determine these species by using a copper wire with Hg electrodeposited as a working electrode.

The analytes preconcentration in columns of polystyrene (PS) was an alternative for the determination of the agrochemicals by coulometry, considering that through this technique was only possible to detect concentrations in levels of the mg L⁻¹ of ETU and thiotriazines, utilizing mercury electrodes built with large superficial areas which produce the best results in electrolysis. In this work, electrolysis results lower than 100% were adopted to reduce the analysis time.

For the amperometrics measure, an on-line system with CVR electrode was investigated in the determination of triazines. This system allowed the analysis with a high sensibility and fast. Analytical curves with concentrations from 1 µg L⁻¹ were gotten using this system.

In measures by Voltammetry were utilized Hg electrodes (HMDE) and Au to determine triazines and ETU in concentrations from 2 µg L⁻¹.

In this work, the ETU diffusion as also investigated through Teflon membranes, simulating the hemodialysis process. In this process, the diffusion cell is divided in two parts, the flow and the counterflow paths, where circulate the donor solution (saline solutions with different ionic strenght) and the adsorbent solution. The aim of this work was to evaluate the influence of saline medium in the diffusion of those species through the Teflon membrane. In the process of hemodialysis, the membranes utilized presented a bigger permeability than the Teflon's, in a way that this material was chosen as an indicator in a limit situation. The saline medium was responsible for increments of 1,5 to 2,5% in the analyte diffusion through of Teflon, in relation to pure water. However, significative differences in the diffusion taxes for saline medium with the ionic strenght investigated (corresponding to the hemodialysis fluids and sea water) were not observed.

This work discusses the results obtained in electrochemical systems, comparing the analytes determinations to different electrodes utilized in aqueous and saline samples with different ionic strenght.

FEDERAL UNIVERSITY OF SANTA MARIA
POST-GRADUATION IN CHEMISTRY

Author: Joselito Trevisan

Advisor: Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento

Title: Determination of Thiocompounds by Voltammetry and Coulometry
in Saline Matrices

Doctoral Thesis in Chemistry

Santa Maria, August, 2006.

SUMÁRIO

Lista de figuras	viii
Lista de tabelas	xi
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos	xiv
Resumo	xv
Abstract	xviii
Enfoque	xxvi
1- Introdução	01
2- Revisão bibliográfica	03
2.1 A química dos compostos de Enxofre e os seres vivos	03
2.2 Tiotriazinas e ETU em meios aquosos	03
2.3 Herbicidas da classe das Tiotriazinas.....	06
2.4 Etilenotiourea (ETU)	09
2.4.1 ETU produto de degradação dos EBDCs	12
2.4.2 Toxicologia	12
2.5 Toxicologia das Tiotriazinas	14
2.6 Persistência das Tiotriazinas no meio ambiente.....	16
2.7 Determinação de Tiotriazinas e ETU em amostras aquosas	19
2.8 Determinação de Tiocompostos por Voltametria	20
2.9 Determinação de ETU por Voltametria	23
2.10 Determinação on line de Tiotriazinas utilizando métodos amperométricos de detecção	24
2.11 Coulometria	26
2.12 Métodos Espectrofotométricos	28
2.13 Pré concentração de espécies.....	30
2.14 Matrizes Salinas	32
3- Materiais e Métodos	35
3.1 Instrumentação	35
3.2 Reagentes e Soluções.....	40
3.2.1 Reagentes.....	40
3.2.2 Preparo das soluções padrões	40
3.2.3 Eletrólitos utilizados na Voltametria	41
3.2.4 Solução de H ₂ SO ₄	42

3.2.5	Eletrólitos utilizados na Coulometria	42
3.2.6	Solução Tampão Britton Robinson	42
3.2.7	Solução de Hg para eletrodeposição	43
3.2.8	Eletrólitos utilizados na Amperometria	43
3.2.9	Composição dos Fluidos de Hemodiálise	43
3.2.10	Fases Estacionárias utilizadas na confecção de colunas para pré-concentração dos herbicidas.....	43
3.2.11	Força Iônica	44
3.3	Determinação Voltamétrica	44
3.3.1	Determinação Voltamétrica de tiotriazinas em meio alcalino utilizando eletrodo de ouro	44
3.3.1.1	Efeito do tempo de pré-concentração	44
3.3.1.2	Efeito do potencial de pré-concentração	44
3.3.1.3	Efeito da velocidade de varredura.....	45
3.3.2	Determinação voltamétrica de ETU em meio aquoso utilizando eletrodo de ouro	45
3.3.2.1	Efeito do tempo de pré-concentração	45
3.3.3	Determinação Voltamétrica de tiotriazinas em meio aquoso utilizando eletrodo de Hg.....	46
3.4	Determinação Amperométrica on-line de tiotriazinas utilizando eletrodo de Carbono Vítreo Reticulado (CVR)	46
3.5	Determinação Coulométrica	48
3.5.1	Determinação Coulométrica off line de tiotriazinas utilizando fio de cobre com Hg eletrodepositado em meio alcalino.....	48
3.5.2	Determinação Coulométrica off line de tiotriazinas utilizando fio de cobre com Hg eletrodepositado em meio ácido	48
3.5.3	Determinação Coulométrica de Tiotriazinas e ETU em meio fortemente salino.....	48
3.5.4	Determinação Coulométrica off line de tiotriazinas e ETU utilizando uma placa de carbono vítreo com Hg eletrodepositado	49
3.5.5	Determinação Coulométrica on line de tiotriazinas utilizando fio de cobre com Hg eletrodepositado	49
3.5.6	Determinação Coulométrica on line de tiotriazinas em meio ácido	51
3.5.7	Determinação Coulométrica on line de tiotriazinas em meio alcalino.....	51

3.5.8	Eletrólise de Hg	51
3.6	Pré-concentração dos analitos em fase sólida	51
3.6.1	Condicionalmento das colunas investigadas	52
3.6.2	Pré-concentração de Tiotriazinas e ETU em colunas de Poliestireno com detecção Espectrofotométrica UV/Vis	52
3.7	Curvas analíticas	53
3.7.1	Construção das curvas analíticas para tiotriazinas e ETU em meios aquosos após pré-concentração em colunas de PS	53
3.7.2	Construção das curvas analíticas para tiotriazinas e ETU em meios salinos após pré-concentração em colunas de PS	53
3.7.3	Limites de detecção (LD)	54
3.8	Difusão	55
4.	Resultados e Discussão	56
4.1	Coulometria, Amperometria e Voltametria	56
4.2	Voltametria	57
4.2.1	Tiotriazinas e o eletrodo de mercúrio	57
4.2.1.1	Eletrólito suporte	58
4.2.1.2	Tamanho da gota no HMDE	59
4.2.1.3	Intervalos de pré-concentração	62
4.2.1.4	Potencial de pré-concentração	63
4.2.1.5	Amplitude do pulso	64
4.2.1.6	Curvas analíticas	66
4.2.1.7	Comportamento voltamétrico das tiotriazinas em soluções salinas	67
4.2.1.8	Interferências em meio salino	70
4.2.1.9	Estudos de adição e recuperação de ametrina em amostras reais	72
4.2.2	Determinação de ETU utilizando eletrodo de Hg	73
4.2.2.1	Potencial de pré-concentração	73
4.2.2.2	Tempo de pré-concentração	74
4.2.2.3	Limite de Detecção	74
4.2.3	Determinação Voltamétrica de tiotriazinas utilizando eletrodo de ouro	75
4.2.3.1	Potencial de pré-concentração	75
4.2.3.2	Velocidade de Varredura	76
4.2.3.3	Tempo de pré-concentração	77

4.2.3.4 Limite de Detecção	77
4.2.4 Determinação de ETU utilizando eletrodo de ouro	78
4.2.4.1 Tempo de pré-concentração	79
4.3 Amperometria.....	80
4.3.1 Determinação amperométrica on line de Tiotriazinas utilizando CVR como eletrodo de trabalho	80
4.4 Coulometria	86
4.4.1 Determinação de tiotriazinas por Coulometria	86
4.4.2 Determinação Coulométrica off line de Tiotriazinas utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado	87
4.4.2.1 Tempo de eletrólise.....	90
4.4.2.2 Área superficial do eletrodo de trabalho.....	91
4.4.2.3 Eletrodeposição	92
4.4.3 Determinação Coulométrica off line de Tiotriazinas e ETU, utilizando como eletrodo de trabalho uma placa CVR com eletrodeposição de Hg.....	93
4.4.4 Determinação off line de Tiotriazinas e ETU em meio salino utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com eletrodeposição de Hg	95
4.4.5 Determinação on line de tiotriazinas.....	97
4.5 Pré-concentração de tiotriazinas e ETU em fase sólida	100
4.5.1 Avaliação das fases estacionárias.....	102
4.5.2 Rendimento na extração de tiotriazinas e ETU com diferentes substratos sólidos.....	104
4.5.3 Determinação de ETU e tiotriazinas em soluções salinas após pré-concentração em colunas de PS	104
4.5.4 PS como substrato para pré-concentração de ametrina e ETU.....	107
4.5.5 Curvas Analíticas para tiotriazinas e ETU	110
4.5.5.1 Tiotriazinas em meio aquoso ($\mu = 0,01$) sem pré-concentração	110
4.5.5.2 ETU em meio aquoso ($\mu = 0,01$) sem pré-concentração	111
4.5.5.3 Tiotriazinas e ETU em meio salino ($0,01 < \mu < 4,20$) sem pré-concentração	112
4.5.5.4 Tiotriazinas e ETU em meios com $0,01 \leq \mu < 4,20$, após pré-concentração em colunas de PS	114
4.6 Difusão de analitos através de membranas	118

4.6.1 Investigação da difusão	119
4.6.2 Difusão de ETU através de membrana de PTFE em meios com diferentes forças iônicas.....	120
5- Sugestões para trabalhos futuros	123
6- Conclusões	124
7- Referências Bibliográficas.....	128
8- Apêndices	149

ENFOQUE

Este trabalho propõe uma metodologia para a determinação eletroquímica de Tiotriazinas e ETU que são substâncias com enxofre na sua estrutura molecular. As tiotriazinas fazem parte de uma classe de herbicidas utilizados intensamente na agricultura como pré e pós-emergentes no combate a ervas daninhas. Estas substâncias são consideradas tóxicas e muito estáveis em soluções aquosas, em função disso tornam-se persistentes no meio ambiente podendo contaminar mananciais, rios e mares. A ETU também é um contaminante em potencial e é considerado o principal produto de degradação dos EBDCs, que se decompõem principalmente pela ação da umidade e de altas temperaturas. Este composto é de baixa toxicidade aguda, mas, demonstra ser um agente carcinogênico e também produz efeitos mutagênicos com exposição contínua.

No presente trabalho, a determinação de compostos da classe das tiotriazinas e um produto de degradação dos EBDCs (ETU) foi investigada. As metodologias de análises estudadas foram a Amperometria, Coulometria, Voltametria e Espectrofotometria Molecular e a matriz escolhida foram os fluidos relacionados à Hemodiálise porque são matrizes salinas pouco estudadas e relevantes tanto sob o ponto de vista analítico quanto clínico.

1- INTRODUÇÃO

Os herbicidas são substâncias de grande importância utilizados na agricultura para o combate as ervas daninhas. Conseqüentemente, as doses aplicadas no solo podem se acumular e contaminar também mananciais de águas como rios, açudes e águas subterrâneas. As tiotriazinas formam uma classe de herbicida muito usado, e têm as mesmas características da maioria dos pesticidas em relação aos seus efeitos no meio ambiente. A ETU que é um produto de degradação dos EBDCs também foi estudada por ser considerada um contaminante em potencial.

As águas utilizadas no processo de hemodiálise devem ser adequadamente tratadas a fim de ter a mínima contaminação bacteriana possível, e reduzido ao mínimo possível à presença de qualquer substância ou elemento químico contaminante, de modo que se obtenha água de alta pureza, que, posteriormente combinada a uma solução concentrada de glicose e eletrólitos, constitua uma solução adequada para a hemodiálise.

Os fluidos de hemodiálise são compostos por concentrados salinos adicionados a água de diálise com a finalidade de garantir o equilíbrio osmótico durante as sessões de hemodiálise a que os pacientes se submetem. A saúde dos pacientes com insuficiência renal depende diretamente da qualidade da água que está sendo usada no tratamento dialítico, por isso se faz necessária uma metodologia eficiente para análise no controle desses contaminantes.

No presente trabalho investigou-se a determinação Voltamétrica, Amperométrica e Coulométrica de ETU e das tiotriazinas, ametrina (2-etilamina-4-isopropilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina), desmetrina (2-isopropilamina-4-metilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina), prometrina (2,4-bis(isopropilamina)-6-metiltio-1,3,5-triazina) e terbutrina (2-ter-butilamina-4-etilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina) em soluções aquosas salinas com força iônica variando de 0,01 (água pura) a 4,20 (concentrado salino para hemodiálise), utilizando eletrodos de Hg, Au, (CVR), fio de cobre com Hg eletrodepositado e também uma placa de CVR com Hg eletrodepositado.

Para melhorar a sensibilidade do sistema foi investigada a pré-concentração das espécies em pré-colunas cromatográficas, para isso foi escolhida a fase estacionária mais adequada. Nesse estudo investigou-se também a difusão de ETU através de uma membrana de teflon, sendo que os monitoramentos foram feitos por Espectrofotometria UV/Vis.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A química dos compostos de Enxofre e os seres vivos

Compostos de enxofre estão presentes no sabor e no odor característico de muitos alimentos [1] mesmo estando em baixas concentrações, a níveis de traços. Por outro lado, o enxofre é encontrado também em formas tóxicas, constituindo alguns grupos de herbicidas e fungicidas, que aplicados no meio ambiente em concentrações consideráveis podem trazer sérios riscos à saúde humana. Os compostos contendo enxofre mais utilizados podem ser classificados de acordo com sua organização estrutural em tiolcarbamatos, tiotriazinas e ETU pertencente ao grupo dos EBDCs. A aplicação descontrolada destes defensivos agrícolas leva a saturação nas lavouras e conseqüentemente será maior a possibilidade de contaminação do meio ambiente com estes praguicidas. As chuvas e os ventos conduzem as pequenas partículas dos herbicidas para os rios que por sua vez fornecem água para o consumo humano.

Neste trabalho foi estudado o comportamento de tiotriazinas e ETU frente a algumas técnicas eletroanalíticas.

2.2 Tiotriazinas e ETU em meios aquosos

Os praguicidas são usualmente aplicados na forma de spray, para soluções aquosas ou suspensões [2]. As soluções aquosas são simplesmente diluídas em água conforme sua solubilidade ou necessidade de aplicação, enquanto que, nas suspensões o ingrediente ativo é freqüentemente dissolvido com algum tipo de solvente orgânico que é emulsificado na água. As aplicações convencionais (spray) normalmente utilizam 10 L ou mais do fluido (herbicida diluído) por hectare, de acordo com a diluição os volumes de herbicida podem ser classificados conforme a tabela 01.

Tabela 01: Classificação dos volumes de herbicidas aplicados nas lavouras

Classificação dos volumes	Aplicação (L/ha)	Carreado
Ultra baixo	1 – 5	ar
Muito baixo	> 10	ar
Baixo	150	ar
Médio	350	água/ar
Alto	> 900	água

Os herbicidas triazínicos são normalmente utilizados como defensivos pré-emergentes na agricultura, aplicados diretamente no solo [3, 4]. A degradação e o caminho metabólico destes herbicidas são ainda muito investigados [5, 6] devido a sua toxicidade para o meio ambiente e também para os seres humanos que estão com uma atividade ocupacional.

Para a determinação destas substâncias em soluções aquosas utilizam-se normalmente métodos cromatográficos hifenados CG-EM/CG/IC (Cromatografia gasosa acoplado a Espectrometria de Massa ou Ionização em Chama) [7, 8], CLAE-UV e detecção ADD (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção Ultra Violeta com Arranjo de Diodo) [9, 10, 11, 12], Eletroanalíticos [13, 14, 15], Fluorescência [16, 17, 18].

Pacáková e colaboradores [19] determinaram 18 espécies de tiotriazinas e derivados, utilizando detecção amperométrica e UV/Vis. Entre a tiotriazinas estão a ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina presentes em amostras aquosas, separadas por uma coluna C18 fase estacionária e eluídos (fase móvel) com uma solução de dihidrogenofosfato de sódio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, 70% (v/v) metanol, pH= 6,8. A posição e intensidade da banda de absorção dependem do pH da solução e da natureza dos substituintes nas posições 2, 4 e 6. A absorção máxima do espectro localiza-se entre $\lambda = 217 \text{ nm}$ e $\lambda = 230 \text{ nm}$, podendo ocorrer deslocamentos. A detecção espectrofotométrica empregada em $\lambda = 225 \text{ nm}$, apresenta bons coeficientes de correlação linear para as tiotriazinas, utilizando concentrações de $0,05$ a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ das substâncias testes injetadas no sistema CLAE. A detecção eletroquímica pôde também ser usada a partir de suas oxidações num Eletrodo de Carbono Vítreo Reticulado. Os amperogramas foram medidos em uma fase móvel ideal e produzidos em um potencial $E_{\text{pico}} = +1,10 \text{ V}$. Os limites de detecção

encontrados são de 50 - 100 ng. A detecção amperométrica não tem a mesma sensibilidade da detecção UV, mas, é mais seletiva, o que pode ser uma grande vantagem na análise de produtos de degradação de tiotriazinas em matrizes mais complexas.

Herbicidas triazínicos, como simazina e atrazina, representam, um dos maiores grupos de poluentes aquáticos devido a sua alta solubilidade em água. Foram feitos estudos de degradação destes herbicidas em água do mar de acordo com as revisões [20, 21] que também citam a presença de tiotriazinas e ETU nestas matrizes salinas.

Bester e Colaboradores [22] detectaram a presença de prometrina e outras triazinas em amostra de água do mar. A persistência destes herbicidas e a alta solubilidade destes compostos em água têm uma considerável contaminação nos ecossistemas marinhos. O estudo proposto por Bester detectou a presença destes herbicidas na faixa de 1000 ng L^{-1} , concentrações capazes de afetar o fito plâncton marinho. Bester et al [22], coletaram estas amostras salinas aquosas e armazenaram em recipientes de 250 mL à -20°C , após extração Soxhlet com acetona por 6 horas. A quantificação foi obtida por Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização em Chama Alcalina (CG/DICA), utilizando coluna DB-5. Limites de detecção (LD) de até 10 ng kg^{-1} foram encontrados.

2.3 Herbicidas da classe das Tiotriazinas

As triazinas são divididas em três grupos (figura 01) perfeitamente característicos: clorotriazinas, metoxitriazinas e metiltiotriazinas [23, 24]. As clorotriazinas, também denominadas de triazinas de 1ª geração representadas pela atrazina, simazina, propazina, terbutilazina, entre outras, são sintetizadas a partir da substituição de dois átomos de cloro do cloreto cianúrico (2, 4, 6- tricloro-1, 3, 5 triazina) por radicais alquilamino. Por sua vez, as metoxitriazinas e as metiltiotriazinas, também denominadas de triazinas de 2ª geração, são obtidas pela introdução dos radicais metoxila e tiometila, respectivamente, como um terceiro substituinte. Prometrone, terbumetrone, atratone, ametrina, prometrina, desmetrina, simetrina e terbutrina, são alguns representantes das triazinas de 2ª geração.

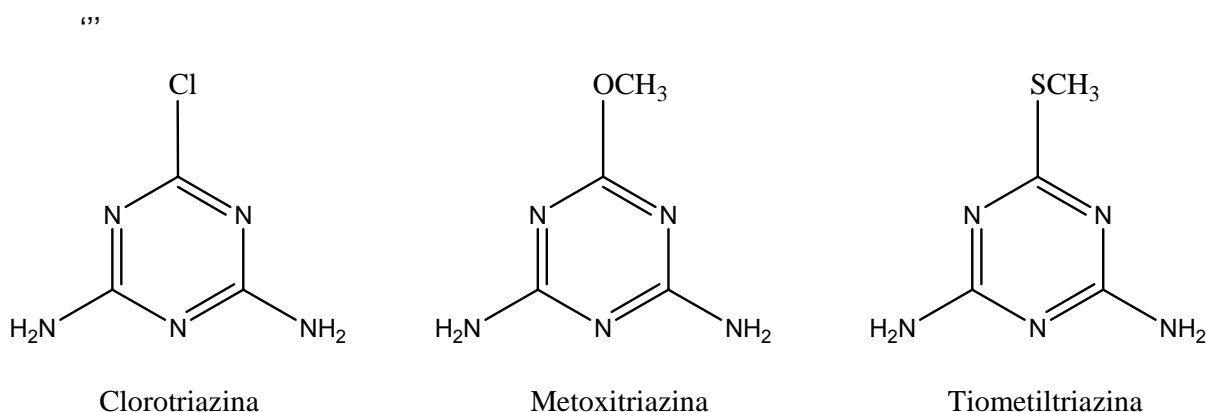


Figura 01: Estrutura química das triazinas

Os herbicidas tiotriazínicos são substâncias cristalinas, geralmente pouco solúveis em água e muito solúveis em solventes orgânicos. A tabela 02 apresenta a solubilidade de alguns herbicidas tiotriazínicos em água [25].

Tabela 02: Coeficiente de solubilidade de herbicidas tiotriazínicos em água.

Herbicida	Solubilidade em água (mg L ⁻¹)
Desmetrina	580
Ametrina	200
Prometrina	33
Terbutrina	22

A maior parte dos herbicidas baseada em núcleos simétricos de triazinas tem o grupamento amino alquil substituídos nas posições 4 e 6 e ainda, grupos cloro ou metiltio na posição 2. Estes compostos recebem a terminação etrin(a) [2] como os produtos ametrina, desmetrina, prometrina, terbutrina, atrazina, simazina, propazina, terbutilazina, cianazina e simetrina. Estes produtos são obtidos a partir da estrutura básica 2-metiltio-4,6-bis (etilamino)-1, 3, 5 triazina e comercializados com uma variedade de denominações [24].

As triazinas são herbicidas sólidos com pureza superior a 80% do ingrediente ativo, que estando em solução aquosa apresentam uma solubilidade que varia na faixa de 5 a 600 mg L⁻¹. A figura 02 apresenta à estrutura das tiotriazinas em que a desmetrina é a mais solúvel com 580 mg L⁻¹, em seguida a ametrina com solubilidade em água de até 200 mg L⁻¹, a prometrina com 33 mg L⁻¹ e por fim a terbutrina com 22 mg L⁻¹ que é a menos solúvel.

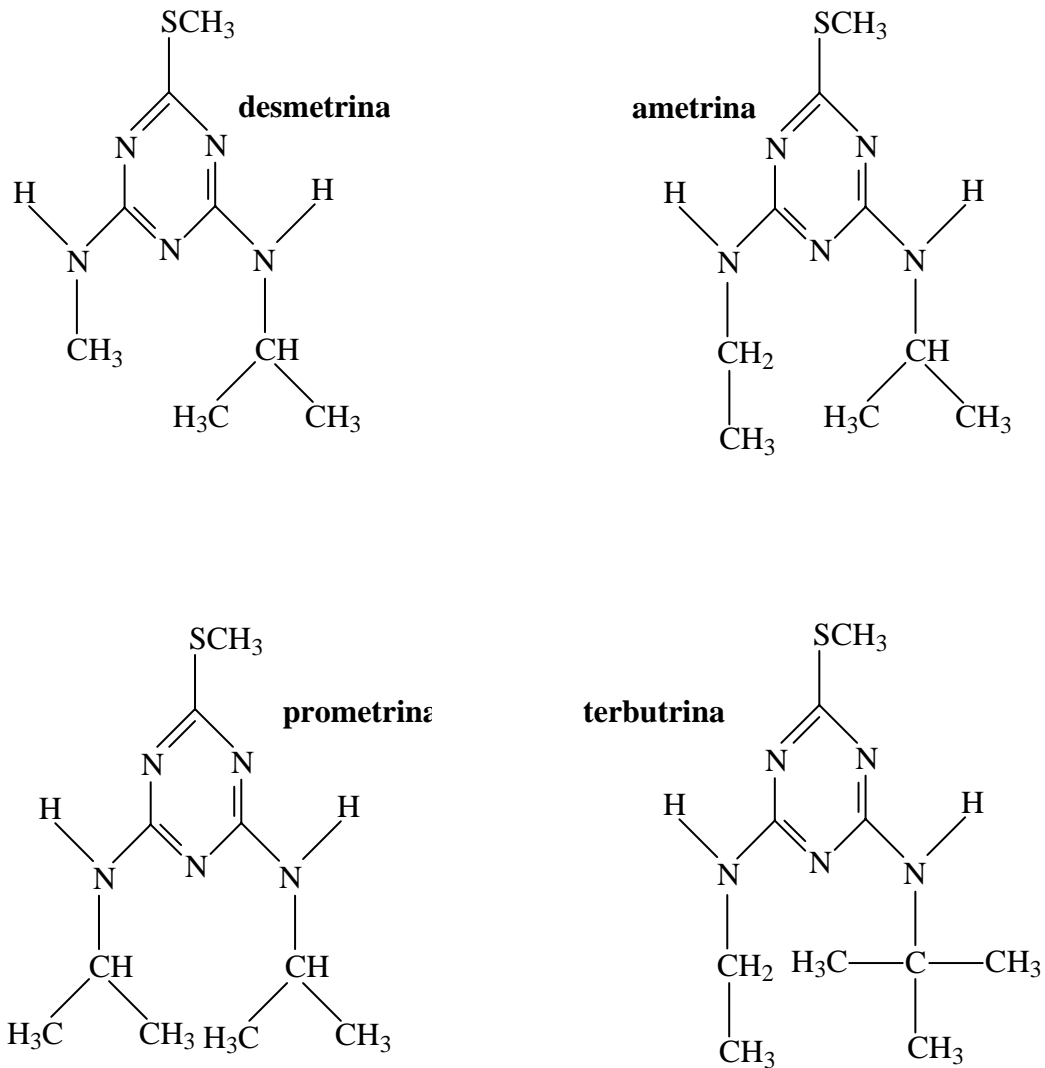


Figura 02: Estrutura molecular das tiotriazinas desmetrina, ametrina, prometrina e terbutrina.

Alguns herbicidas são usados como pré e pós-emergentes de acordo com a necessidade para o controle de ervas daninhas. Este fato, faz com que os níveis de tolerância dos herbicidas no meio ambiente cheguem ou atinjam seu limite com maior rapidez, por isso é necessário observar alguns fatores antes da aplicação, como por exemplo, saber a provável tolerância de cada planta frente aos herbicidas e não simplesmente aplicar tal defensivo por área plantada [24].

2.4 Etilenotiourea (ETU)

EBDCs são uma outra classe de produtos agroquímicos largamente utilizados como fungicidas no combate a enfermidades na agricultura, que se decompõem com facilidade em Etilenotiourea na presença de ar e água. A ETU, figura 03, é considerada um subproduto de degradação dos EBDCs, tóxico para mamíferos, plantas e outros organismos vivos [26].

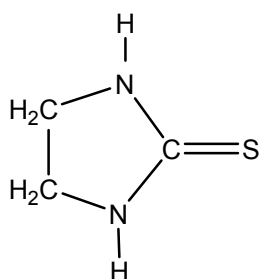


Figura 03: Estrutura Molecular da ETU

Os EBDCs disponíveis no mercado são derivados do ácido ditiocarbâmico, que não ocorre no estado livre e podem ser sintetizados a partir da reação de etilenodiamina com dissulfeto de carbono na presença de solução alcalina do metal desejado [27]. Estes derivados metálicos dos EBDCs são fungicidas empregados no cultivo de vários produtos agrícolas como maçã, batata, tomate, alface, pepino, espinafre, dentre outros. Eles também são usados em outros setores, tais como produção de plantas ornamentais, cereais, vinho, fumo e madeira contra fungos parasitas específicos [28, 29].

Na figura 04, pode-se observar a estrutura dos derivados metálicos dos EBDCs que são conhecidos comercialmente como Nabam, Maneb, Zineb e Mancozeb, onde a principal variação que se observa na estrutura química é o átomo metálico ligado à parte orgânica.

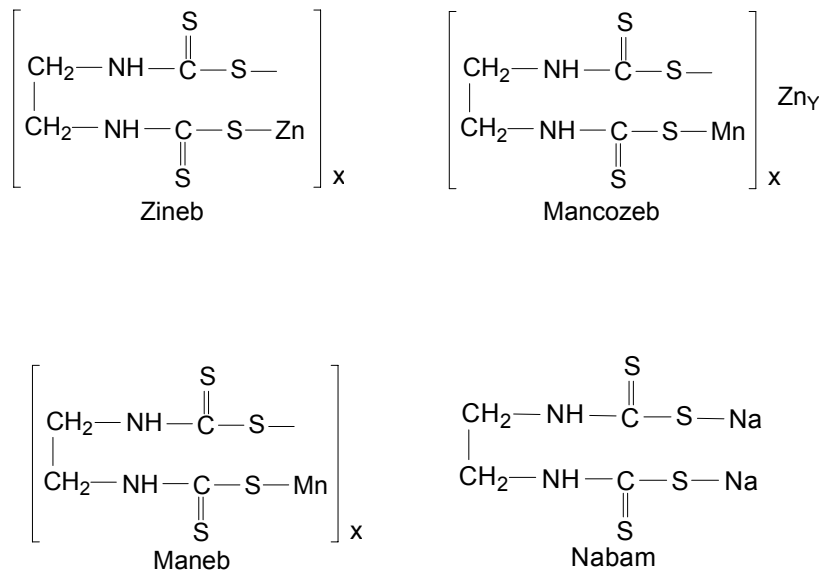


Figura 04: Estrutura dos EBDCs metálicos.

Maneb, representado na figura 04 é bastante usado no controle de doenças de tomate, batata, frutas e vegetais. Os efeitos tóxicos dos EBDCs são geralmente associados com Etilenotiourea, Isocianato e principais metabólitos de sua hidrólise e fotólise.

O maior representante dos EBDCs é o Etilenobisditiocarbamato de Manganês e Zinco, conhecido comercialmente como Mancozeb. Devido à sua baixa toxicidade relativa e pequena resistência no meio ambiente o uso deste fungicida vem aumentando e sendo aplicado em grandes quantidades.

A tabela 03 inclui os 16 fungicidas mais usados em maçãs, tendo 5 pontos na escala de eficácia contra enfermidades numa série de 8, sendo que o potencial de resistência de cada um foi avaliado em 3 pontos.

Tabela 03: Grupo dos fungicidas classificados por eficácia e potencial de resistência a enfermidades.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
Captam	Fenarimol	Dinocap	Mancozeb	Benomyl	Dodine	Myclobutanil
Ferbam	Triademifon	Sulfur	Maneb	Thiophanate		
Thiram	Teriforine		Metiram			
Ziram						

Colosio e colaboradores [30] desenvolveram um estudo indicando a exposição de trabalhadores à presença de Mancozeb. O estudo desenvolvido numa área rural produtora de vinhos, onde foram coletadas amostras de urina dos trabalhadores que de alguma forma teriam sido expostos ao pesticida.

Colosio et al encontraram valores expressivos de intoxicação por ETU nos trabalhadores rurais devido à exposição contínua destas pessoas a estes produtos e principalmente pela característica que os pesticidas têm de se acumularem nos organismos vivos.

Fitsanakis e colaboradores [31] estudaram o comportamento dos EBDCs Maneb, Zineb e perceberam que a exposição de seres humanos a estas substâncias poderia aumentar o risco de desenvolver o Mal de Parkinson, que é originado pela auto-oxidação do neurotransmissor Dopamina (DA) e alguns catecóis metabólitos.

2.4.1 ETU produto de degradação dos EBDCs

A Etilenotiourea ou 2-Imidazolidine, ou Mercaptoimidazolidine ou ainda 1,3 Etilenotiourea é a principal impureza [32] e produto de degradação dos EBDCs que se decompõem pela ação da umidade, meio ácido e também sofre influência pelas altas temperaturas.

A ETU é uma substância relativamente estável e de alta solubilidade em água, em torno de 2 g L^{-1} a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$. A sua presença como metabólito é preocupante nas áreas onde os fungicidas EBDCs são aplicados, sendo considerado um contaminante em potencial de águas superficiais, de subsolo, rios e mares.

2.4.2 Toxicologia

A toxicidade está relacionada na tabela 04 onde apresenta os níveis tóxicos de fungicidas em meios aquáticos que foram definidos considerando a toxicidade aguda ou crônica[33] que é denominada de DL 50 a dose letal média que corresponde à quantidade de pesticida capaz de causar a morte de 50% dos indivíduos que participam de um ensaio de toxicidade aguda.

Tabela 04: Classificação da toxicidade aquática

Níveis de toxicidade Aquática	Toxicidade aguda (DL ₅₀ em mg L^{-1})
Extremamente tóxico	0,1
Altamente tóxico	1
Moderadamente tóxico	1 – 10
Levemente tóxico	10 – 100
Praticamente não tóxico	> 100

VERHAAR et al. [34] dividem as classes tóxicas dos fungicidas em 4 grupos que indicam a toxicidade da substância.

Grupo 1: Linha base de toxicidade de produtos químicos, praticamente inertes, que não são reativos e não interagem com receptores específicos em um organismo.

Grupo 2: Esse grupo compreende os produtos pouco inertes, que são não-reativos quando considerando muitos efeitos intensos, mas são levemente mais tóxicos do que os fungicidas do grupo 1.

Grupo 3: Neste grupo os produtos químicos são não-seletivos e reagem com certas estruturas químicas encontradas em biomoléculas.

Grupo 4: Compreende especificamente os produtos químicos que tem toxicidade devido a interação específica com certas moléculas receptoras.

A transformação dos produtos dos grupos 3 e 4 são consideradas com atenção especial porque estes compostos podem apresentar alto risco a saúde. Por outro lado, a transformação dos produtos dos grupos 1 e 2 representam pequeno risco para organismos aquáticos. Estas substâncias podem trazer prejuízos maiores somente quando são muito persistentes em sedimentos. Apesar da baixa toxicidade dos grupos 1 e 2 mesmo assim é necessário um controle de aplicação destes fungicidas.

Segundo Verhaar e colaboradores a ETU e os EBDCs de acordo com suas características fazem parte do grupo quatro da classificação toxicológica.

A ETU é considerada uma substância carcinogênica, imunotóxica e com efeitos mutagênicos [35] e EBIS (sulfeto) causa paralisia periferal e disfunção tireoidal [36, 37], apesar da baixa toxicidade aguda (DL 50 em ratos na faixa de 545 a 1832 mg kg⁻¹) [38, 39, 40].

2.5 Toxicologia das Tiotriazinas

Quando uma substância tóxica entra num organismo mais rapidamente do que pode ser eliminada, se acumulará até alcançar uma concentração tóxica. Alguns fatores anatômicos, fisiológicos e bioquímicos [2] interagem para determinar como as substâncias se distribuem num organismo, com que rapidez, qual a rota é metabolizada e qual o mecanismo de excreção.

Os herbicidas 1, 3, 5 triazínicos são absorvidos pela via respiratória, pelo trato gastrointestinal e pela via dérmica, apresentando baixa toxicidade aguda em animais, tabela 05.

Tabela 05: Toxicidade aguda (DL 50) de herbicidas triazínicos em ratos

Compostos	DL 50 (mg kg ⁻¹)	
	Via Oral	Via Dérmica
Atrazina	2000	3000
Cianazina	330	1200
Prometrina	3750	-----
Desmetrina	1390	-----
Ametrina	508	-----
Terbutrina	2045	-----

Larini [41], relata estudos de toxicidade utilizando carneiros como cobaias, observou que quando os animais eram submetidos a doses diárias de 1,4 mg kg⁻¹ a 6 mg kg⁻¹ de Simazina ocorre o hipotiroidismo e com doses mais elevadas (6 mg kg⁻¹ a 25 mg kg⁻¹), ocorre alterações distróficas e necróticas no epitélio germinal, danos hepáticos e cerebrais.

Segundo Garcia [42], a toxicidade relativa dos herbicidas Dose Letal 50 (DL 50) também é um fator importante de classificação. Desta forma, os herbicidas de acordo com sua toxicidade podem ser classificados conforme a tabela 06.

Tabela 06: Classificação dos herbicidas de acordo com sua toxicidade.

Toxicidade	DL 50
Extremamente tóxico	5 – 50 mg kg ⁻¹
Muito tóxico	50 – 500 mg kg ⁻¹
Moderadamente tóxico	500 – 5000 mg kg ⁻¹
Ligeiramente tóxico	5 – 15 g kg ⁻¹
Praticamente não tóxico	> 15 g kg ⁻¹

Aproximadamente 75% da superfície da terra é coberta por água. Atualmente, as áreas urbanas do mundo dependem da superfície das águas que é a principal fonte de água potável, e às vezes, essas águas superficiais são desperdiçadas. Quando níveis excessivos de herbicidas poluem a superfície das águas, eles geralmente representam um investimento perdido para o uso, bem como um potencial limitante na utilização dessas águas.

Muitas vezes, inseticidas são adicionados diretamente na superfície da água na tentativa de controlar mosquitos e outras pestes, mas, mesmo assim a principal fonte de poluição tem sido provocada pelos herbicidas usados na agricultura.

O intervalo de tempo entre a aplicação do pesticida e a primeira chuva é suficiente para que o efeito seja significativo na quantificação do herbicida perdido na superfície das águas. Por exemplo, a aplicação de triazinas [43] na lavoura e após 1 hora de chuva forte resulta na perda de 17% do herbicida, conseqüentemente, os rios serão contaminados. Estes herbicidas são persistentes e capazes de acumulação biológica direta nos tecidos de carnívoros, peixes e pássaros, podendo causar até a morte. No organismo humano estes herbicidas trazem prejuízos ao DNA [44], e são letais com concentrações maiores que 1800 mg L⁻¹.

A Comissão Européia do Meio Ambiente tolera a presença de até 0,1 µg L⁻¹ por herbicida em água para consumo humano [45]. As triazinas listadas como maiores poluentes são a atrazina, simazina, cianazina, prometrina, terbutilazina e terbutrina.

2.6 Persistência das Tiotriazinas no meio ambiente

A persistência das tiotriazinas no solo depende da sua estabilidade e solubilidade em águas. Se a substância for volátil ou quimicamente instável e solúvel em água, é improvável a sua persistência por muito tempo, apesar de que a extensão da persistência é consideravelmente influenciada pela temperatura, pelo tipo e microbiologia do solo. Materiais voláteis têm relativamente pequenas meias-vidas em alguns solos, porque podem ser facilmente expulsos para a superfície e eliminados por evaporação e também por foto decomposição, enquanto que materiais de baixa volatilidade podem se manter estáveis no solo por meses ou anos, dependendo da sua concentração. A dificuldade das tiotriazinas se degradarem deve-se ao fato destas substâncias terem vários grupos estruturais na molécula, exigindo diferentes enzimas catabólicas que não são usualmente encontradas em organismos de metabolismo simples.

A absorção e translocação das triazinas ocorrem de maneira geral de forma bastante rápida. Em solução aquosa apresentam-se de duas formas: a primeira é compreendida nos 30 minutos iniciais após a aplicação, e a segunda dentro de um período de 24 horas. A razão da absorção pelas raízes das plantas também, aumenta em função da temperatura e da concentração dos herbicidas, influenciando diretamente na translocação do herbicida até as folhas. Isto sugere que o fenômeno de acumulação é dependente do grau de solubilidade dos compostos lipídicos, por exemplo, o uso de prometrina em soja. Em certas gramíneas, tal como a aveia, que não assimilam a degradação das triazinas, há uma progressiva acumulação do herbicida devido às sucessivas aplicações. Em espécies de plantas em que as folhas são mais largas o acúmulo ocorre nas margens das folhas, em seguida os sintomas fitotóxicos começam a aparecer. Salienta-se também que a absorção do herbicida está relacionada à quantidade de água que a planta absorve [44].

Os herbicidas 1, 3, 5 triazínicos são estáveis em meio neutro e no meio levemente ácido ou levemente alcalino. Sofrem decomposição nos meios fortemente alcalinos e ácidos e também sob a ação da luz ultravioleta. Os herbicidas triazínicos são considerados moderadamente persistentes no meio ambiente, decompondo-se num período de um a oito meses. A degradação ambiental destes compostos ocorre fundamentalmente através de N-desalquilação em R₂ e R₃ e O-desmetilação no

caso da Propazina, Atraton e Terbumeton. Assim, a degradação de terbutrina, em meio aquático, há a formação de N-deetil-terbutrina, N-deetil-hidroxiterbutrina, 2-(terc-butilamino)-4-(etil-amino)-1, 3, 5-triazina e 2-(terc-butilamino)-4-amino-1, 3, 5-triazina [37].

A revisão de Barr e Needham [46] representa esquematicamente o caminho que os herbicidas percorrem no organismo humano, desde a exposição, absorção, excreção e até mesmo uma possível manifestação de doenças (figura 05). A exposição humana as triazinas pode também estar associado ao desenvolvimento de câncer ovariano [47].

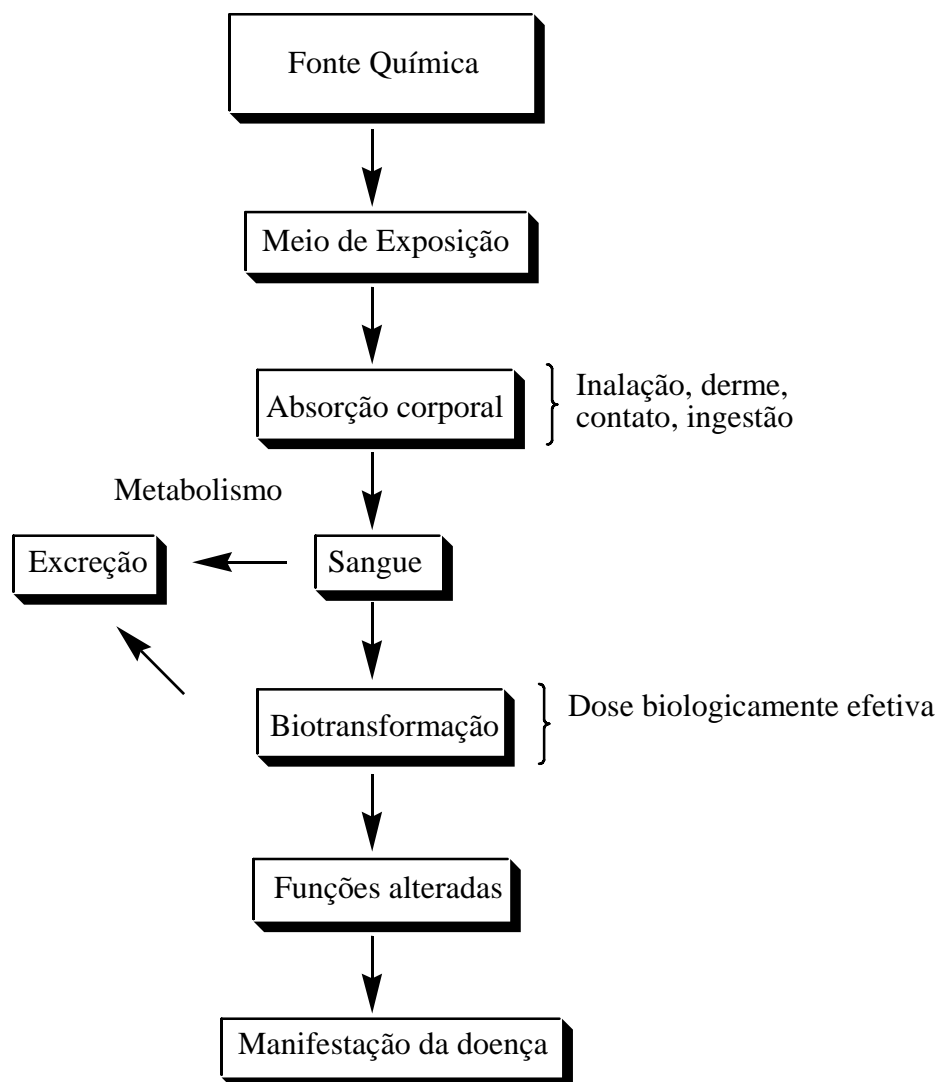


Figura 05: Representação esquemática do caminho de um agroquímico em humanos [46].

2.7 Determinação de Tiotriazinas e ETU em amostras aquosas

Vários métodos são usados para a determinação de tiotriazinas como, por exemplo, os métodos espectrofotométricos [48], a cromatografia gasosa [49, 50] e a cromatografia líquida [51, 52, 53].

A CG mostra ter um grande potencial e é uma das técnicas analíticas mais usadas na quantificação destas substâncias. A seletividade e a sensibilidade desta técnica são melhoradas quando as colunas e o sistema de detecção são adequados a este tipo de compostos.

As tiotriazinas podem ser detectadas com detector de ionização em chama, mas, obtém-se melhor seletividade e sensibilidade quando se usa o detector de fósforo-nitrogênio, uma vez que existem átomos de nitrogênio na molécula [54]. Os limites de detecção obtidos por CG-DFN são de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ para amostras de solo. Pode-se melhorar o sistema acoplando um espectrômetro de massas (EM) ao cromatógrafo, para se obter vantagens na possibilidade de identificar triazinas e seus produtos de degradação e determiná-los com outros pesticidas simultaneamente [55].

A CLAE possibilita a determinação de tiotriazinas e subprodutos polares a apolares, sem o uso da derivatização. Assim como a CG, a CLAE também precisa de uma fase estacionária adequada para a separação de cada tipo de substância.

A detecção mais apropriada para este tipo de composto em CLAE é o detector UV. A detecção na região do UV é dependente do pH e da composição da solução. Apesar disso, a detecção fotométrica no UV é bastante sensível para as tiotriazinas em 222 nm, podendo alcançar um limite de detecção da ordem de $1 \mu\text{g L}^{-1}$.

Para a determinação de ETU os métodos analíticos mais comumente empregados são a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência, sendo a CG a técnica mais utilizada [56-62]. A seletividade e a sensibilidade desta técnica são melhoradas quando as colunas e o sistema de detecção são adequados a este tipo de composto, onde a ETU pode ser detectada utilizando-se o detector de fósforo-nitrogênio e o detector por de captura de elétrons. Pode-se, ainda, melhorar o sistema de detecção acoplando-se um espectrômetro de massas, para obter vantagens na identificação da ETU. Entretanto, devido à baixa volatilidade e estabilidade térmica da ETU, a etapa de derivatização torna-se necessária, o que

significa longos tempos de preparo da amostra e baixos valores de recuperação, principalmente em matrizes complexas [63, 64, 65, 66]. Desta forma, a CLAE apresenta-se como uma alternativa atraente, pois, não é necessário o uso da derivatização; conseqüentemente, as análises serão mais rápidas e, geralmente, o solvente usado na extração é também utilizado como fase móvel.

Adicionalmente, como técnicas alternativas para a determinação de ETU são usadas à cromatografia eletrocinética capilar [67], a espectrofluorimetria [68, 69] e métodos cinéticos [70] baseados em propriedades catalíticas ou inibitórias da ETU em certas reações. Todavia estas técnicas oferecem uma baixa seletividade na medida.

Apesar dos métodos cromatográficos serem mais amplamente utilizados na determinação de produtos agroquímicos nas mais variadas matrizes, observa-se que eles não são adequados para matrizes salinas devido tanto a alta polaridade da matriz quanto à sobrecarga que ocorre nas colunas, obrigando a etapas de limpeza das amostras antes das análises. Uma solução para este problema pode ser a utilização de métodos eletroanalíticos que são muito sensíveis e não sofrem interferências significativas de matrizes salinas.

2.8 Determinação de Tiocompostos por Voltametria

Moléculas que contém um ou mais grupos tióis [71] originam em medidas voltamétricas com o eletrodo de mercúrio, ondas catódicas a partir da formação de um composto pouco solúvel com o eletrodo. Uma etapa prévia envolvendo geralmente a oxidação do mercúrio [72, 73] garante a formação do composto a ser reduzido durante a varredura catódica. Neste processo, o potencial no qual o mercúrio se oxida depende do analito presente na célula voltamétrica e o perfil da onda catódica obtida depende do processo de adsorção dos analitos no eletrodo. Em muitas situações, dependendo do eletrólito, do pH da solução e dos parâmetros utilizados na voltametria uma pré-onda pode também aparecer na base da onda principal. A reação anódica anterior à varredura catódica pode ser expressa pela equação



onde, única oxidação que se observa é a passagem de Hg^0 à Hg^+ na superfície do eletrodo de mercúrio.

Diferentemente, as espécies que apresentam grupos dissulfeto, como a cistina e o ácido ditiodimálico, formam diretamente uma onda de redução catódica que ocorre em potenciais bem negativos (< -1000 mV vs. Ag/AgCl), sem a prévia oxidação do mercúrio no eletrodo:



Estas reações de redução dos grupos dissulfeto são irreversíveis no eletrodo de mercúrio devido à cinética da reação associada ao processo de adsorção. A pré-onda observada na presença dos grupos tiol também ocorre na presença de grupos dissulfeto e pode ser evitada com a adição de agentes tensoativos tais como o Triton X-100, gelatina e timol à célula voltamétrica.

O comportamento eletroquímico de moléculas orgânicas depende, de uma maneira geral, da polarizabilidade de certas ligações na presença do campo elétrico gerado pelo eletrodo de trabalho. A adsorção e outros fatores estruturais também influenciam o comportamento eletroquímico. O potencial de meia-onda que pode ser característico para cada espécie, também depende diretamente da polaridade, da natureza e de fatores estéricos (eletroatividade de grupo) que controlam a posição da molécula na superfície do eletrodo. Estes fatores são relacionados com a distribuição de ligações na molécula e o caráter eletrofílico de certos grupos presentes e podem conduzir às determinações simultâneas com boa seletividade.

As tiotriazinas como são tiocompostos, apresentam um comportamento voltamétrico complexo de compostos heterocíclicos contendo nitrogênio, devido ao fato de que alguns deles formam ondas catalíticas de hidrogênio em adição ao tipo normal da onda de redução. As ondas catalíticas são atribuídas à descarga de hidrogênio e as variações dependem das condições usadas no trabalho. A altura e a

forma dessa onda dependem de alguns fatores como o pH e concentração do analito. A onda catalítica difere da onda de redução normal em que a altura produzida é consideravelmente maior do que a corrente de difusão.

Os compostos orgânicos como as tiotriazinas têm grupos eletro redutíveis em sua composição, o que permite sua análise por voltametria em potenciais em torno de -1000 mV [74, 75, 76, 77]. Os métodos voltamétricos mais sensíveis são a Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) e a Voltametria de Onda Quadrada (VOQ), capazes de determinar concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$. Para melhorar a sensibilidade podem-se combinar estas técnicas com a pré-concentração na superfície do eletrodo para o composto a ser determinado, como no caso da voltametria adsortiva de redissolução catódica (VARC), que foi a técnica empregada devido à boa capacidade de adsorção dos analitos na superfície do eletrodo de mercúrio em meios aquosos e salinos [78].

2.9 Determinação de ETU por Voltametria

Apesar dos métodos voltamétricos apresentarem uma alta sensibilidade para a determinação de tiocompostos [79-84], encontra-se um número reduzido de citações envolvendo a determinação de ETU e outros produtos de degradação dos EBDCs por voltametria e polarografia.

Vanderberg e Johnson [85] descreveram o comportamento voltamétrico da ETU no eletrodo de ouro com disco rotatório (Au-EDR) em meio alcalino. De acordo com os autores, a resposta voltamétrica no eletrodo foi fortemente influenciada pela adsorção da ETU, onde o sinal resultante é devido à sua adsorção, oxidação e formação de óxidos na superfície do eletrodo de ouro.

Até onde sabemos existem poucas descrições na literatura envolvendo a determinação voltamétrica de ETU utilizando o eletrodo de mercúrio. No entanto, Carvalho e colaboradores [86] investigaram o comportamento voltamétrico da ETU em amostras aquosas utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de mercúrio de gota pendente (HMDE) e como eletrólito suporte uma solução tampão borato pH= 9,0. Os autores observaram $E_{\text{pico}} = +0,02 \text{ V}$ para ETU, encontrando valores de LD a níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$.

Vanderberg e colaboradores [87] desenvolveram um sistema de detecção amperométrico on line e off line para Tiouréia utilizando eletrodo de ouro em meio alcalino. A Tiouréia foi detectada por eletrodo de ouro [88] e também é um dos representantes principais na escolha para estudos envolvendo compostos orgânicos com enxofre na estrutura molecular [89]. Os experimentos de Vanderberg foram desenvolvidos em meio a uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, utilizada como eletrólito e desoxigenada com Nitrogênio (99,99% de pureza) antes dos ensaios analíticos. Previamente as análises, o eletrodo de ouro (EDR) é polido com alumina $0,05 \mu\text{m}$ e lavado com abundância com água ultra pura. A atividade superficial dos eletrodos de ouro pode ser restaurada pelo polimento com alumina que foi o procedimento escolhido, ou ainda, através da transferência de uma solução eletrolítica nova seguida por múltiplos ciclos entre os limites iniciais das ondas catódicas ($E < -0,90 \text{ V}$) e anódica ($E > +0,20 \text{ V}$) para evitar o desprendimento de H_2 e O_2 , respectivamente.

Dorge e Yee [90] desenvolveram um método de análise com detecção amperométrica utilizando eletrodo de ouro, que foi preparado com polimento manual prévio usando um fino abrasivo. A restauração da superfície do eletrodo de trabalho após polimento, foi feita variando potenciais e tempos por aproximadamente 30 minutos. O trabalho de Dorge e Yee determina até $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de ETU por amperometria, em amostras aquosas sem preparo prévio, comparando os resultados obtidos com amperometria que usa como eletrodo de trabalho um eletrodo de ouro com Hg eletrodepositado [91].

Ngoviwatthai e Johnson [92] selecionaram três classes de herbicidas contendo enxofre para serem separados por cromatografia e determinados por amperometria. O eletrodo de ouro utilizado na detecção amperométrica foi pré condicionado por polimento com alumina (partícula com $0,3 \mu\text{m}$ de diâmetro) e lavado com água em abundância. O potencial aplicado no eletrodo de trabalho foi ciclado na solução teste até as curvas corrente-potencial serem reproduzíveis. A caracterização do detector amperométrico de pulso (DAP) foi determinada usando um sistema de análise de injeção em fluxo (AIF) construído para o sistema cromatográfico para eluição isocrática da coluna C18. O método proposto pelos pesquisadores separa 8 herbicidas contendo S em uma coluna C18 fase reversa com 50% (v/v) acetonitrila em tampão acetato (pH= 5,0) como fase móvel, obtendo limites de detecção de até 100 ng mL^{-1} .

2.10 Determinação on line de Tiotriazinas utilizando método amperométrico de detecção

A Amperometria é uma técnica eletroquímica que mede as diferenças de corrente (i) do sistema, geradas pela aplicação de um potencial fixo em função da concentração de analitos existentes na célula amperométrica.

A intensidade da corrente de eletrólise do sistema depende não só do potencial eletrolítico como também da concentração das substâncias eletroativas presentes em uma solução. Assim, sob condições controladas, a medida da intensidade da corrente de eletrólise permite avaliar a concentração da solução.

O sistema Amperométrico utiliza normalmente 3 eletrodos: um de referência de Ag/AgCl, um contra eletrodo de Platina e um eletrodo de trabalho de carbono vítreo reticulado.

A Amperometria utiliza eletrodos de carbono a mais de 40 anos devido a vantagens do sistema como, por exemplo, a baixa corrente residual em meio aquoso [93, 94], e em meio orgânico [95, 96]. A alta sensibilidade destes compostos é descrito por Kamau na revisão [97]. Os resultados eletroquímicos de um sistema amperométrico dependem da reprodutibilidade do método e também são muito influenciados pela preparação do eletrodo de trabalho [98-105].

O primeiro eletrodo de carbono foi preparado por Yamada e Sato [106] em 1962, mas, só em 1965 foi aplicado como eletrodo de trabalho em ensaios eletroquímicos por Zittel e Miller [94]. A partir daí, inúmeros trabalhos foram desenvolvidos utilizando a versatilidade das técnicas eletroquímicas e a sensibilidade dos eletrodos de carbono vítreo como detector.

Farninnejad e colaboradores [107] determinaram triazinas e derivados utilizando o método amperométrico com eletrodo de carbono vítreo como detector em meio não aquoso. O método consiste previamente na limpeza e polimento do eletrodo de carbono. O polimento é feito com Alumina em pó com o mesmo tamanho de partícula 5 minutos antes dos ensaios eletroquímicos. Em seguida o eletrodo deve ser lavado duas vezes com água destilada e subseqüentemente escaneado por 8 vezes na faixa de $E = -1,20 \text{ V}$ a $E = -2,80 \text{ V}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$, para condicionar o eletrodo.

Para evitar a redução de O_2 na superfície do eletrodo de trabalho quando estiver aplicando potenciais muito negativos, as soluções teste devem ser desoxigenadas através do borbulhamento direto com argônio purificado.

Os resultados são obtidos ao aplicar potenciais em $E = -1,00 \text{ V}$; $E = +2,00 \text{ V}$. Conforme a corrente (i) vai decrescendo e o tempo aumentando, os sinais amperométricos vão sendo formados. A cada intervalo de análise o eletrodo é devidamente limpo.

2.11 Coulometria

A Coulometria é uma técnica analítica que se baseia na Lei de Faraday que relaciona a quantidade de eletricidade com o número de moles que se reduzem, ou oxidam, quando há passagem de corrente através de uma célula eletroquímica:

$$\int i dt = Q = nFN$$

Sendo Q o número de coulombs consumidos na redução, ou oxidação, de N moles da espécie em questão, i a intensidade da corrente em ampéres, e t o tempo em segundos.

A lei de Faraday foi usada primeiramente para determinar a quantidade de eletricidade a partir das transformações químicas produzidas pela corrente. No entanto, pode também aplicar-se de modo inverso, determinando a quantidade da substância a partir da medição da quantidade de eletricidade envolvida, o que dá origem ao aparecimento da Coulometria, método utilizado pela primeira vez em 1940.

O método coulométrico, podem ser usado em duas técnicas diferentes. Na primeira mantém-se o potencial do eletrodo de trabalho num valor pré determinado, até que a intensidade da corrente se anule, o que indica o final da reação: trata-se da coulometria de potencial constante ou controlado. A quantidade total de eletricidade consumida durante a eletrólise é determinada por um aparelho chamado Coulômetro, ou por integração da curva corrente-tempo.

A segunda técnica usa um valor constante para a intensidade da corrente, dando-se a reação por terminada quando da indicação do ponto final de um indicador convenientemente escolhido. A quantidade de eletricidade necessária para atingir o ponto final pode calcular-se facilmente a partir do valor de intensidade de corrente e do tempo de passagem através da solução:

$$Q = i \cdot t$$

Esta técnica é denominada coulometria a corrente controlada.

A Coulometria de potencial constante é um método absoluto de análise que se baseia na quantidade de eletricidade (Coulombs) necessária para a conversão de aproximadamente 100% de uma substância por eletrólise (oxidação ou redução). A Coulometria como as outras técnicas eletroquímicas utiliza um eletrodo de referência normalmente de Ag/AgCl, um contra eletrodo de grafite e um eletrodo de trabalho que pode ser de Hg, Au.

Gunawardena e colaboradores [108] estudaram a cinética de nucleação eletroquímica de Hg na superfície do carbono vítreo, para soluções de nitrato de Hg em solução aquosa de KNO_3 . Os autores utilizaram um eletrodo de carbono vítreo com área superficial de $0,32 \text{ cm}^2$, e uma solução de $0,03 \text{ mol L}^{-1} \text{ Hg}_2(\text{NO}_3)_2$ em meio KNO_3 1 mol L^{-1} para a eletrodeposição.

Paralelamente a este trabalho, Serruya et al [109] também estudaram o comportamento cinético do Hg na superfície do carbono vítreo. A eletrodeposição de Hg foi realizada com uma solução contendo $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ de nitrato de Hg I e II, em uma solução de KNO_3 utilizada como eletrólito suporte, acidificada com algumas gotas de HNO_3 para evitar a hidrólise de Hg_2^{+2} em Hg. O eletrodo de trabalho é um disco de carbono vítreo, polido com alumina com partículas menores que $0,05 \mu\text{m}$ e limpo com ultra-som antes dos experimentos. A eletrodeposição ocorre ao aplicar um potencial dentre o eletrodo de trabalho e o de referência (Ag/AgCl), para que, rapidamente a superfície do carbono seja recoberta por uma fina camada de mercúrio. Outros pesquisadores presentes na literatura [110, 111, 112] também estudaram o comportamento cinético do Hg em superfícies de carbono.

Skopalová e co-autores [113] estudaram o comportamento de redução eletroquímico da prometrina. A redução coulométrica da tiotriazina foi realizada em meio ácido (H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, tampão Britton Robinson pH= 3,6 e 3,9) contendo de 10 – 50% (v/v) de metanol em um potencial constante de acordo com o limite da corrente de difusão para o pH a solução (-1,10 V, -1,20 V e -1,50 V). Os gases residuais resultantes das medidas coulométricas da redução da prometrina foram determinados por cromatografia gasosa.

Em outro experimento Skopalová e Kotoucek [114] avaliaram o comportamento de seis herbicidas triazínicos (atrazina, terbutilazina, desmetrina, prometrina, terbutrina e metoprotrina), utilizando a coulometria de potencial constante que mede o número de elétrons trocados durante o processo de redução do analito na superfície do eletrodo de trabalho. A tiotriazina foi reduzida em solução tampão

Britton-Robinson pH= 3,9 com 10% (v/v) metanol em um potencial de $E_{\text{pico}} = -1,25 \text{ V}$, por uma hora de eletrólise.

2.12 Métodos Espectrofotométricos

A Espectrofotometria na região UV-Vis do espectro eletromagnético é uma das técnicas analíticas mais empregadas, em função de robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações desenvolvidas. Consultando o banco de dados do "Analytical Abstracts", verifica-se mais de 40.000 ocorrências relacionadas à Espectrofotometria Molecular. Os procedimentos envolvem medidas diretas de espécies que absorvem radiação, medidas após derivação química e acoplamento a diversas técnicas ou processos, como cromatografia, eletroforese e análises em fluxo. Além disso, é também uma importante ferramenta para determinação de parâmetros físico-químicos, tais como constantes de equilíbrio e de velocidade de reações.

Berg e colaboradores [115] em seus estudos determinaram triazinas e alguns de seus metabólitos simultaneamente em amostras aquosas. Os herbicidas triazínicos atrazina, simazina, terbutilazina, propazina, prometrina e seus metabólitos são quantificados simultaneamente em concentrações de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ a $1500 \mu\text{g L}^{-1}$. As triazinas foram separadas por CLAE utilizando uma coluna ODS (Ultracarb 5, $150 \times 4,6 \text{ mm}$; Phenomenex, torrance, CA). A separação utilizou um gradiente de eluição em um fluxo de $0,9 \text{ mL min}^{-1}$. As condições iniciais foram 15% de acetonitrila e 85% tampão ($\text{KH}_2\text{PO}_4 - 0,001 \text{ mol L}^{-1}$, pH= 7,0) isocrático, por uma hora, seguido por um gradiente linear de 70% de acetonitrila por 32 minutos. A absorbância do sistema é medida continuamente na faixa de $\lambda = 200 \text{ nm}$ à $\lambda = 356 \text{ nm}$ por detecção espectrofotométrica UV/Vis com arranjo de diodo seguindo a separação do soluto na coluna CLAE. Os picos da tiotriazinas são quantificados em seu ponto de maior absorbância espectral, em $\lambda = 221 \text{ nm}$. Os resultados espectrofotométricos são comparados com CG acoplada a EM.

Battista et al [116], desenvolveram um sistema de extração e isolamento de triazinas em amostras de água e vegetais. As amostras de água são filtradas para remover os sedimentos suspensos, se necessário. Em seguida, as substâncias orgânicas da amostra são adsorvidas numa coluna Carbopack sob um fluxo de 3 a 4 mL min⁻¹. A eluição da coluna cromatográfica é feita com 5 mL de acetonitrila passados a um fluxo de 1,5 mL min⁻¹ por dessorção dos herbicidas e para a detecção espectrofotométrica em $\lambda = 220$ nm, encontrando limites de detecção de até 10 ng L⁻¹ para o método proposto.

Dörfler e seu grupo de pesquisa [117] encontraram níveis de contaminação de terbutrina menores que 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de águas superficiais. As amostras são analisadas por um sistema CLAE composto por uma coluna Lichrospher 100 RP-8, 5 μm , 250 x 4 mm (Merck), fluxo 1 mL min⁻¹ a fase móvel metanol : água (35:35) foi utilizada no sistema. A detecção espectrofotométrica UV/Vis do sistema foi fixa em seu ponto de maior absorção espectral $\lambda = 220$ nm para a tiotriazina.

Na literatura existem poucas publicações de determinações espectrofotométricas UV/Vis para ETU em meios aquosos, mas, é possível determinar essa substância em alguns tipos de alimentos como amêndoas [118] e tomates [119]. Em tomates, por exemplo, após o preparo prévio da amostra os analitos são eluídos com um fluxo de 1 mL min⁻¹. As medidas quantitativas do pico das áreas CL – UV foram feitas em $\lambda = 232$ nm (ETU, EU) e $\lambda = 280$ nm para Maneb.

2.13 Pré concentração de espécies

A pré-concentração de espécies utilizando resinas poliméricas tem sido uma alternativa para análises de substâncias que se apresentam em soluções com baixíssimas concentrações. A grande variedade de fases estacionárias disponíveis no mercado permite escolher a mais adequada ao tipo de analito para que se obtenha o máximo de eficiência possível [120, 121, 122].

Buccheit e Witzemberger [123] compararam a eficiência de extração entre o copolímero etilvinilbenzeno-divinilbenzeno e a Extração Fase Sólida (EFS) clássica com coluna C18. Os pesquisadores perceberam que as colunas C18 tradicionais, às vezes, não são muito apropriadas para extração de contaminantes altamente polares em grandes volumes de amostras, por isso, a alternativa do copolímero proposto. As colunas com os polímeros teste são lavadas com metanol e água, respectivamente. Para as fases estacionárias condicionadas, são passadas amostras de água sob um fluxo de 5 mL min⁻¹. A eluição é procedida em duas bateladas, cada uma com 3 mL de uma mistura de metanol-acetato de etila (1:1, v/v), sob vácuo. O excesso de solvente é evaporado e o resíduo dissolvido em 1 mL da mistura acetonitrila e acetato de amônio (20:80, v/v) e filtrado para ser injetado no sistema CLAE e determinado por Espectrofotometria Molecular com detector com arranjo de diodo em $\lambda = 220$ nm. As tiotriazinas prometrina e terbutrina fazem parte dos 33 herbicidas separados por CLAE utilizando os polímeros em teste, onde, segundo os autores o polímero proposto apresentou melhores rendimentos que a coluna C18, que não recupera quantitativamente substâncias polares como a Deisopropilatrizona.

Martínez et al [124] desenvolveram um método empregando EFS para a pré-concentração simultânea de três dos herbicidas mais usados e sete produtos de degradação. Os herbicidas atrazina, terbutrina, clorotoluron e seus metabólitos foram separados por CLAE e quantificados por EM-DAD.

A etapa de pré-concentração compara a eficiência da coluna C18 com outros polímeros, para isso, os autores avaliaram o comportamento do copolímero poly(divinilbenzeno co-N-vinilpirrolidone) que exibe características de retenção hidrofílica e lipofílica; e também um polímero hidrofóbico de estireno divinilbenzeno (Lichrolut EN). O condicionamento do polímero é feito com 5 mL de metanol, 5 mL

de acetato de etila, 5 mL de água, respectivamente. As amostras (250 mL) são passadas pela coluna sob um fluxo de 7 mL min^{-1} e os analitos retidos são eluídos com 5 mL de metanol e 5 mL de acetato de etila. A fase orgânica é evaporada em rota vapor a uma temperatura de 45 a $50 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo o resíduo dissolvido em uma solução contendo $500 \mu\text{L}$ de acetonitrila em tampão fosfato $0,005 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 7,2$ (50:50, v/v).

Os autores consideraram os resultados satisfatórios para o polímero Lichrolut EN que pode ser usado na pré-concentração de analitos de diferentes polaridades permitindo determinar atrazina, terbutrina, clorotoluron em níveis de concentração de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$.

A determinação de Clorotriazinas, Metiltiotriazinas e Metoxitriazinas utilizando EFS em amostras aquosas, foi estudada por Dopico et al [125], que comparam a eficiência de 2 polímeros Carbograph e Polymeric frente aos analitos. As colunas Carbograph e a resina polimérica a base de poliestireno-divinilbenzeno são condicionadas para posterior quantificação por EM-UV/Vis em $\lambda = 220 \text{ nm}$.

Comparando as resinas em teste, os autores perceberam que os 2 polímeros podem ser utilizados na pré-concentração, com excelentes resultados, porém, o polímero Carbograph apresentou melhor repetibilidade.

Na literatura encontram-se outros trabalhos que também envolvem a pré-concentração de tiotriazinas e triazinas [126-130], envolvendo a utilização de colunas C18, micro extração e extração líquido-líquido.

2.14. Matrizes Salinas

As matrizes salinas como a água do mar e o concentrado salino utilizado no processo de hemodiálise, com salinidades em torno de 3,5% e 30%, respectivamente, são consideradas matrizes de alta complexidade e pouco estudadas, apesar da grande importância da investigação do assunto.

Soluções com altas concentrações salinas, modificam a solubilidade de compostos agroquímicos através do efeito “salting-out”, tornando essas substâncias mais suscetíveis a mudanças de meio em função de uma força iônica menor no meio aquoso na ausência de sais.

A hemodiálise é um importante método de depuração extra-renal capaz de remover eficientemente uma série de produtos finais do metabolismo, como catabólitos nitrogenados, que não são adequadamente eliminados pela urina em pacientes com insuficiência renal avançada [131, 132, 133]. Ela também é importante para remover adequadamente o excesso de potássio, água e sal que se acumulam facilmente nestes pacientes, o que poderia determinar sua morte. Além disso, a hemodiálise possibilita a correção da acidose metabólica habitual no paciente com insuficiência renal, transferindo bicarbonato da solução de diálise para o sangue do paciente.

A hemodiálise permite manter vivos pacientes com insuficiência renal aguda enquanto recuperam a sua função renal inicial, o que ocorre em mais de 80% dos casos. Além disto, também manter vivos prolongadamente pacientes com insuficiência renal crônica avançada, seja como método definitivo de tratamento ou até a realização de transplante renal [134].

A saúde de pessoas que sofrem de insuficiência renal está diretamente ligada à possibilidade de purificação do sangue em sessões de hemodiálise (figura 06), onde por processos de difusão através de membranas semipermeáveis, devem ser eliminados os metabólitos que o organismo produziu, não necessita e não consegue eliminar através dos rins. Seja qual for o tipo de processo ao qual o paciente deva se submeter - hemodiálise, diálise peritoneal ou hemofiltração - há a necessidade do uso de soluções de diálise, que são preparadas pela dissolução de sais e outras substâncias em grandes volumes de água. Como o volume da solução de diálise necessário em cada sessão é muito grande, cerca de 360 L por semana, e ainda, no

caso da insuficiência renal crônica, é um procedimento de rotina, a qualidade da água utilizada no seu preparo é fundamental para a saúde dos pacientes que se submetem ao tratamento [135].

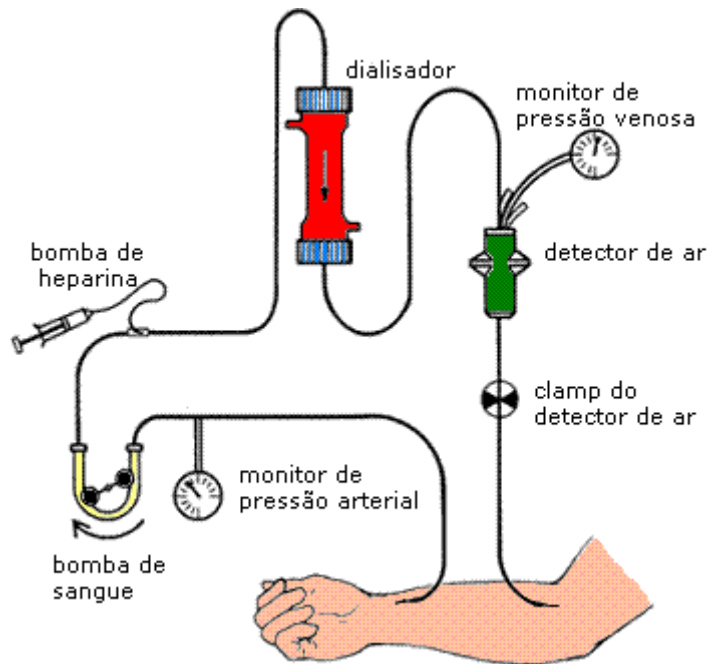


Figura 06: Esquema representativo do sistema de hemodiálise.

Fluidos de diálise (FD) ou solução dialítica são denominações dadas a soluções de concentrado químico diluído em água tratada de diálise. Concentrados químicos são soluções comerciais de concentrados salinos que são fornecidas às clínicas em embalagens de aproximadamente 4 L e são diluídas nos 120 L de água utilizados a cada sessão de diálise.

A água que chega às clínicas de hemodiálise pode ser proveniente de estações de tratamento ou de poços artesianos. Seja qual for a sua origem, a água deve ser tratada diretamente nas clínicas, pelo uso de filtros associados a resinas de troca iônica ou unidades de osmose-reversa [136]. O controle de qualidade da água utilizada pelos centros de hemodiálise deve ocorrer mensalmente com relação a microorganismos e endotoxinas e semestralmente com relação à contaminantes

químicos para garantir a ausência de contaminantes orgânicos e inorgânicos que são capazes de atravessar as membranas de hemodiálise.

No tratamento da água, por troca iônica, são eliminados, basicamente os eletrólitos, cátions e ânions. A eliminação de microorganismos e substâncias moleculares deve ocorrer pela passagem da água através de filtros de areia e carvão. Na osmose-reversa, tanto íons como moléculas e microorganismos são eliminados da mesma forma, pois neste caso, é a água que atravessa as membranas do sistema. Entretanto, para os dois sistemas, além dos riscos de saturação de filtros e resinas e degeneração de membranas, existem limites para a eliminação do material dissolvido na água, que é estabelecido em função da sua natureza e tamanho.

A manutenção de pacientes em hemodiálise, sem complicações provenientes de contaminações do dialisato, depende da qualidade do tratamento da água e da integridade das membranas do hemodialisador, uma vez que apenas estas membranas semipermeáveis são as interfaces entre o sangue do paciente e o fluido de diálise.

Dentre os tipos de substâncias que podem atravessar os sistemas de filtros, troca-iônica ou osmose-reversa, podem ser incluídos os agrotóxicos, cujo uso em larga escala é indiscutível. Estas substâncias atingem fontes de água potável como mananciais, rios e lençóis freáticos, podendo chegar aos sistemas municipais de tratamento, e também às clínicas de hemodiálise trazendo riscos aos pacientes submetidos ao tratamento hemodialítico. Mesmo quando isto ocorre em pequena escala, o problema é consideravelmente grande devido à elevada toxicidade destas substâncias associada a total dependência que a saúde do nefropata apresenta em relação à qualidade da água [137, 138, 139, 140].

Apesar de ser uma prática estabelecida há mais de vinte anos, a hemodiálise, é ainda tema de discussão principalmente em função da qualidade da água e capacidade de filtração das membranas dos hemodialisadores, com relação à passagem dos solutos tanto do sangue para a solução de diálise quanto desta para o sangue.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instrumentação

- Voltametria:

646 VA Processor (Metrohm)

675 VA Sample Changer (Metrohm)

Eletrodo de Referência – Ag/AgCl/KCl 3 mol L⁻¹

Contra eletrodo – Platina

Eletrodos de trabalho:

- eletrodo de mercúrio de gota pendente, modo HMDE.
- eletrodo de ouro (superfície: 0,32 cm²).

- Coulometria:

EG&G

Princeton Applied Research

Coulômetro Digital

Modelo 179

Eletrodo de Referência: Ag/AgCl/KCl 3 mol L⁻¹

Contra eletrodo: Grafite

Eletrodos de trabalho:

- Fio de cobre (pureza: 99,99%) com Hg eletrodepositado
- Carbono vítreo Reticulado (CVR) com Hg eletrodepositado.
Porosidade: 30 poros por polegada linear.

- Potenciostato:

EG&G

Potenciostato/Galvanostato

Modelo 173. Modelo 175.

Eletrodo de referência: Ag/AgCl/KCl 3 mol L⁻¹

Contra eletrodo: prata

Eletrodo de trabalho:

- CVR com Hg eletrodepositado.

- Interface Amperométrica:

Durante este trabalho foi construída (não por este autor) uma interface adaptada ao potenciostato EG&G, modelo 173.

Descrição geral:

O registrador possui duas entradas analógicas projetadas para leitura dos sinais do potenciostato (tensão e corrente). A leitura proveniente do potenciostato é digitalizada e transferida continuamente para o computador através da interface serial RS-232, onde o software de aquisição de dados do computador mostra a leitura na tela através de tabela e gráfico e gera como saída uma planilha do Excel com os dados.

Entradas analógicas

O potenciostato possui duas saídas analógicas, uma proporcional à tensão aplicada e a outra proporcional à corrente medida. A saída proporcional à tensão varia entre -5,00 V a +5,00 V. A saída proporcional à corrente medida varia entre -

1,00 V e +1,00 V. A corrente indicada depende da escala de corrente selecionada no potenciostato.

Os circuitos de entrada de tensão e entrada de corrente do registrador utilizam amplificadores operacionais TLC2274 da Texas Instruments, com as seguintes características:

- Saída Rail-to-Rail, possibilitando uma ampla faixa dinâmica operando com fonte de alimentação única, sendo uma ótima opção para interfaceamento com o conversor analógico-digital (ADC).
- Baixo ruído e alta impedância de entrada;
- Baixo offset de entrada característica desejável em circuitos de instrumentação.

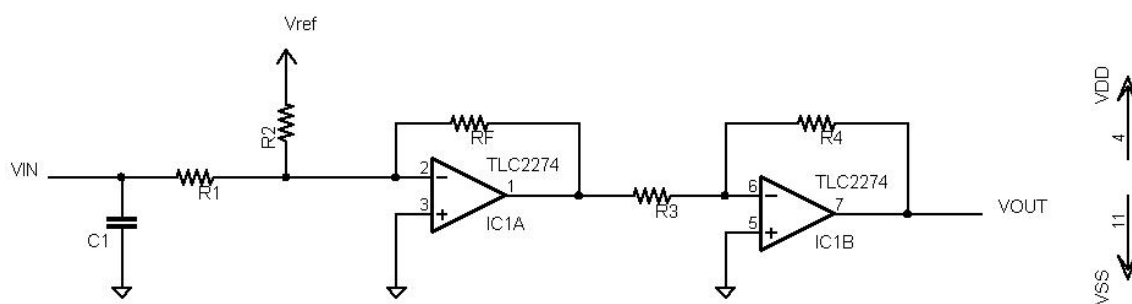
O circuito utilizado em ambas as entradas está demonstrado abaixo. O circuito possui dois estágios amplificadores: um amplificador inversor para dar ganho e offset e um segundo estágio para inversão do sinal.

A tensão V_{ref} é de 5,00 V, proveniente do circuito de referência de tensão de precisão baseado no REF02, da Texas Instruments, com as seguintes características:

- Tensão de saída de $+5,00\text{ V} \pm 0,2\%$ máx.;
- Excelente estabilidade com a temperatura;
- Excelente regulação e baixo ruído.

Para maior precisão, esta referência de tensão é a mesma utilizada no circuito conversor analógico-digital.

Todos os resistores utilizados são de precisão (1%).



Os dois circuitos de entrada analógica (tensão e corrente) foram projetados para interfaceamento com o conversor analógico-digital (ADC).

Circuito de tensão: entrada -5,00 V a +5,00 V, saída 0,25 V a 4,75 V.

Circuito de corrente: entrada -1,00 V a +1,00 V, saída 0,25 V a 4,75 V.

Conversor Analógico-Digital (ADC).

As saídas dos 2 circuitos de entrada analógica vão para as entradas analógicas do microcontrolador PIC16F877, da Microchip, passando pelo conversor analógico-digital (ADC) de 10 bits.

O software implementado no microcontrolador aplica ainda uma filtragem digital nos sinais antes de enviar para o computador, minimizando o ruído.

Interface serial RS-232

O microcontrolador possui um protocolo de comunicação implementado para interfaceamento com o software do PC através de interface serial RS-232.

Software não comercial desenvolvido no laboratório

O software do computador comunica-se com o registrador através da porta serial RS-232 e recebe os dados digitais das leituras analógicas. Os dados são apresentados na tela em forma de tabela e gráfico. O software gera posteriormente como saída uma tabela do Excel contendo todos os dados registrados.

O software do computador possui ainda uma rotina de auto-calibração via software, dispensando quaisquer ajustes no circuito do registrador.

- Espectrofotometria Molecular:

Hewlett Packard 8453 (Hewlett Packard, Waldbronn, Germany) com sistema de detecção arranjo de diodos.

- Outros equipamentos:

- Bomba peristáltica IPC (Ismatec. Suíça)
- Ultra-som (Sonorex, RK 510 H. Berlim)
- Sistema de purificação de água Milli Q (resistividade $18,2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$). França.
- Agitador Magnético. (Heidolph. Alemanha)
- Balança Analítica com quatro casas de precisão. (Sartorius. Alemanha)
- Computador
- pHmetro. (Digimed. Brasil)

3.2 Reagentes e Soluções

3.2.1 Reagentes

- Água purificada em um sistema Milli-Q (resistividade de $18,2 \text{ M } \Omega \text{ cm}^{-1}$) utilizada para o preparo de todas as soluções.

- Todos os reagentes utilizados foram produtos de qualidade para análise.

- Padrões dos herbicidas: Ametrina, Desmetrina, Prometrina, Terbutrina - Sigma-Aldrich, Alemanha (especificações apêndice 1). Utilizado no preparo da solução padrão estoque.

- Cloreto de Sódio P. A. Marca: Merck. Utilizado no preparo de soluções com mesma força iônica que os sais para hemodiálise.

- Acetonitrila, HPLC/Spectro, Marca: Tedia. Utilizado no condicionamento dos substratos e como eluente na etapa de pré-concentração dos pesticidas em pré-colunas.

- Acetato de Sódio Anidro P.A. Marca: Merck.

- Etilenotiourea (especificações vide apêndice 1).

3.2.2 Preparo das soluções padrões

As soluções estoque dos herbicidas ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina foram preparadas dissolvendo-se os padrões (Sigma-Aldrich, Alemanha) em água. Estas soluções tiveram diferentes concentrações devido as suas diferentes solubilidades, tabela 07.

A solução estoque de ETU foi preparada dissolvendo o padrão.

Tabela 07: Concentrações das soluções padrões estoque das tiotriazinas e ETU.

Pesticidas	Solução Padrão estoque (mg L ⁻¹)
Ametrina	50
Desmetrina	70
Prometrina	20
Terbutrina	20
ETU	100

As soluções estoque dos pesticidas foram mantidas sob refrigeração, sendo retiradas somente no momento de preparo das soluções de trabalho utilizadas diariamente nos ensaios. A cada 30 dias foram feitas novas soluções estoque.

3.2.3 Eletrólitos utilizados na Voltametria

Os ensaios Voltamétricos foram realizados para confirmar os resultados obtidos na Coulometria e também para comparar com a Espectrofotometria UV/Vis.

Para a escolha de um eletrólito suporte ideal foram testadas várias substâncias de grau analítico em meios ácido, neutro e alcalino. Os eletrólitos suporte utilizados em meio ácido (pH = 2,5) foram soluções de HClO₄, HNO₃, HCl, solução tampão Britton-Robinson [141] e KCl, com concentrações de 0,1 mol L⁻¹. Em meio neutro foram testadas as soluções de KNO₃ e NH₄Cl 0,1 mol L⁻¹ (pH= 7,0), enquanto que em meio alcalino (pH= 10,0) utilizaram-se soluções de NaOH, NH₄Cl, NH₃/NH₄Cl e KCl.

A determinação dos pesticidas por Voltametria foi realizada após o desaeramento com Nitrogênio (99,9%) do eletrólito suporte (HCl; pH= 2,5).

3.2.4 Solução de H₂SO₄

Para as determinações Voltamétricas de ETU e tiotriazinas utilizando um eletrodo de ouro como eletrodo de trabalho foi necessário um condicionamento prévio da superfície de contato, que consiste na ciclagem do sistema por 50 vezes a uma velocidade de varredura de 500 mV s⁻¹ em uma solução de H₂SO₄ 1 mol L⁻¹ aplicando potencias de 0 V à +1,50 V.

3.2.5 Eletrólitos utilizados na Coulometria

Previamente a realização dos ensaios Coulométricos foi escolhido o eletrólito ideal para a determinação dos herbicidas. Para as análises em batelada utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado o melhor eletrólito foi uma solução de HClO₄ (pH= 4,0). Para as análises em fluxo utilizando o mesmo eletrodo de trabalho pôde-se utilizar como eletrólito soluções ácidas de HClO₄ (pH= 4,0) ou uma solução tampão Britton Robinson (pH= 2,5) e ainda em meio alcalino podem ser utilizada solução de NH₃/NH₄Cl (pH= 9,0).

3.2.6 Solução Tampão Britton Robinson

A solução tampão Britton Robinson utilizada nas determinações Coulométricas é constituída por 0,25 L de ácido acético 0,04 mol L⁻¹, 0,25 L de ácido ortofosfórico 0,04 mol L⁻¹, 0,25 L ácido bórico 0,04 mol L⁻¹ e 0,25 L de NaOH 0,2 mol L⁻¹.

3.2.7 'Solução de Hg para eletrodeposição

A eletrodeposição de Hg em superfícies de fios de cobre ou placa de CVR foi realizada aplicando um potencial de -0,90 V, em meio a uma solução de HgCl_2 (0,01 mol L^{-1}) e KNO_3 (1 mol L^{-1}), acidificado com HNO_3 para evitar a hidrólise.

3.2.8 Eletrólitos utilizados na Amperometria

Os ensaios amperométricos on-line com as tiotriazinas utilizaram como eletrólito suporte uma solução de CH_3COONa 1×10^{-6} mol L^{-1} ou ainda uma solução de $\text{ACN}(40\%)/\text{H}_2\text{O}(60\%)$ (v/v).

3.2.9 Composição dos Fluidos de Hemodiálise

As soluções estoque dos fluidos de diálise são compostas por K^+ (78,2 mg L^{-1}), Ca^{2+} (14 mg L^{-1}), Mg^{2+} (26,7 mg L^{-1}), Na^+ (3197 mg L^{-1}), Cl^- (3748 mg L^{-1}), CH_3COOH (302,5 mg L^{-1}), NaHCO_3 (294,1 mg L^{-1}) e $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (1000 mg L^{-1}). Estes fluidos são fabricados e comercialmente vendidos como concentrados salinos com as marcas Salbego (Porto Alegre/RS) e RT (Rio de Janeiro). Antes do uso, os concentrados salinos (cerca de 4 L) são diluídos à 120 L para utilização em hemodiálise. A força iônica do concentrado salino situa-se em torno de 4,20.

3.2.10 Fases sólidas utilizadas na confecção de colunas para pré-concentração dos herbicidas

Colunas comerciais de Cyano (polar-fase normal), SAX (aniônica), C18 (fase reversa) e colunas confeccionadas utilizando como fase estacionária substratos de teflon, polietileno e poliestireno (vide apêndice 2) foram utilizadas nos ensaios de pré-concentração.

3.2.11 Força Iônica

A partir do salino ($\mu = 4,20$) foram feitas soluções com $0,01 < \mu \leq 4,20$.

3.3 Determinação Voltamétrica

3.3.1 Determinação Voltamétrica de tiotriazinas em meio alcalino utilizando eletrodo de ouro

Determinações voltamétricas de tiotriazinas em meio alcalino utilizam como eletrólito suporte uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e um eletrodo de ouro com superfície de contato de $0,32 \text{ cm}^2$ como eletrodo de trabalho. Para a detecção das tiotriazinas ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina foi determinado como tempo ideal de pré-concentração 60 s aplicando um potencial em $-1,60 \text{ V}$. O intervalo de varredura foi de $-1,60$ à $+1,10 \text{ V}$.

3.3.1.1 Efeito do tempo de pré-concentração

O efeito do tempo de pré-concentração para as tiotriazinas foi avaliado utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de ouro, onde tempos de pré-concentração variaram num intervalo de 15 a 120 s. Utilizando na célula uma concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ das tiotriazinas os tempos de pré-concentração de 15, 30, 60, 90 s e 120 s foram testados.

3.3.1.2 Efeito do potencial de pré-concentração

O estudo para escolher o potencial de pré-concentração para os herbicidas foi realizado variando potenciais de $-1,00 \text{ V}$ a $-2,00 \text{ V}$. Para determinar o potencial ideal de pré-concentração foram adicionados $50 \mu\text{g L}^{-1}$ dos herbicidas à célula Voltamétrica e aplicados potenciais para a pré-concentração em $-1,00$, $-1,30$, -

1,60, -1,80 V e -2,00 V. Aplicando potenciais mais negativos como em -2,00 V observou-se o desprendimento de H_2 na superfície do eletrodo, impossibilitando as análises, enquanto que, em potenciais menos negativos como em -1,00 V a formação do sinal voltamétrico ficou prejudicada.

3.3.1.3 Efeito da velocidade de varredura

As avaliações das velocidades de varredura linear foram feitas após a determinação do tempo e do potencial ideal de pré-concentração, para isso, uma determinada massa da tiotriazina foi adicionada a célula voltamétrica de maneira a formar uma solução com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ do herbicida, variando as velocidades de varredura de $6,6 \text{ mV s}^{-1}$ à 60 mV s^{-1} .

3.3.2 Determinação voltamétrica de ETU em meio aquoso utilizando eletrodo de ouro

As determinações de ETU em meio ácido utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de ouro, foram feitas com 10 mL de uma solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte, desaerado com nitrogênio por 10 minutos. Para a pré-concentração do analito aplicou-se um potencial de +0,90 V deve ser aplicado durante 30 s antes da varredura de potenciais no intervalo de +0,90 V à +1,50 V.

3.3.2.1 Efeito do tempo de pré-concentração

A ETU tal como as tiotriazinas foi investigada utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de ouro. Para avaliar o efeito do tempo de pré-concentração foram adicionados a célula voltamétrica quantidades de ETU de maneira a formar uma solução com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de concentração variando os tempos num intervalo de 15 a 90 s.

3.3.3 Determinação Voltamétrica de tiotriazinas em meio aquoso utilizando eletrodo de Hg

Para a determinação voltamétrica de tiotriazinas em meio aquoso utilizando eletrodo de Hg no modo HMDE, adotou-se um procedimento que consistiu em adicionar 10 μ L de uma solução de HNO₃ 50% à célula contendo 10 mL de água. O desaeramento da solução foi feito através do borbulhamento de nitrogênio por 10 minutos. Para a obtenção dos voltamogramas os analitos foram pré-concentrados em -0,80 V (vs. Ag/AgCl), com um tempo de pré-concentração ideal de 30 s e intervalo de varredura de -0,80 V à -1,15 V (vs. Ag/AgCl).

3.4 Determinação Amperométrica on line de tiotriazinas utilizando eletrodo de Carbono Vítreo Reticulado (CVR)

Utilizou-se um sistema amperométrico on-line (figura 07) para a quantificação de ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina em água, acetato de sódio 1×10^{-6} mol L⁻¹ e em uma mistura de acetonitrila e água (ACN/H₂O) na proporção 40:60 (v/v). A determinação amperométrica on-line destes herbicidas foi realizada com o auxílio de uma bomba peristáltica que impulsionou os fluidos pelo sistema passando por uma alça de amostragem de 20 μ L onde estava o analito que foi carregado até o eletrodo de trabalho (CVR) para a detecção em +1,78 V. A vazão de 1 mL min⁻¹ foi escolhida para o sistema. Conforme o sistema descrito, foram quantificadas em ACN e Acetato de sódio como eletrólito suporte.

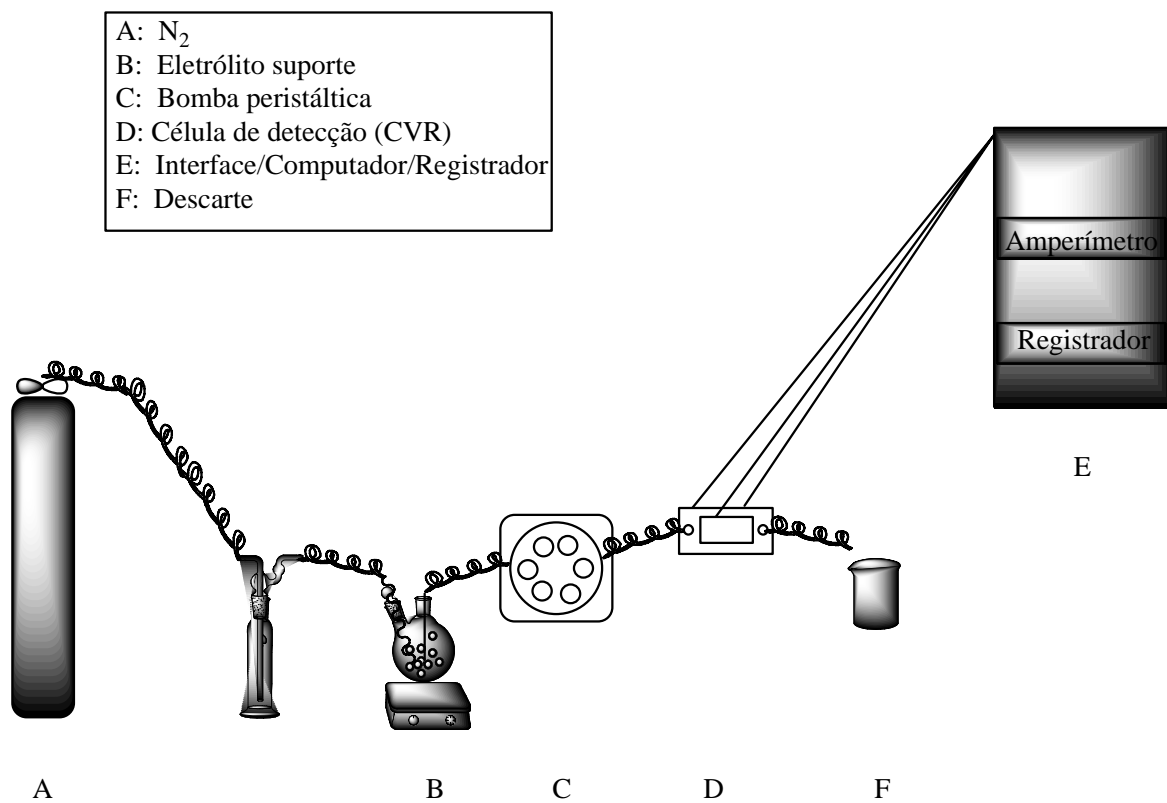


Figura 07: Sistema amperométrico on line

3.5 Determinação Coulométrica

3.5.1 Determinação Coulométrica off line de tiotriazinas utilizando fio de cobre com Hg eletrodepositado em meio alcalino

A determinação coulométrica (E constante) off line de tiotriazinas em meio alcalino utilizou como eletrodo de trabalho um fio de cobre espiralado com Hg eletrodepositado superficialmente. O eletrodo de referência foi de Ag/AgCl e o contra eletrodo de grafite. A detecção destes herbicidas foi realizada aplicando um potencial constante em -1,05 V em meio a uma solução de $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ (pH= 9,0), sob leve agitação durante 3 minutos de eletrólise.

3.5.2 Determinação Coulométrica off line de tiotriazinas utilizando fio de cobre com Hg eletrodepositado em meio ácido

A determinação Coulométrica off line de tiotriazinas em meio ácido utilizou as mesmas condições experimentais do item 3.5.1, porém, o eletrólito suporte foi uma solução tampão Britton Robinson (pH= 4,0).

3.5.3 Determinação Coulométrica de Tiotriazinas e ETU em meio fortemente salino

A determinação off line de tiotriazinas e ETU no presente trabalho, em meio fortemente salino como os sais para hemodiálise utiliza como eletrodo de trabalho um fio de cobre espiralado com Hg eletrodepositado e para a determinação das espécies aplica-se um potencial em -1,05 V durante 3 minutos, sob leve agitação.

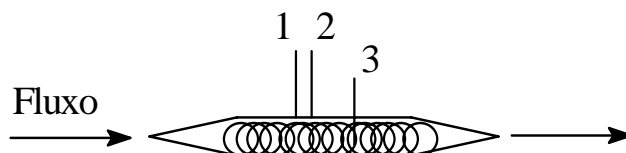
3.5.4 Determinação Coulométrica off line de tiotriazinas e ETU utilizando uma placa de carbono vítreo com Hg eletrodepositado

A determinação Coulométrica de tiotriazinas e ETU utilizou como eletrodo de trabalho uma placa de carbono vítreo reticulado (área superficial 5.5 cm^2) com Hg eletrodepositado. A qualidade do filme de Hg formado superficialmente permite a detecção de ETU e tiotriazinas ao aplicar um potencial em $-1,05 \text{ V}$, em meio a uma solução tampão Britton Robinson ($\text{pH} = 4,3$). O eletrodo de referência foi de Ag/AgCl e o contra eletrodo de grafite.

3.5.5 Determinação Coulométrica on line de tiotriazinas utilizando fio de cobre com Hg eletrodepositado

A determinação Coulométrica on-line de tiotriazinas no método proposto utilizou como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado com 50 cm de comprimento, espiralado de tal forma que se encaixava dentro de duas ponteiros grandes (1 mL) de micropipetas do tipo Eppendorf, onde também estavam dispostos os contatos dos eletrodos de referência e auxiliar, formando a célula coulométrica, figura 08. A reação ocorreu em meios ácidos ou alcalinos ao aplicar um potencial em $-0,85 \text{ V}$ e $-0,95 \text{ V}$, respectivamente.

O eletrodo de trabalho foi preparado previamente e condicionado, para isso, a eletrodeposição on line foi feita aplicando um potencial em $-0,90 \text{ V}$ durante 30 s ao fluir uma solução de HgCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pela célula coulométrica. Após a eletrodeposição, o eletrodo de trabalho foi limpo com um forte fluxo de uma solução de HNO_3 50% sendo em seguida lavado com água ultra pura do sistema Milli Q.



- 1- Eletrodo de referência: Ag/AgCl
- 2- Eletrodo auxiliar: grafite
- 3- Eletrodo de trabalho: fio de cobre com Hg eletrodepositado (pureza: 99,99%; diâmetro: 1 mm).

Figura 08: Célula Coulométrica para determinações on line.

A figura abaixo representa o sistema coulométrico on line utilizado neste trabalho.

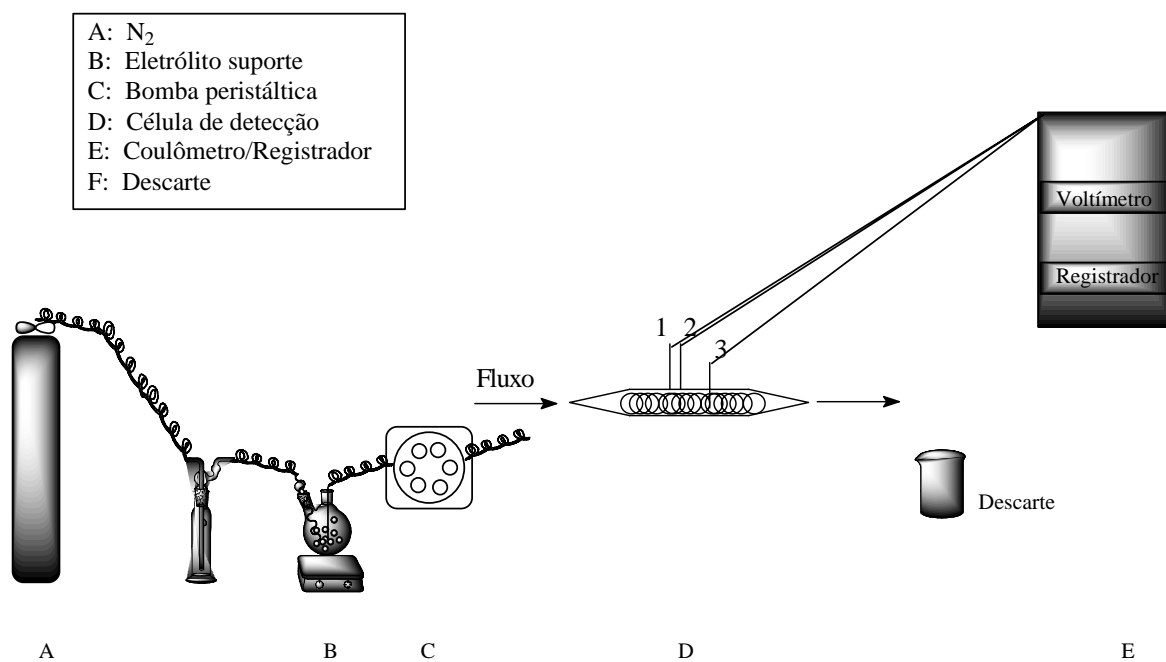


Figura 09: Sistema Coulométrico on line.

3.5.6 Determinação Coulométrica on line de tiotriazinas em meio ácido

A determinação coulométrica on line de tiotriazinas em meio ácido utilizou uma solução tampão Britton Robinson ou HClO_4 (pH= 4,0) aplicando um potencial constante em -0,95 V, com um fluxo ideal de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ e com um tempo de eletrólise de 3 minutos.

3.5.7 Determinação Coulométrica on line de tiotriazinas em meio alcalino

A determinação Coulométrica on line em meio alcalino utilizou como eletrólito uma solução de $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ pH= 9,0 e foi realizada após o procedimento de eletrodeposição de Hg e condicionamento do eletrodo de trabalho. As tiotriazinas são eletroativas e em meio alcalino são detectadas em $E_{\text{pico}} = -0,85 \text{ V}$.

3.5.8 Eletrodeposição de Hg

As eletrodeposições off line em fios de cobre ou CVR utilizaram uma solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de HgCl_2 em solução de 1 mol L^{-1} KNO_3 , acidificado posteriormente com HNO_3 . A eletrodeposição ocorre ao colocar os eletrodos (de trabalho, referência e auxiliar) na solução de HgCl_2 sob forte agitação para favorecer o transporte de massa da solução para o eletrodo, o meio ácido garante a não deposição de produtos indesejáveis sobre a superfície do eletrodo. Aplicando um potencial em -0,90 V, rapidamente a superfície do fio de cobre ou CVR é recoberta por Hg, formando uma fina camada.

3.6 Pré-concentração dos analitos em fase sólida

A pré-concentração dos analitos em fase sólida foi feita em pré-colunas comerciais (SAX, Cyano, C 18) e empacotadas (PE, PS, PTFE), de acordo com o esquema da figura 10.

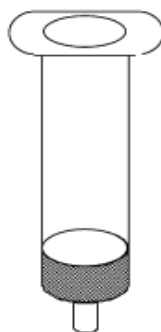


Figura 10: Pré-coluna utilizada na pré-concentração dos analitos.

3.6.1 Condicionamento das colunas investigadas

Antes de cada procedimento de pré-concentração as colunas investigadas foram submetidas ao processo de condicionamento, que consistiu na lavagem do substrato com o auxílio de uma bomba peristáltica forçando a passagem de 30 mL de água pelo sistema, sob fluxo de 5 mL min^{-1} . Em seguida foram passados 13 mL de ACN pelo substrato, com uma vazão de 1 mL min^{-1} e por fim 30 mL de água ultra pura com a mesma vazão.

3.6.2 Pré-concentração de Tiotriazinas e ETU em colunas de Poliestireno com detecção Espectrofotométrica UV/Vis

A pré-concentração de tiotriazinas e ETU em 0,6 g de Poliestireno após condicionamento prévio (ver item 3.6.1) utilizou uma bomba peristáltica para carrear os fluidos com uma vazão de 1 mL min^{-1} que podem ser meios aquosos ou salinos (fluido para hemodiálise, fluido salino com concentração igual à água do mar, concentrado salino). O sistema de pré-concentração consistiu na passagem

de 25 mL dos fluidos contaminados com os pesticidas aquosos ou salinos pela coluna de PS, sendo eluídos com 3 mL de ACN para determinação das tiotriazinas em $\lambda = 290$ nm e de ETU em $\lambda = 292$ nm, utilizando um fluxo de 1 mL min^{-1} .

3.7 Curvas analíticas

3.7.1 Construção das curvas analíticas para tiotriazinas e ETU em meios aquosos após pré-concentração em colunas de PS

As curvas analíticas para tiotriazinas e ETU em meios aquosos após a pré-concentração em colunas de PS foram construídas a partir de concentrações de $5 \mu\text{g L}^{-1}$, com leituras em 290 nm ($\lambda_{\text{máx.}}$). Para isso, concentrações de 5, 10, 20, 30, 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram utilizadas na confecção das curvas analíticas para as tiotriazinas ametrina, desmetrina, prometrina, terbutrina e de ETU que foram preparadas previamente em balões volumétricos de 50 mL a partir da diluição de uma alíquota da solução estoque de cada espécie.

3.7.2 Construção das curvas analíticas para tiotriazinas e ETU em meios salinos após pré-concentração em colunas de PS

As curvas analíticas para tiotriazinas e ETU em meios salinos com forças iônicas variando de 0,01 a 4,20 foram construídas com amostras de 25 mL do meio salino contaminadas com as espécies de maneira a formar soluções com 1, 3, 5, 10, 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Estas soluções foram carregadas pela coluna de PS e os analitos retidos no polímero foram eluídos com 3 mL de ACN e determinados em $\lambda = 290$ nm.

3.7.3 Limites de detecção (LD)

De acordo com Schwedt et al [142], o limite de detecção (LD) em medidas por voltametria DC (corrente direta) pode ser calculado pela expressão clássica ($B_i \pm 3\sigma_{B_i}$) onde B_i é determinado pela variação média da linha base do voltamograma medido em sua máxima sensibilidade durante um certo intervalo de tempo (geralmente 30 s) e σ_{B_i} é o desvio padrão desta medida. No presente trabalho este cálculo do limite de detecção foi adaptado à técnica voltamétrica utilizada. Para tanto, a variação da corrente da linha base foi monitorada em uma janela de potencial de $\pm 0,05$ V em torno do potencial de pico. As correntes foram medidas em cada janela de potencial em quatro pontos anteriores ao potencial escolhido ($-0,05$ V) e em quatro pontos posteriores a este ($+0,05$ V). Para estas medidas, foram preparadas 10 soluções do eletrólito suporte para a realização de determinações independentes. Como o limite de detecção não depende do analito (tiotriazinas), o monitoramento da oscilação das linhas de base permitiu o cálculo do limite de detecção para as quatro tiotriazinas simultaneamente. Isto significa que todos os analitos deveriam apresentar o mesmo limite de detecção, já que o eletrólito suporte era sempre o mesmo. No entanto, observou-se que as sensibilidades não eram iguais para os quatro analitos; para uma mesma concentração molar, a ametrina mostrava um sinal ligeiramente maior do que as outras espécies. Desta forma, resolveu-se introduzir, neste trabalho, uma fração do menor pico determinável para cada espécie no cálculo do limite de detecção. O procedimento adotado foi dividir por 3 a corrente de pico do menor pico determinável de cada espécie e calcular a média aritmética entre esta corrente e aquela obtida pela oscilação da linha de base no potencial de pico. A corrente média obtida para cada espécie foi então utilizada no cálculo dos limites de detecção. Os potenciais utilizados para o monitoramento da corrente foram ($-0,96$, $-0,97$, $-0,98$, $-0,99$, $-1,0$, $-1,01$, $-1,02$, $-1,03$, $-1,04$ V) e o limite de detecção convertido a valores de concentração. A tabela 08 mostra os valores obtidos para os limites de detecção calculados segundo o procedimento descrito.

Tabela 08: Valores de limite de detecção para as tiotriazinas em solução aquosa

Herbicidas	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Ametrina	2,23
Desmetrina	2,60
Prometrina	2,24
Terbutrina	2,40

Como se pode observar na tabela 08 os valores de LD calculados são próximos, mas não necessariamente iguais, embora tenham sido calculados para o mesmo eletrólito.

3.8 Difusão

A figura 11 apresenta a célula de difusão e pode ser observada pela vista lateral que mostra a célula em duas partes que ao se encaixarem serão separadas por uma membrana de PTFE, formando dois caminhos por onde fluirão as soluções doadora e aceptora.

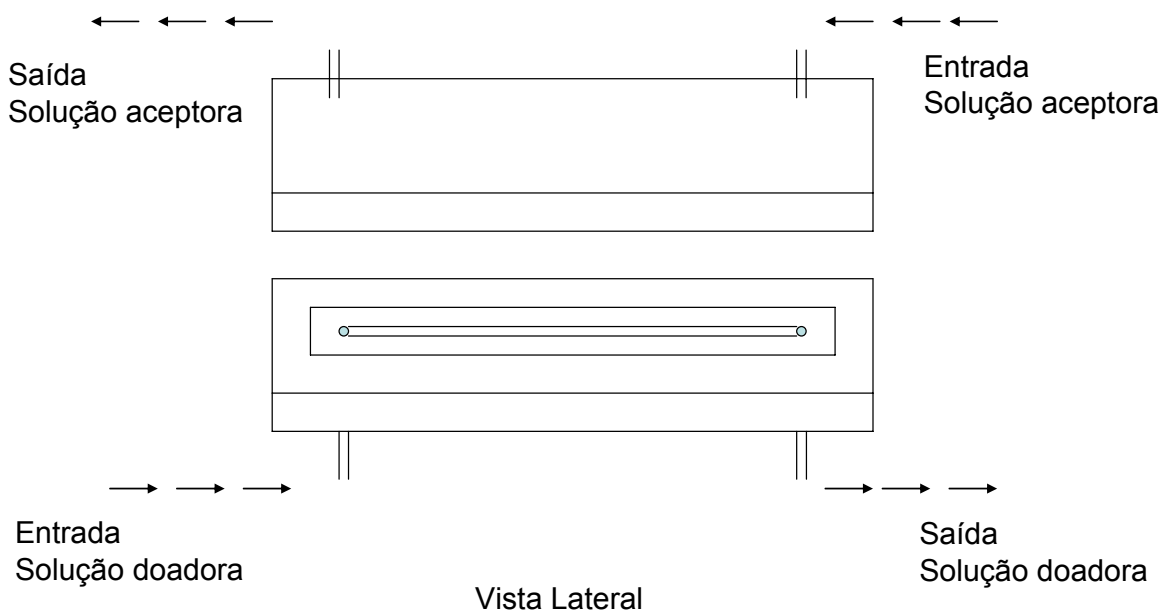


Figura 11: Célula de difusão para ETU utilizando membrana de PTFE.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Coulometria, Amperometria e Voltametria.

A Coulometria, a Amperometria e a Voltametria são técnicas eletroquímicas de análise que se baseiam na reação de oxidação ou redução que ocorre na superfície do eletrodo de trabalho, com fluxo de corrente, onde a energia elétrica aplicada no sistema é convertida em energia química.

A Coulometria de potencial constante é considerada um método absoluto de análise que utiliza eletrodos com grandes áreas superficiais, proporcionando um consumo total (100%) da substância que está sendo analisada. A área superficial está relacionada com o tempo de eletrólise, ou seja, quanto maior a superfície de contato do eletrodo, menor será o tempo de eletrólise.

A Amperometria e a Voltametria [143] são técnicas que tem o mesmo princípio eletroquímico da Coulometria, porém, utilizam eletrodos de trabalho com pequena área superficial, minimizando as interferências e analisando uma pequena alíquota de aproximadamente 0,5% do analito.

A Amperometria normalmente utiliza eletrodos de CVR ou um filme de Hg sobre a superfície do eletrodo de carbono, que também proporciona excelente reprodutibilidade nas determinações ao aplicar um determinado potencial que irá gerar a corrente de interesse no sistema.

4.2 Voltametria

4.2.1 Tiotriazinas e o eletrodo de mercúrio

A quantificação das tiotriazinas ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina foram investigadas, através de suas reações no eletrodo de mercúrio. Com relação ao mecanismo responsável pelo sinal de corrente obtido por voltametria não existe ainda um consenso entre as abordagens encontradas na literatura [144], embora pareça claro que um processo envolvendo quatro elétrons na redução da ligação C–N no anel aromático, seja uma etapa comum a classe das 1, 3, 5-triazinas [145]. Por outro lado, a presença de um átomo de enxofre nas tiotriazinas indica também uma possibilidade de reação no eletrodo de mercúrio devido à conhecida afinidade entre estas duas espécies. No presente trabalho, diversos parâmetros foram investigados visando à detecção com especificação ou não das tiotriazinas estudadas.

As tiotriazinas foram determinadas num potencial próximo a $-1,00$ V mostrando-se detectáveis em pH ácido, tendo a melhor relação entre sinal de corrente e concentração em valores de pH inferiores a 3,5 embora o sinal característico da redução seja também observado em valores de pH até 7,0. A detecção das tiotriazinas mostrou-se possível através de várias técnicas voltamétricas. Porém, devido à necessidade de determinar concentrações muito baixas, a Voltametria Adsorptiva de Redissolução Catódica (VARC) foi investigada detalhadamente com relação a uma série de parâmetros experimentais. Na determinação das tiotriazinas através desta técnica, a etapa de adsorção dos analitos na superfície do eletrodo de mercúrio é fundamental para se obter uma relação entre a concentração dos analitos e o sinal voltamétrico que permita calibrar adequadamente o sistema.

Os parâmetros experimentais descritos a seguir têm influência no processo de adsorção dos analitos no eletrodo e foram investigados considerando suas influências sobre o sinal obtido para concentrações de tiotriazinas até $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.2.1.1 Eletrólito suporte

Ensaio voltamétricos utilizando o eletrodo de mercúrio no modo HMDE foram realizados com eletrólitos ácidos, neutros e alcalinos, formando um sistema tampão ou não. Como eletrólitos ácidos, foram investigados os ácidos sulfúrico, ácido clorídrico e ácido perclórico. Como eletrólito neutro foi investigada solução aquosa de nitrato de potássio e como alcalina o tampão amônia-cloreto de amônio. Além destes, a mistura tampão de Britton-Robinson também foi utilizada.

Dentre os eletrólitos investigados, o pH presente na célula voltamétrica foi o fator determinante para a qualidade do sinal obtido. Contudo, uma solução de ácido clorídrico (HCl) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH= 2,5) mostrou-se mais adequada à determinação das tiotriazinas porque os efeitos de adsorção dos analitos na superfície da célula voltamétrica e principalmente, no corpo do capilar foram minimizados na presença deste eletrólito. Nitrato de potássio não se mostrou adequado às determinações, tanto pelo pH da solução quanto pela corrente da linha base que ficou cerca de 10 nA acima daquelas observadas com os outros eletrólitos. O tampão Britton-Robinson foi também estudado, sendo que alguns trabalhos na literatura reportam a utilização desta solução na análise de produtos agroquímicos por métodos eletroquímicos [113, 114]. Novamente neste caso, os efeitos de adsorção dos analitos no material da célula eletroquímica não mostraram qualquer vantagem na utilização desta solução. O tampão amônia-cloreto de amônio mostrou-se adequado às determinações, porém, a presença de pequenas quantidades de zinco como contaminante, freqüentemente encontrado nestas soluções, produzia interferências na determinação das tiotriazinas, já que a faixa de potenciais utilizada coincide com a faixa de descarga dos íons zinco no eletrodo de mercúrio.

4.2.1.2 Tamanho da gota no HMDE

A gota de mercúrio tem sua dimensão mínima definida pelo diâmetro do capilar e máxima pela tensão superficial da solução onde se realiza a análise [146]. Entre estes limites, o tamanho da gota é controlado pelo equipamento de medidas voltamétricas. Neste trabalho, observou-se que a capacidade de adsorção dos analitos é considerável, não só no material do eletrodo como também nas superfícies de vidro da célula voltamétrica, principalmente na base do capilar onde a gota de mercúrio se forma e fica suspensa durante as medidas. Este último aspecto foi responsável por um efeito de memória observado em determinações sucessivas de qualquer uma das quatro tiotriazinas investigadas. Se de um lado o efeito de memória obrigava a uma série de cuidados de limpeza do material, de outro, era benéfico com relação à sensibilidade do método, uma vez que, a técnica usada baseia-se inicialmente na adsorção do analito na superfície do eletrodo. A afinidade dos analitos com o mercúrio do eletrodo é bem maior do que com o material de vidro e este aspecto motivou a investigação da influência do tamanho da gota de mercúrio na sensibilidade e robustez do método.

Na figura 12, o perfil das curvas não indica um processo de saturação da superfície do eletrodo pelos analitos, uma vez que, a declividade das curvas permaneceu constante. Por outro lado, o aumento no tamanho da gota de mercúrio não foi acompanhado por uma elevação da linha base indicando que uma corrente maior está predominantemente associada a um processo adsorção-redução dos analitos na superfície do eletrodo.

Para concentrações dos analitos na faixa de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ou menores, o risco de saturação da superfície do eletrodo é muito pequeno mesmo para intervalos maiores de pré-concentração no eletrodo, independentemente do tamanho de gota selecionado. Contudo, neste trabalho, utilizou-se a maior superfície de eletrodo possível ($A= 0,60 \text{ mm}^2$), porque o efeito de memória observado em determinações sucessivas foi menor nestas condições devido provavelmente a um deslocamento mais eficiente do analito adsorvido na base do capilar.

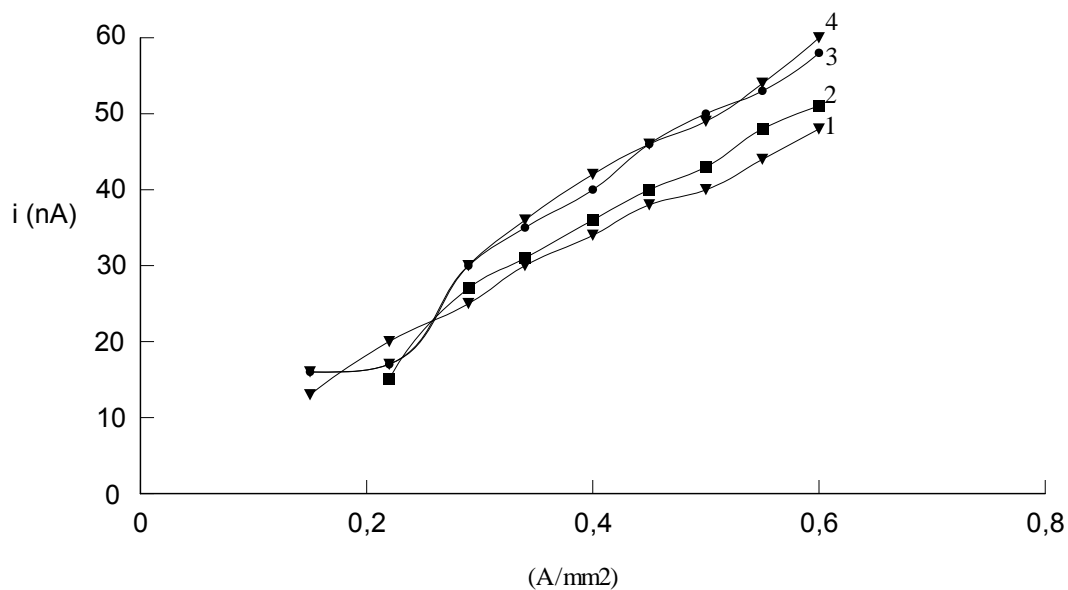


Figura 12: Altura do sinal voltamétrico da ametrina em função do tamanho da gota de mercúrio. (1) ametrina, (2) desmetrina, (3) prometrina, (4) terbutrina. ($E_{\text{pico}} = -1,00 \text{ V}$. $t_{\text{pré-conc.}} = 30 \text{ s}$). Concentração: $1,25 \text{ mg L}^{-1}$.

A figura 13 representa o comportamento da ametrina (concentração: $1,25 \text{ mg L}^{-1}$) utilizando diferentes tamanhos de gota de mercúrio no eletrodo de trabalho. Os gráficos da figura 13 ilustram a determinação dos herbicidas com concentrações crescentes na presença de água (A), nos fluidos de diálise (B) e nos concentrados salinos (C). É possível observar um aumento na corrente até atingir a saturação no HMDE, tornando-se praticamente constante, mesmo com o aumento da concentração dos herbicidas.

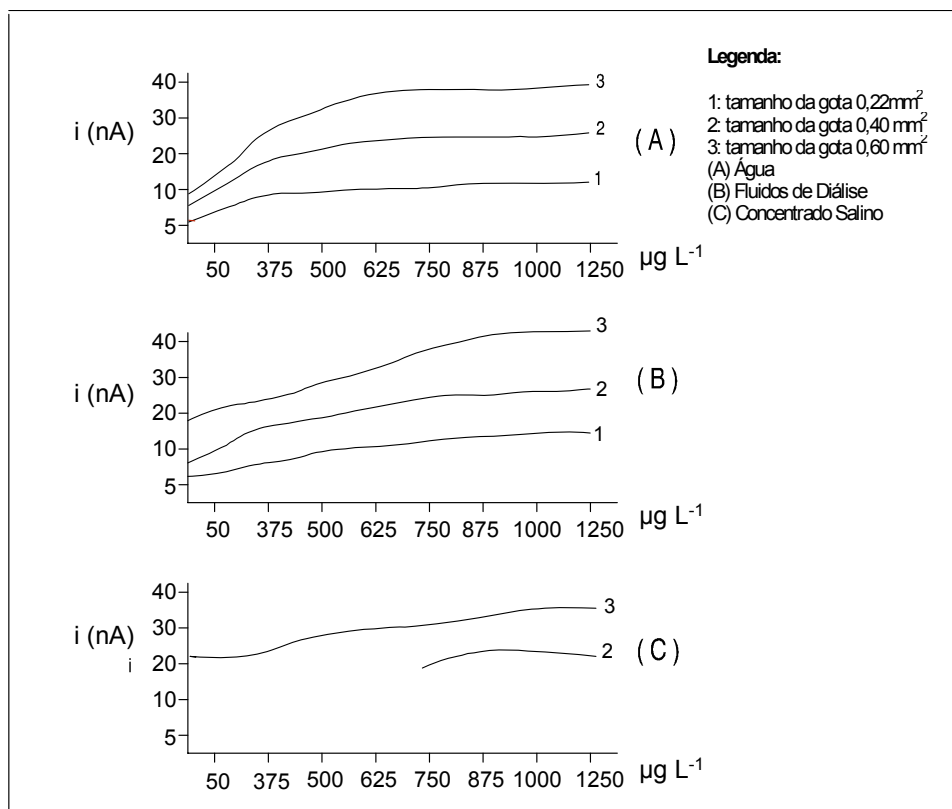


Figura 13: Saturação no eletrodo de mercúrio, utilizando diferentes concentrações de ametrina e tamanhos de gota. Velocidade de varredura: 16,6 mV s⁻¹.

Na figura 13-C observa-se a ausência da curva 1 presente nas figuras A e B, enquanto que na curva 2 o sinal eletroquímico pôde ser observado a partir de 750 µg L⁻¹. Na presença do concentrado salino, a adsorção dos analitos fica prejudicada conforme se observa pelos valores de corrente, e ainda para o menor tamanho de gota não se obteve sinal voltamétrico (curva 1).

4.2.1.3 Intervalos de pré-concentração

Seis tempos de pré-concentração no eletrodo de mercúrio (15, 30, 60, 90, 180 e 360 s) foram escolhidos para avaliar o perfil do sinal frente a uma concentração fixa dos analitos ($50 \mu\text{g L}^{-1}$), utilizando o tamanho máximo da gota de mercúrio ($0,60 \text{ mm}^2$). De acordo com a tabela 09, um tempo de pré-concentração de 15 s mostrou-se adequado para garantir o maior sinal para a concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, devido provavelmente ao rápido processo de adsorção nas condições estudadas. Contudo, optou-se por utilizar um tempo de pré-concentração maior (30 s) a fim de minimizar o efeito de memória gerado pela adsorção dos analitos na base do capilar. Intervalos superiores a 30 s levaram a uma pequena diminuição do sinal (exceto para a terbutrina). O tempo de 30 s foi utilizado como tempo de pré-concentração ideal neste trabalho, já que tempos de pré-concentração com 60, 90, 180 ou 360 s produzem sinais característicos com intensidade idêntica.

Tabela 09: Comportamento voltamétrico para diferentes tempos de pré-concentração em função da corrente (nA). ($E_{\text{pico}} = -1,00 \text{ V}$). Concentração: $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

Herbicida	Tempo de pré-concentração		
	15 s	30 s	60 s
Ametrina	17,0	16,8	16,8
Desmetrina	17,9	18,0	17,6
Prometrina	15,4	16,4	15,4
Terbutrina	15,4	17,8	17,8

4.2.1.4 Potencial de pré-concentração

Potenciais do eletrodo de mercúrio negativos em relação ao eletrodo de prata/cloreto de prata, mostraram-se em uma larga faixa, adequados à pré-concentração dos analitos na superfície do eletrodo. Como potenciais de pré-concentração foram testados potenciais em intervalos de 0,10 V a partir de 0 V até a região do potencial de pico (-1,00 V). Os valores de corrente para uma concentração fixa dos analitos indicam que o processo de pré-concentração no eletrodo é governado de forma mais predominante pela afinidade entre a estrutura do analito e o eletrodo, do que pela carga líquida presente na superfície do eletrodo. Em meio ácido, a presença dos grupos tióis parece criar condições ótimas à adsorção, diminuindo conseqüentemente a importância do potencial de pré-concentração. Potenciais em torno de -0,80 V mostraram-se adequados para o início da varredura de redissolução catódica e para o potencial de pré-concentração na determinação das quatro espécies investigadas. A figura 14 é a determinação voltamétrica típica de ametrina em água.

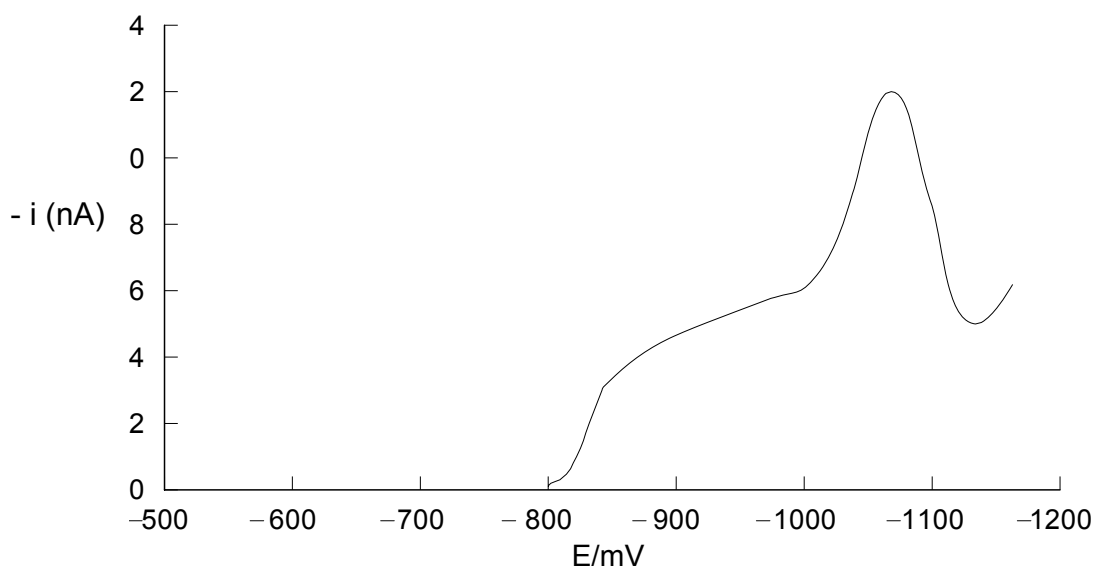


Figura 14: Sinal voltamétrico típico de ametrina em água. ($E_{\text{pico}} = -1,00 \text{ V}$; $t_{\text{pré-conc.}} = 30 \text{ s}$).
Concentração: $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Tamanho da gota: $0,60 \text{ mm}^2$. Velocidade de varredura: $16,6 \text{ mV s}^{-1}$.

4.2.1.5 Amplitude do pulso

A varredura dos potenciais na voltametria de redissolução catódica utilizada foi realizada com a aplicação de pulso normal e o perfil do sinal foi avaliado frente a várias amplitudes de pulso escolhidas. Na voltametria de pulso um aumento na amplitude dos pulsos está relacionado, a uma elevação do sinal, porém, com um conseqüente alargamento na forma deste sinal. Este último aspecto é especialmente desfavorável na análise de vários constituintes numa mistura.

Amplitudes de pulso de 0,01; 0,05; 0,10 e 0,25 V foram utilizadas durante as varreduras de potencial a fim de avaliar o perfil do sinal obtido. Observou-se para soluções de $125 \mu\text{g L}^{-1}$ das tiotriazinas que a amplitude de 0,05 V aplicada aos pulsos, corresponde ao melhor compromisso entre largura e altura dos sinais. Amplitudes maiores do que 0,05 V levaram a sinais maiores, porém pouco definidos e de resolução mais difícil devido ao alargamento do sinal e à forma da linha base. Para concentrações menores este efeito é ainda mais intenso. Amplitudes menores do que 0,05 V produziram sinais mais estreitos, porém proporcionalmente menores o que prejudica a sensibilidade do método. Para as quatro tiotriazinas estudadas, o comportamento foi semelhante em relação à amplitude do pulso aplicado e na figura 15 pode-se observar a evolução do sinal em função do pulso aplicado para a ametrina na concentração de $125 \mu\text{g L}^{-1}$. A forma da curva indica que a relação não é perfeitamente linear e tende a um valor limite com o aumento da amplitude do pulso, sugerindo que aumentos na amplitude superiores a 0,25 V tendem a ter pouca ou nenhuma influência sobre a altura do sinal.

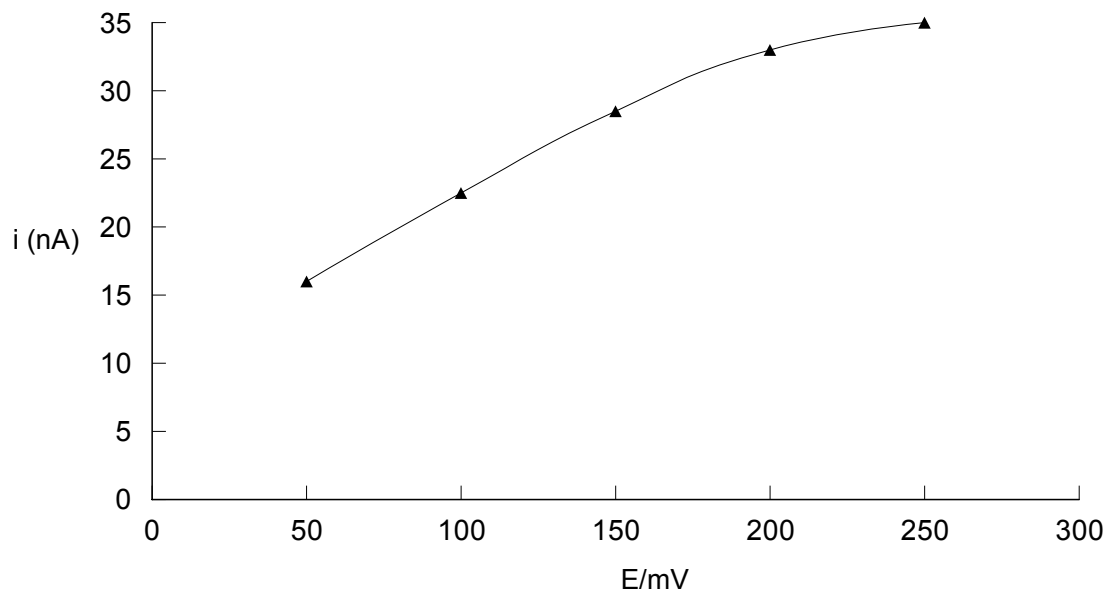


Figura 15: Corrente x amplitude do pulso aplicado na determinação de ametrina por VARC.

$E_{\text{pico}} = -1,00 \text{ V}$. $t_{\text{pré-conc.}} = 30 \text{ s}$.

4.2.1.6 Curvas analíticas

Embora neste trabalho não tenha sido possível uma especificação entre as quatro tiotriazinas investigadas, devido provavelmente às suas semelhanças estruturais, as curvas analíticas não mostraram exatamente as mesmas declividades, porém apresentam coeficientes de correlação linear a partir de 0,98 entre os pontos conforme a tabela abaixo.

Tabela 10: Valores de coeficiente de correlação linear para as tiotriazinas em solução aquosa.

Herbicidas	r
Ametrina	0,9904
Desmetrina	0,9976
Prometrina	0,9863
Terbutrina	0,9898

r: valores de r calculado para 5 repetições

Este fato contribui para a aceitação de um modelo onde o mesmo processo eletródico que ocorre entre -0,80 V a -1,15 V é responsável pelo sinal voltamétrico em torno de -1,00 V, porém condicionado pela etapa de adsorção, que parece não se dar exatamente da mesma forma para os quatro analitos, ou seja, as diferenças estruturais não são suficientemente grandes para produzir potenciais de pico significativamente diferentes. Esta característica não aparece da mesma forma para todas as tiotriazinas investigadas e uma diferenciação pela cinética no eletrodo poderia ser uma alternativa para a especificação, embora não tenha sido investigada neste trabalho. Conforme se observa na figura 16 as diferenças entre as declividades são bastante pequenas, o que permite a utilização de uma declividade média para a quantificação das quatro tiotriazinas sem especificação.

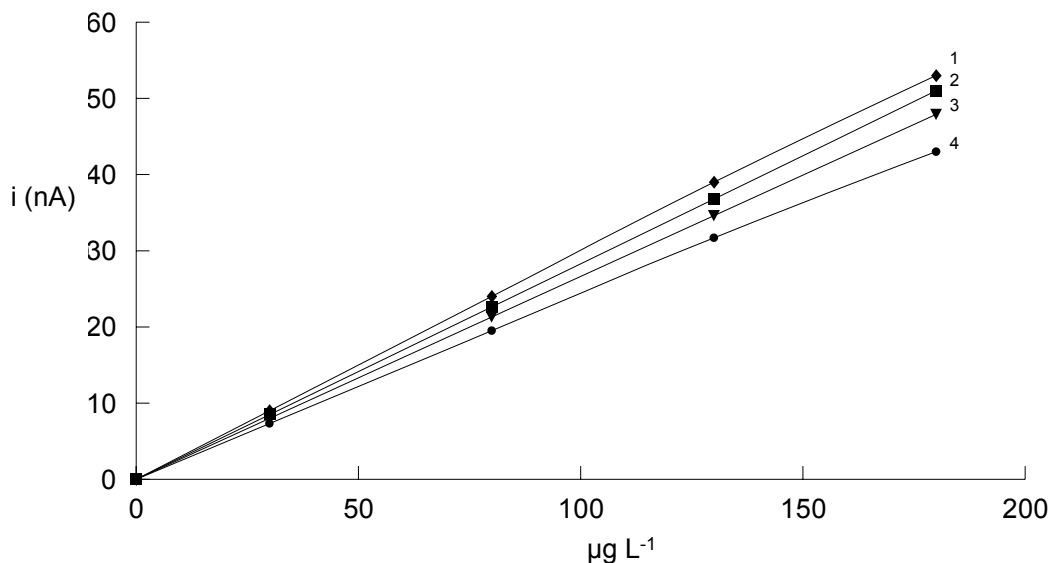


Figura 16: Curvas analíticas para determinação de tiotriazinas por VARC; (1) ametrina, (2) desmetrina, (3) prometrina e (4) terbutrina. ($E_{\text{pico}} = -1,00 \text{ V}$, $t_{\text{pré-conc.}} = 30 \text{ s}$).

As curvas analíticas apresentadas na figura 16 mostram o comportamento das tiotriazinas ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina frente ao eletrodo de Hg. Comparando a estrutura molecular das tiotriazinas (figura 02) com as curvas analíticas (figura 16), percebe-se que os radicais 1 e 2 da estrutura das tiotriazinas é que determinam a sensibilidade de cada espécie.

4.2.1.7 Comportamento voltamétrico das tiotriazinas em soluções salinas

A determinação de tiotriazinas em concentrações da ordem de mg L^{-1} por voltametria não é afetada diretamente pela presença de sais na solução em análise. Contudo, observa-se uma gradual elevação na linha de base dos voltamogramas a medida que a concentração salina aumenta. Este fato é esperado porque a corrente residual tem, nas impurezas contidas nos sais, um de seus principais componentes.

Na determinação de tiotriazinas em soluções de diálise, a quantidade esperada de herbicidas deve ser muito pequena considerando que tanto a água quanto o concentrado salino, utilizados no preparo destas soluções, devem ser

soluções de alta pureza. Adicionalmente, devido ao sério risco que contaminantes, mesmo em baixas concentrações, representam para os pacientes de hemodiálise, a sensibilidade do método para determinar estes contaminantes parece ser uma de suas características mais importantes. Neste sentido, a determinação direta das tiotriazinas em soluções salinas fica prejudicada pelo gradual aumento da linha de base em função do aumento na concentração salina. Observou-se que, linhas de base da ordem de 2,5 nA a 8 nA são adequadas à determinação das tiotriazinas na faixa de poucos $\mu\text{g L}^{-1}$. Linhas de base superiores a 10 nA prejudicam a interpretação do sinal voltamétrico das tiotriazinas em baixas concentrações, enquanto que linhas de base superiores a 20 nA praticamente inviabilizam a análise.

Outro aspecto importante na determinação voltamétrica de tiotriazinas em soluções salinas é a interferência dos íons zinco presentes nas soluções. O potencial de descarga do zinco no eletrodo de mercúrio situa-se bem próximo ao das tiotriazinas para muitos eletrólitos ácidos e é bem conhecida a ubiquidade deste elemento, principalmente como contaminante de soluções salinas [147].

Na figura 17, pode-se observar o perfil das linhas de base para voltamogramas obtidos com o eletrólito (HCl) na presença de diferentes quantidades da solução salina utilizada na hemodiálise. Apenas para a solução do eletrólito obtém-se uma linha de base com valores de corrente entre 2,5 e 8 nA (curva 1). Nas outras situações, onde volumes diferentes da solução salina foram adicionados à célula voltamétrica (curvas 2-4), observa-se uma elevação na linha de base até a adição de 15 mL da solução salina em 20 mL de célula. Volumes maiores parecem não incrementar ainda mais a linha de base.

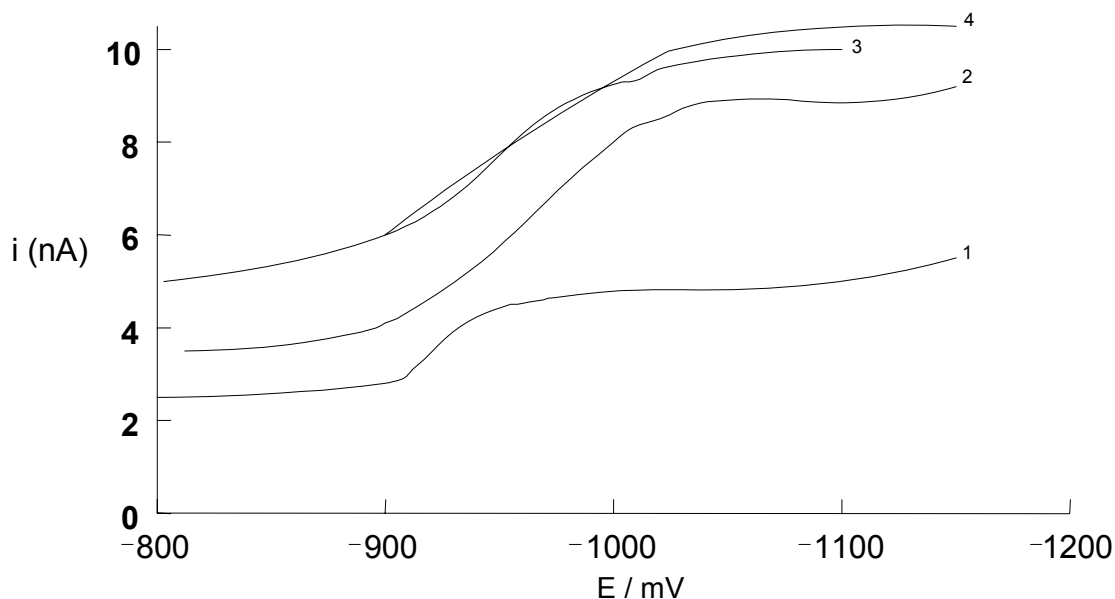


Figura 17: Perfil das linhas de base no meio salino. (1) 5 mL do FD, (2) 10 mL do FD, (3) 15 mL do FD, (4) 20 mL do FD. Volume da solução na célula voltamétrica: 20 mL

Desta forma, considerando apenas a relação sinal/linha de base, observa-se que a análise direta das tiotriazinas nos fluidos de diálise poderia ser realizada para baixas concentrações de analito ($10 < \mu\text{g L}^{-1}$) em no máximo 5 mL da amostra salina e 15 mL de eletrólito suporte na célula voltamétrica. A análise de volumes maiores de amostra implica numa elevação da linha de base com o conseqüente encobrimento de sinais menores relacionados às concentrações mais baixas das tiotriazinas. Por outro lado, observa-se que a solução salina, presente na célula voltamétrica, parece ter influência sobre a adsorção dos analitos no eletrodo de mercúrio. A tabela 11 mostra os valores de corrente de pico obtidos na determinação de diferentes concentrações de ametrina em presença de diferentes volumes da solução salina de hemodiálise, adicionada à célula voltamétrica. Observa-se que, para todos os volumes de amostra salina o aumento da corrente não é proporcional às concentrações do analito. Desta forma, embora a presença de sais seja desejável em muitas medidas voltamétricas, nas condições deste trabalho os sais têm uma influência até certo ponto tolerável sobre a linha de base, porém geram uma interferência negativa no processo de

adsorção, inviabilizando a quantificação de baixas concentrações ($10 \mu\text{g L}^{-1}$ até $500 \mu\text{g L}^{-1}$). Este comportamento verifica-se também para as outras tiotriazinas investigadas.

Tabela 11: Valores de corrente para diferentes concentrações de ametrina na presença de diferentes volumes de fluidos de diálise (FD) na célula voltamétrica. Tamanho da gota: $0,60 \text{ mm}^2$. $t_{\text{pré-concentração}}$: 30s.

Volume FD (mL)	Ametrina ($\mu\text{g L}^{-1}$)	i (nA)
5,0	25	10,5
5,0	100	11,2
10,0	25	11,1
10,0	300	12,8
15,0	100	11,9
15,0	225	12,6
20,0	100	12,6
20,0	225	13,0

Devido a adsorção que ocorre saturando a superfície do eletrodo de mercúrio a corrente obtida com os sinais voltamétricos mostra não ser linear a concentração dos herbicidas.

4.2.1.8 Interferências em meio salino

Embora um meio condutor (como o meio salino) seja sempre requerido para medidas voltamétricas, deve-se considerar a possibilidade de contaminação oriunda do próprio meio salino. Os fluidos de diálise apresentam uma composição conhecida e definida quanto às espécies majoritárias e, como ocorre em qualquer solução, apresentam também algumas espécies presentes em nível de traços, como contaminantes. O Laboratório de Apoio às Clínicas de Hemodiálise (LACHEM) da UFSM já estuda há bastante tempo o perfil da água de diálise e

mais recentemente o perfil de qualidade dos fluidos de diálise. Até o momento foi possível observar que a contaminação dos fluidos de diálise com relação a metais está diretamente relacionada à ubiquidade destas espécies e também à composição dos materiais que contém estes fluidos, devido, em muitos casos, à extração dos metais a partir dos recipientes. Dentre os possíveis contaminantes, o zinco é o mais importante no contexto deste trabalho porque é muito freqüente em águas e principalmente porque apresenta um sinal voltamétrico semelhante ao das tiotriazinas estudadas. O zinco é pré-concentrado no eletrodo de mercúrio no potencial de $-0,80\text{ V}$ e apresenta um potencial de pico em torno de $-1,00\text{ V}$, tal como ocorre com as tiotriazinas. Desta forma, a presença de zinco livre pode ocasionar um resultado falso positivo em relação às tiotriazinas. Adicionalmente, o zinco apresenta também uma solubilidade razoável na acetonitrila fazendo com que o simples processo de extração não elimine o problema.

A adição de EDTA à célula voltamétrica conforme ilustra a tabela 12, foi investigada visando minimizar ou mesmo eliminar a possível interferência do zinco, sem, contudo, alterar significativamente a linha de base, já que para a determinação de pequenas concentrações de tiotriazinas é importante uma linha de base com baixas correntes conforme já foi discutido anteriormente.

Visando contornar o problema da contaminação de Zn, avaliou-se a relação entre a concentração de EDTA adicionada à célula e a máxima concentração de Zn mascarada pelo EDTA.

Na tabela 12, pode-se observar a coluna referente à concentração de Zn que indica a concentração máxima sem o aparecimento do sinal voltamétrico de Zn na presença da quantidade correspondente de EDTA.

Tabela 12: Concentração de EDTA mínima necessária para a supressão do sinal de Zn.

Zn	EDTA		
	$\mu\text{g L}^{-1}$	mg L^{-1}	mol L^{-1}
30	2,23	$5,99 \times 10^{-6}$	
40	4,46	$11,98 \times 10^{-6}$	
50	14,87	$14,87 \times 10^{-6}$	

Como se verifica na tabela 12 a relação entre EDTA e Zn não é linear, ou seja, para concentrações maiores de Zn na amostra a concentração de EDTA aumenta significativamente. Contudo como a concentração de Zn em água de diálise situa-se abaixo de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ a adição de quantidades moderadas de EDTA contorna o problema.

4.2.1.9 Estudos de adição e recuperação de ametrina em amostras reais

Os estudos de adição e recuperação de ametrina foram feitos de acordo com a tabela 13 que apresenta as percentagens obtidas na recuperação de ametrina em algumas amostras comerciais com $\mu = 4,20$.

Tabela 13: Ensaio de adição e recuperação de ametrina em amostras reais ($\mu = 4,20$).

Produto	Fabricante	Ametrina Adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ametrina Detectada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
FD	Salbego	100	98	98,0
FD	Salbego	25	24	96,0
FD	RT	80	78	97,5
FD	RT	50	49	98,0

RT: Rio de Janeiro/RJ.

Salbego: Porto Alegre/ RS

4.2.2 Determinação de ETU utilizando eletrodo de Hg

Para a determinação voltamétrica de ETU utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de Hg, atuando no modo HMDE foram feitos ensaios com eletrólitos em meios ácidos, neutro e alcalinos. Como eletrólitos ácidos foram utilizados H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e H_3BO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Como eletrólitos alcalinos foi investigado NaOH $\text{pH} = 8,0$ e tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ $\text{pH} = 8,0$. Para $\text{pH} = 7,0$ foi utilizada uma solução aquosa de KCl .

Apesar de existirem poucas publicações na literatura sobre a determinação de ETU com eletrodo de Hg, Laurence e Iverson [148] sugerem o mecanismo de reação anódica que ocorre com o grupo funcional tiocarbonila que apresenta uma reação de complexação específica com a superfície do eletrodo de Hg, conforme o esquema abaixo.



No presente trabalho tal como na investigação de Carvalho et al [86], a ETU foi determinada em meio alcalino utilizando como eletrólito suporte uma solução tampão borato ($\text{pH} = 8,0$), com um $E_{\text{pico}} = +0,03 \text{ V}$.

4.2.2.1 Potencial de pré-concentração

Para a determinação de ETU foi estudada uma faixa de potencial de pré-concentração de $+0,20$ à $-0,60 \text{ V}$, onde em $E = +0,10 \text{ V}$ foi possível observar a corrente máxima para o analito, melhorando consideravelmente a sensibilidade nas medidas voltamétricas. Para potenciais de pré-concentração próximos a $+0,10 \text{ V}$, como em $+0,20 \text{ V}$, o analito tem um comportamento semelhante, mas de acordo com o afastamento no sentido de potenciais negativos, a corrente gerada pela espécie eletroativa começa a diminuir indicando a dependência do sinal da ETU em relação ao potencial de pré-concentração.

Os ensaios para escolha do potencial ideal de pré-concentração para ETU foram realizados utilizando uma concentração fixa de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de ETU, variando apenas os potenciais de pré-concentração no sistema dentro da faixa estudada.

4.2.2.2 Tempo de pré-concentração

O tempo de pré-concentração também foi um fator determinante para as medidas de ETU, por isso, foram testados diferentes tempos de pré-concentração com 30, 60, 90, 120, 240 e 360 s.

Em meio a uma solução tampão borato $\text{pH} = 8,0$ foram avaliados os tempos de pré-concentração escolhidos, onde foi possível observar que 60 s de pré-concentração foram suficientes para se obter o sinal máximo para o analito. Tempos de pré-concentração de 30 s produzem sinais voltamétricos de menor intensidade, enquanto que tempos de pré-concentração de 90, 120, 240 e 360 s produzem sinais semelhantes em intensidade, por isso optou-se em utilizar um tempo de pré-concentração de 60 s por produzir análises mais rápidas.

4.2.2.3 Limite de Detecção

A determinação de ETU utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de Hg em meio à solução tampão borato $\text{pH} = 8,0$ foi realizada em $E_{\text{pico}} = +0,03 \text{ V}$. Para isso, utilizou-se também um potencial de pré-concentração em $+0,10 \text{ V}$ e um tempo de pré-concentração de 60 s foi necessário para a determinação do analito. Sendo assim, o método proposto determinou ETU na faixa de concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ a $100 \mu\text{g L}^{-1}$, com coeficiente de correlação linear de 0,9903, obtendo um LD de $1,3 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.2.3 Determinação Voltamétrica de tiotriazinas utilizando eletrodo de ouro

A determinação de tiotriazinas por voltametria utilizou como eletrodo de trabalho um eletrodo de ouro com $0,32 \text{ cm}^2$ de área superficial no modo rotatório, com uma velocidade de 1000 rpm. A detecção dos herbicidas foi realizada em meio alcalino com solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, aplicando um potencial, varrendo uma faixa de $E = -1,60 \text{ V}$ à $E = +1,10 \text{ V}$ utilizando uma velocidade de varredura de $16,6 \text{ mV s}^{-1}$, onde a corrente máxima do sinal voltamétrico para o sistema foi obtida em $E_{\text{pico}} = +1,05 \text{ V}$, conforme a figura 18 que apresenta também a linha de base do sistema. Em pH ácido e neutro os herbicidas não apresentaram sinal eletroquímico.

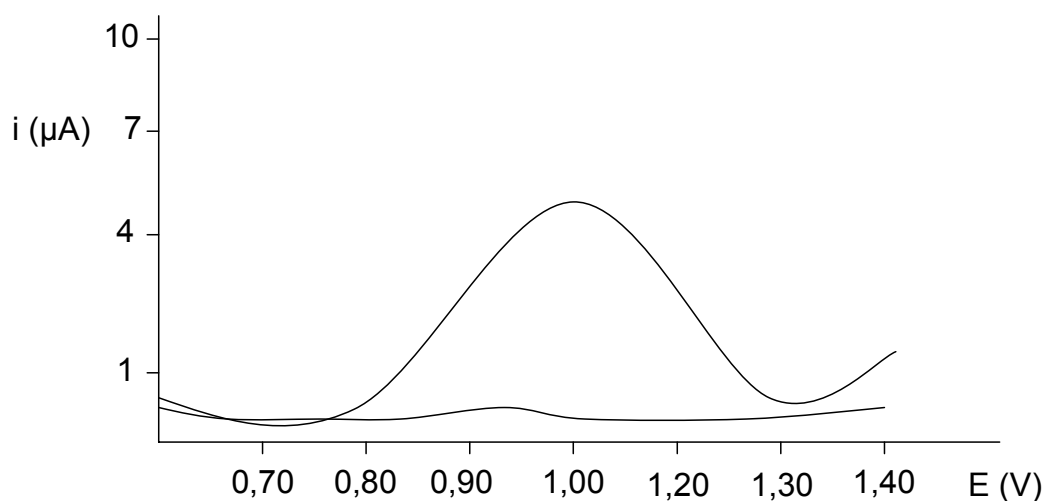


Figura 18: Sinal voltamétrico característico das tiotriazinas ($E_{\text{pico}} = +1,05 \text{ V}$) utilizando eletrodo de ouro com $0,32 \text{ cm}^2$ de superfície. Eletrólito: NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $t_{\text{pré-concentração}} = 60 \text{ s}$. $E_{\text{pré-concentração}} = -1,60 \text{ V}$.

4.2.3.1 Potencial de pré-concentração

A pré-concentração de espécies na superfície do eletrodo de ouro em potenciais muito negativos como em $E = -2,00 \text{ V}$ favorecem o desprendimento de H_2 , impossibilitando as análises. Neste trabalho, foram investigados os potenciais

para a pré-concentração de -1,00; -1,30; -1,60; -1,80 V e -2,00 V. Frente a estes potenciais as tiotriazinas apresentaram melhor comportamento em -1,60 V onde não sofreram com a influência do meio de análise, permitindo a pré-concentração dos analitos.

4.2.3.2 Velocidade de Varredura

Para determinar a velocidade de varredura ideal para o sistema foram investigadas as velocidades de 6,6 mV s⁻¹, 16,6 mV s⁻¹, 33,3 mV s⁻¹ e 60 mV s⁻¹. Adicionando quantidades crescentes na célula voltamétrica utilizando as diferentes velocidades de varredura, pode-se perceber que com 16,6 mV s⁻¹ as tiotriazinas atingem seu ponto máximo de corrente, enquanto que, velocidades superiores ou inferiores a esse valor a intensidade do sinal diminui ou até mesmo desaparece. De acordo com a tabela 14 que relaciona as velocidades estudadas com a intensidade do sinal voltamétrico obtido com o eletrodo de ouro, observa-se que a velocidade de varredura de 16,6 mV s⁻¹ produz o sinal com maior intensidade, enquanto que velocidades maiores como 33,3 e 60 mV s⁻¹ o sinal eletroquímico diminui ou foi deslocado para valores de potencial de pico de redução fora da faixa de trabalho.

Tabela 14: Velocidade de varredura em função da corrente (μA). Eletrodo de ouro. $t_{\text{pré-concentração}} = 60$ s. $E_{\text{pré-concentração}} = -1,60$ V. Concentração de ametrina: 50 μg L⁻¹

Velocidade de varredura (mV s ⁻¹)	i (μA)
6,6	4,8
16,6	6,5
33,3	5,3
60,0	----

4.2.3.3 Tempo de pré-concentração

O tempo de pré-concentração na determinação voltamétrica de tiotriazinas utilizando eletrodo de ouro foi um fator determinante nas quantificações. No presente trabalho foi investigado tempos de pré-concentração para as tiotriazinas de 15, 30, 60, 90 e 120 s. De acordo com os ensaios, um tempo de pré-concentração de 60 s foi suficiente para a pré-concentração dos analitos. A tabela 15 relaciona a variação dos tempos de pré-concentração com as correntes obtidas no sistema. Conforme a tabela, os tempos de pré-concentração superiores ou inferiores a 60 s apresentam valores de corrente com menor intensidade. Utilizando um tempo de pré-concentração de 60 s obtém-se a corrente máxima para este sistema de 5,30 μA . Neste caso, os tempos de pré-concentração maiores que 60 s deveriam produzir correntes com maior intensidade, isto não acontece devido provavelmente à saturação da superfície de contato do eletrodo de trabalho.

Tabela 15: Tempos de pré-concentração x corrente (μA). $E_{\text{pico}} = +1,05 \text{ V}$. $E_{\text{pré-concentração}} = -1,60 \text{ V}$.
Eletrólito: $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Massa de ametrina na célula: $0,10 \mu\text{g}$. Velocidade de varredura: $16,6 \text{ mV s}^{-1}$

Tempo de pré-concentração (s)	Corrente (μA)
15	3,80
30	4,00
60	5,30
90	4,80
120	4,90

4.2.3.4 Limite de Detecção

O limite de detecção para a determinação voltamétrica das tiotriazinas estudadas encontrado foi de $15 \mu\text{g L}^{-1}$ em meio alcalino $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

4.2.4 Determinação de ETU utilizando eletrodo de ouro

A determinação voltamétrica de ETU utilizando um eletrodo de ouro como detector foi feita varrendo uma faixa de potenciais +0,90 V a +1,50 V com uma velocidade de varredura de $16,6 \text{ mV s}^{-1}$, em meio ácido (H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$).

As curvas analíticas para ETU foram construídas com concentrações de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, $50 \mu\text{g L}^{-1}$, $75 \mu\text{g L}^{-1}$, $100 \mu\text{g L}^{-1}$, $125 \mu\text{g L}^{-1}$ e $150 \mu\text{g L}^{-1}$, encontrando coeficiente de correlação linear de 0,9893 para uma reta com sete pontos. O limite de detecção calculado para o sistema foi de $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

A figura 19 apresenta o voltamograma típico da detecção de ETU com sua respectiva linha de base em meio ácido, utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de ouro no modo estático. A intensidade máxima do sinal foi registrada em $E_{\text{pico}} = +1,20 \text{ V}$.

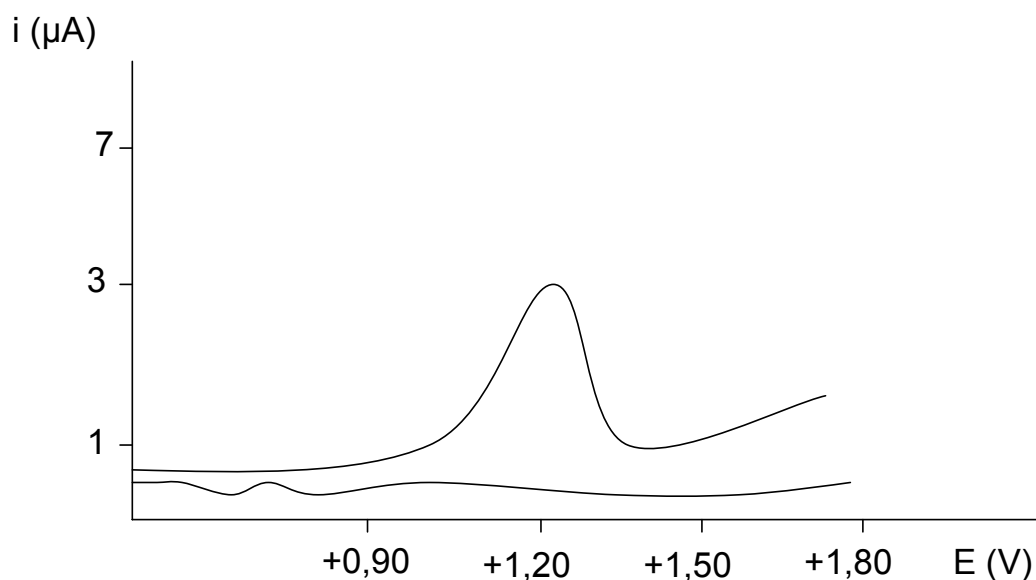


Figura 19: Sinal voltamétrico de ETU em meio ácido utilizando eletrodo de ouro no modo estático. Concentração de ETU: $25 \mu\text{g L}^{-1}$. $E_{\text{pico}} = +1,20 \text{ V}$.

4.2.4.1 Tempo de pré-concentração

O tempo de pré-concentração escolhido para o sistema foi determinado variando os tempos entre 15 s e 90 s, utilizando concentrações fixas de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de ETU. A tabela 16 relaciona os tempos de pré-concentração investigados em função da corrente obtida. De acordo com a tabela, o tempo de pré-concentração de 60 s se mostrou suficiente para produzir um sinal com maior intensidade que os outros tempos de pré-concentração estudados.

Tabela 16: Tempo de pré-concentração ideal para o sistema voltamétrico. Eletrodo de ouro no modo estático. Eletrólito: H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Concentração de ETU: $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

T pré-concentração (s)	i (μA)
15	2,4
30	5,8
60	6,6
75	6,1
90	6,2

Na literatura existem alguns trabalhos [87, 90, 92] que relatam a determinação de ETU e compostos com enxofre utilizando eletrodo de ouro como detector, em meio aquoso. No presente trabalho, tal como na literatura, previamente as análises, o eletrodo de trabalho (ouro) foi submetido a um tratamento de superfície através do polimento manual com alumina, seguido de uma ciclagem, aplicando potenciais de $E = 0 \text{ V}$ à $E = +1,50 \text{ V}$, em meio ácido. Segundo a revisão de Johnson e seus colaboradores [149] este procedimento garante a ativação da área de contato do eletrodo permitindo determinar baixas concentrações de analito, eliminando a possibilidade de atenuação na reatividade da superfície do eletrodo de ouro.

4.3 Amperometria

4.3.1 Determinação amperométrica on-line de Tiotriazinas utilizando CVR como eletrodo de trabalho

As determinações amperométricas produzem sinais transientes, porém utilizando a interface produzida neste trabalho (item 3.1) os sinais amperométricos puderam ser registrados através de sua área, uma vez que, a velocidade de aquisição de dados da interface permite obter do sinal transiente uma área mensurável e proporcional à concentração. Esta abordagem assemelha-se em parte à Coulometria, uma vez que, a corrente gerada é integrada num certo tempo embora o sinal corresponda a uma fração muito pequena do total do analito presente na amostra (< 0,5%) em virtude da pequena área do eletrodo e do tempo de residência do analito no sistema de medida. A utilização da interface resultou numa medida com alta sensibilidade, onde puderam ser determinadas concentrações na faixa de $1 \mu\text{g L}^{-1}$.

A determinação amperométrica on-line de tiotriazinas utilizou como eletrodo de trabalho um eletrodo de CVR com uma área superficial de contato de $0,32 \text{ cm}^2$, onde os herbicidas são detectados aplicando um potencial em $+1,78 \text{ V}$, utilizando como eletrólito uma solução ácida $\text{pH} = 5,0$ ou uma solução tampão acetato de sódio $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 5,7$) ou ainda ACN (40%)/ H_2O (60%) v/v ($\text{pH} = 5,5$).

Tabela 17: Comportamento da desmetrina utilizando o método amperométrico de detecção com eletrodo de carbono vítreo reticulado em meio à solução tampão acetato de sódio. $E_{\text{detecção}} = + 1,78 \text{ V}$.

Nº de pontos da curva	Faixa de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Correlação linear (r)
3	1 a 20	0,9999
4	1 a 35	0,9814
5	1 a 50	0,9584
6	1 a 75	0,9758
7	1 a 100	0,9863
8	1 a 150	0,9916

A tabela 17 apresenta os coeficientes de correlação linear obtidos para os pontos da curva analítica construída para a desmetrina no sistema amperométrico on line utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de CVR e uma faixa de concentração de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ a $150 \mu\text{g L}^{-1}$ em meio a uma solução tampão acetato de sódio como eletrólito. Os dados da tabela correspondem a figura 20, onde os amperogramas foram obtidos em soluções 1, 5, 20, 35, 50, 75, 100 e $150 \mu\text{g L}^{-1}$ de desmetrina utilizando tempos de integração de 30 s. A determinação amperométrica on line das tiotriazinas utilizando como eletrólito uma solução tampão acetato de sódio $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ foi realizada aplicando um potencial em $+1,78 \text{ V}$, sendo que a corrente gerada no sistema foi proporcional a concentração das espécies formando os amperogramas a partir de correntes de linha de base de 8 nA, como mostra a figura abaixo que apresenta os sinais amperométricos com adições crescentes de desmetrina.

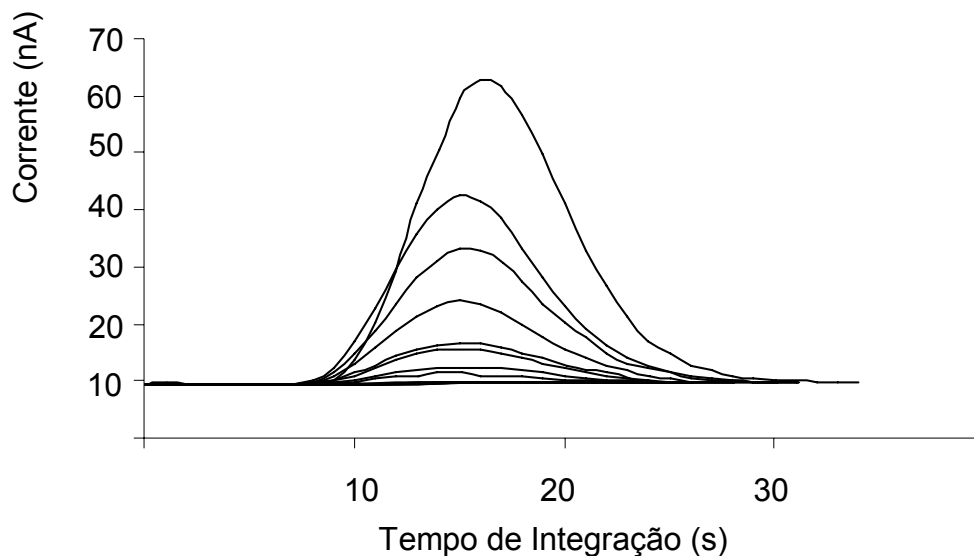


Figura 20: Sinal amperométrico on line de desmetrina utilizando como eletrólito uma solução tampão de acetato de sódio $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Adição de 1, 5, 20, 35, 50, 75, 100 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$. Eletrodo de Trabalho: CVR. $E_{\text{detecção}} = +1,78 \text{ V}$. Fluxo do sistema: 1 mL min^{-1} . $r_8 = 0,9916$.

A pesquisa de Zapardiel et al [150] sobre a determinação em fluxo de tiotriazinas em amostras aquosas, tal como no presente trabalho, utilizou eletrodo de CVR como sensor devido à boa estabilidade e reprodutibilidade que são obtidos com tratamento prévio do eletrodo de trabalho através de um polimento com alumina em pó de baixa granulidade, seguido de uma lavagem com água ultra pura. Este procedimento faz com que a superfície do eletrodo de carbono fique ativada melhorando a transferência de elétrons [151], permitindo medidas em fluxo com boa sensibilidade, determinando concentrações com até $1 \mu\text{g L}^{-1}$ das espécies.

A determinação de tiotriazinas no sistema on line proposto neste trabalho, que utilizou como eletrólito uma solução de ACN(40%)/H₂O(60%) (v/v) forma uma onda próxima ao sinal amperométrico característico dos herbicidas que se originou pela dispersão do analito entre a ACN e a solução aquosa. Esta onda vai se intensificando a partir de concentrações de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ das espécies no meio de análise, onde a figura 21 ilustra a determinação de desmetrina nestas condições. A construção da curva analítica para o sistema obteve coeficiente de correlação

linear para sete pontos de $r = 0,9938$, tomando-se por base o tempo de integração de 10 a 20 s.

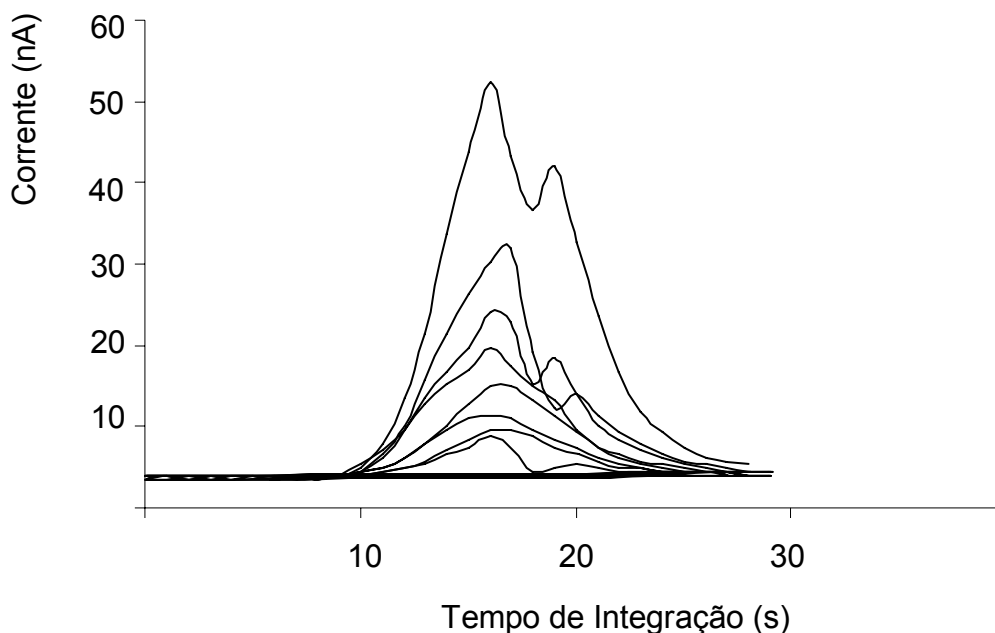


Figura 21: Sinal amperométrico de desmetrina utilizando como eletrólito uma solução de ACN (40%)/H₂O(60%) (v/v). Adição de 1, 5, 20, 35, 50, 75, 100 e 150 µg L⁻¹. Eletrodo de Trabalho: CVR. $E_{\text{detecção}} = +1,78$ V. Fluxo do sistema: 1 mL min⁻¹.

Pacáková et al [19], tal como neste trabalho, avaliaram o comportamento eletroquímico de algumas tiotriazinas entre elas ametrina, desmetrina, prometrina e terbutrina. O sistema desenvolvido pelos pesquisadores utilizou como detector eletrodo de carbono que é geralmente usado como detector cromatográfico em matrizes mais complexas devido a sua boa seletividade. Os autores propõem um método de detecção amperométrico para os herbicidas tiotriazínicos, utilizando uma faixa de potencial em torno de +1,70 V à +2,00 V, em meio de acetonitrila.

A determinação on line de tiotriazinas empregando como eletrólito uma solução aquosa ácida de HNO₃ pH= 5,0 não sofre tanto a influência do meio de análise se for comparado à determinação dos herbicidas utilizando como eletrólito ACN ou acetato de sódio. A figura 22 apresenta os amperogramas obtidos na construção da curva analítica da desmetrina nestas condições gerando sinais com

ótima formação e correlação linear de $r = 0,9989$ entre os pontos, na faixa de concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ a $150 \mu\text{g L}^{-1}$, porém com sensibilidade inferior aos outros dois meios utilizados ACN (40%)/H₂O(60%) (v/v), solução tampão de acetato de sódio $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$).

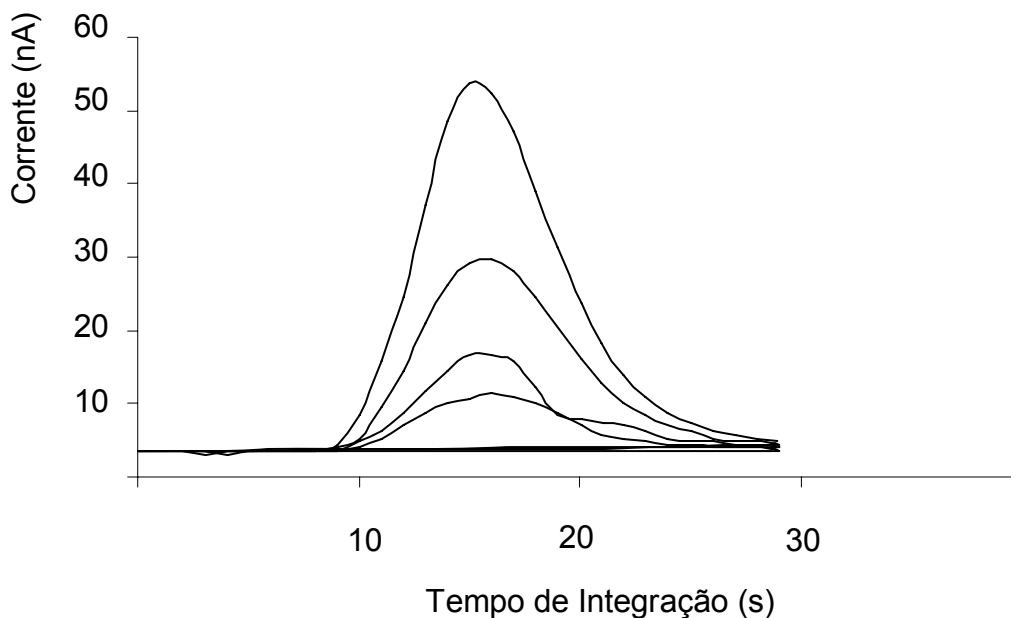


Figura 22: Sinal amperométrico característico da desmetrina em meio aquoso. Adição de 20, 50, 100 e $150 \mu\text{g L}^{-1}$. Eletrodo de Trabalho: CRV. $E_{\text{detecção}} = +1,78 \text{ V}$. Fluxo do sistema: 1 mL min^{-1} . $r_3 = 0,9991$; $r_4 = 0,9989$. Eletrólito: Solução de HNO₃ (pH= 5,0).

No presente trabalho, foi descrito o sistema amperométrico on line utilizando como eletrodo de trabalho um eletrodo de carbono para a determinação de tiotriazinas em amostras aquosas onde foram empregados como eletrólitos uma solução de Acetato de Sódio $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ou ACN/H₂O ou ainda uma solução de HNO₃ (pH= 5,0). Os herbicidas foram quantificados utilizando os diferentes eletrólitos estudados, onde tiveram um comportamento semelhante em relação ao eletrodo de CVR, porém os eletrólitos Acetato de Sódio $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e ACN/H₂O apresentaram melhor sensibilidade.

Os ensaios em amostras salinas como o concentrado salino para hemodiálise ($\mu = 4,20$) e água do mar ($\mu = 0,60$) foram realizados utilizando o mesmo sistema. A partir destes meios salinos foram feitos ensaios com forças

iônicas menores, onde não foi possível quantificar as tiotriazinas independentemente da força iônica da solução devido ao aumento progressivo da linha de base que inicia no momento que o eletrólito (solução salina) passa pela superfície do eletrodo de CVR, conduzindo a uma redução progressiva dos sinais amperométricos característicos das tiotriazinas.

4.4 Coulometria

4.4.1 Determinação de tiotriazinas por Coulometria

No presente estudo, as tiotriazinas foram determinadas por Coulometria de Potencial Constante utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre e uma placa de CVR com Hg eletrodepositado. A detecção destes herbicidas foi feita em potenciais negativos $E_{\text{pico}} = -1,05 \text{ V}$ e $E_{\text{pico}} = -1,15 \text{ V}$, onde ocorre a redução em meio ácido em solução tampão Britton Robinson ou HClO_4 ($\text{pH} = 4,0$).

Skopalová e Kotoucek [114] estudaram o comportamento Coulométrico de seis triazinas no eletrodo de Hg (atrazina, terbutilazina, desmetrina, prometrina, terbutrina e metoprotrina). Os pesquisadores utilizaram a Coulometria de Potencial Constante para investigar o número de elétrons trocados durante o processo de redução para três compostos: desmetrina, metoprotrina e atrazina ($c = 5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). O processo de redução da metoprotrina e da atrazina foi feito durante uma hora de eletrólise em uma solução $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com 10% (v/v) de metanol em um potencial de $E_{\text{pico}} = -1,1 \text{ V}$ e $E_{\text{pico}} = -1,15 \text{ V}$, respectivamente. A desmetrina foi reduzida em uma solução tampão Britton Robinson ($\text{pH} = 3,9$) com 10% (v/v) de metanol em um potencial de $-1,25 \text{ V}$, durante uma hora. O número de elétrons calculados através das cargas foi em média quatro, para os três herbicidas.

Na pesquisa de Skopalová e Kotoucek [114], tal como no presente trabalho foi utilizada a Coulometria de potencial constante para avaliar o comportamento de algumas tiotriazinas frente ao eletrodo de mercúrio, com grande área de contato em meio a uma solução tampão ácida. Ao aplicar potenciais negativos em torno de $E = -1,10 \text{ V}$, os herbicidas são reduzidos eletroquimicamente na superfície do eletrodo de trabalho e o sinal coulométrico pode ser observado a partir de concentrações de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O método de Skopalová e Kotoucek utilizou longos tempos de eletrólise, diferentemente do presente trabalho que optou por rápidas eletrólises em consequência há uma redução nos rendimentos coulométricos.

4.4.2 Determinação Coulométrica off line de Tiotriazinas utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado

Com a Coulometria de Potencial constante foi possível determinar pequenas quantidades de herbicidas da classe das tiotriazinas em meio ácido e alcalino, utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com 50 cm de comprimento, espiralado, com Hg eletrodepositado na superfície, sendo o eletrodo de referência de Ag/AgCl e o contra eletrodo de grafite.

A determinação off line destes compostos tiotriazínicos em meio alcalino foi feita utilizando como eletrólito uma solução de $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ pH= 9,0. A Ametrina é eletroquimicamente ativa e foi quantificada no potencial de -1,050 V durante 3 minutos de eletrólise, sob leve agitação. Normalmente, as medidas coulométricas não requerem calibração porque esta medida é absoluta. No entanto, longos tempos de eletrólise estão associados a estas medidas para a descarga completa do analito. No presente trabalho, optou-se por tempos de eletrólise mais curtos e com conseqüente redução nos rendimentos das eletrólises, mas com a vantagem de análises mais rápidas. Nestes casos, a quantificação deve ser feita de forma relativa com a utilização de curvas analíticas. A calibração do sistema é feita individualmente para cada padrão do analito considerando a carga gerada durante a eletrólise e a carga correspondente ao branco (eletrólito). Nestas condições experimentais foi possível construir uma curva analítica para ametrina a partir de uma massa mínima de $2,5 \times 10^{-4}$ g presente em 50 mL de eletrólito na célula coulométrica, considerando rendimentos de eletrólise em torno de 15%, conforme a tabela 18. Desta forma, para cada padrão do analito as cargas obtidas pela eletrólise parcial durante 3 minutos são descontados da carga do branco (eletrólise por 3 minutos da solução do eletrólito). A carga resultante corresponde a quantidade em Coulombs necessária ao processo eletródico de parte da quantidade total do analito (eletrólise parcial durante 3 minutos). Esta carga foi relacionada neste trabalho, a um valor percentual de rendimento de eletrólise nas condições utilizadas, sendo assim, o ponto 1 na tabela 19 corresponde à eletrólise completa de $4,335 \times 10^{-5}$ g (17,34% de $2,5 \times 10^{-4}$ g).

Os cálculos dos rendimentos de eletrólise foram feitos baseando-se na Lei de Faraday, onde 1 Mol da substância eletrolisada corresponde a 96.485 C. Sendo assim, com a carga gerada na eletrólise é possível saber a massa da substância que foi eletrolisada. Desta maneira, relaciona-se o valor da massa adicionada a 100% de rendimento e a massa eletrolisada terá seu valor em percentual indicando o rendimento (%) da eletrólise.

As curvas analíticas (dados na tabela 18) que podem ser obtidas neste sistema são traçadas pela relação entre a carga líquida em cada determinação e a concentração total do analito. Desta maneira, a determinação de tiotriazinas por Coulometria no presente trabalho apresentou boa correlação linear entre os quatro pontos da curva analítica construída. Apesar de existir uma variação de 12% a 17% entre os rendimentos. Os cálculos para a correlação linear entre os pontos da curva analítica foram feitos utilizando a massa eletrolisada de ametrina em relação a carga gerada na eletrólise, mas, calculando a correlação linear entre a carga gerada pela eletrólise em função da massa adicionada, percebe-se que os valores de r para três pontos da curva são praticamente os mesmos. Desta forma, pode-se dizer que a variação entre os rendimentos não chega a ser expressiva porque não altera a linearidade entre a relação massa eletrolisada em 3 minutos x carga.

Tabela 18: Determinação coulométrica off line de ametrina em meio alcalino (pH= 9,0) com eletrodo de Hg. Correlação linear para 3 pontos da curva analítica $r_3= 0,9999$ e para 4 pontos da curva, $r_4= 0,9825$. $E_{\text{pico}} = -1,05$ V. Eletrólise: 3 minutos.

Nº de pontos da curva	Massa inicial (g)	Carga (C)	Rendimento (%)
1	$2,5 \times 10^{-4}$	0,0209	16,87
2	$5,0 \times 10^{-4}$	0,0298	14,12
3	$7,5 \times 10^{-4}$	0,0385	16,11
4	$1,0 \times 10^{-3}$	0,0562	12,51

De acordo com a tabela 19 as tiotriazinas também foram determinadas na presença de soluções ácidas como, por exemplo, uma solução tampão Britton Robinson pH= 4,0. Este eletrólito suporte foi o meio mais adequado para a

determinação off line das tiotriazinas em meio ácido. Aplicando-se um potencial em -1,05 V foi possível construir uma curva analítica com massa inicial de $2,5 \times 10^{-4}$ g do herbicida, obtendo-se rendimentos de eletrólise de 10% a 17% e correlação linear de $r = 0,9927$. Quando são aplicados potenciais negativos a partir de $E = -0,30$ V em eletrodos de Hg em meios muito ácidos ($\text{pH} = 2,0$) o desprendimento de H_2 na superfície do eletrodo impossibilita a determinação das espécies.

Tabela 19: Cargas geradas durante as eletrólises na determinação off line de ametrina em meio a solução tampão Britton Robinson ($\text{pH} = 4,0$). $r_3 = 0,9895$; $r_4 = 0,9927$.

Nº de pontos	Massa inicial (g)	Q (C) branco	Q (C) ametrina	Rendimento
1	$2,5 \times 10^{-4}$	$1,393 \times 10^{-2}$	$3,233 \times 10^{-2}$	17,34%
2	$5,0 \times 10^{-4}$	$2,478 \times 10^{-2}$	$5,558 \times 10^{-2}$	14,51%
3	$7,5 \times 10^{-4}$	$3,141 \times 10^{-2}$	$6,963 \times 10^{-2}$	12,00%
4	$1,0 \times 10^{-3}$	$3,109 \times 10^{-2}$	$7,750 \times 10^{-2}$	10,93%

Skopalová e colaboradores [113] desenvolveram um método de detecção eletroquímica utilizando a Polarografia e a Coulometria de Potencial Constante com eletrodo de Hg. Segundo os autores, as determinações Coulométricas das tiotriazinas desmetrina, terbutrina e prometrina ocorrem em soluções ácidas de H_2SO_4 ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$) $\text{pH} = 3,9$ e tampão Britton Robinson $\text{pH} = 3,6$; aplicando potenciais negativos em -1,10 V e -1,20 V para a redução eletroquímica dos herbicidas na superfície do eletrodo de trabalho. Os pesquisadores utilizaram diferentes tempos de reação para determinar a eletrólise completa das tiotriazinas para o sistema proposto, onde os produtos finais da reação coulométrica foram identificados por CLAE-EM em concentrações de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

A determinação off line de tiotriazinas proposta por Skopalová e colaboradores [113] como no atual trabalho foi feita aplicando potenciais negativos para a detecção e quantificação dos herbicidas. O meio ácido de $\text{pH} 3,0$ a $5,5$, segundo os pesquisadores favorece a determinação coulométrica das tiotriazinas na superfície do eletrodo de mercúrio, promovendo longas eletrólises de até 285

minutos, obtendo rendimentos próximos a 100% no sistema. Quando são utilizados valores de pH maiores que 5,5 os sinais coulométricos obtidos pelo sistema são de menor intensidade.

Ao contrário de Skopalová et al., no presente trabalho optou-se por eletrólises curtas, em função disso os rendimentos são menores também, porém, o sistema apresenta ótima correlação linear entre os pontos da curva analítica.

4.4.2.1 Tempo de eletrólise

O eletrodo de trabalho utilizado neste sistema coulométrico foi construído a partir de um fio de cobre com 50 cm de comprimento, espiralado, que foi submetido previamente ao processo de eletrodeposição de Hg (item 3.5.8) para os ensaios eletroquímicos.

O tempo de eletrólise na Coulometria está diretamente relacionado com a concentração das espécies no meio de análise e com a superfície do eletrodo de trabalho.

Os dados apresentados na tabela 20 utilizaram a mesma massa de ametrina em todos os ensaios no sistema Coulométrico, porém, o tempo de eletrólise foi aumentado gradativamente até 16,5 minutos, onde o sistema proposto atingiu seu máximo com rendimentos de até 99,42%.

Tabela 20: Relação entre o tempo de eletrólise e rendimento. Massa de ametrina: 5×10^{-4} g.

Tempo de eletrólise (min.)	Rendimento (%)
3,0	28,23
10,0	49,64
13,0	66,81
14,0	72,64
16,0	86,43
16,5	99,42

Para a determinação das tiotriazinas utilizando como eletrodo de trabalho uma placa de CVR com Hg eletrodepositado também se optou por eletrólises mais rápidas (tempo: 3 min.), no entanto, o sistema apresentou rendimentos em torno de 4% na detecção dos herbicidas (vide tabela 22), enquanto que o sistema que utilizou um fio de cobre com Hg eletrodepositado apresentou rendimentos de aproximadamente 28% para o mesmo tempo de eletrólise.

4.4.2.2 Área superficial do eletrodo de trabalho

A superfície do eletrodo de trabalho influencia diretamente na eficiência (rendimento) da eletrólise, onde eletrodos com áreas superficiais maiores facilitam o contato com o analito produzindo melhores rendimentos nas eletrólises, se comparado a eletrodos de menor área superficial.

Conforme os resultados apresentados na tabela 21, a massa do analito e o tempo de eletrólise são mantidos constantes no sistema coulométrico proposto que testou 3 tamanhos (áreas superficiais) diferentes de eletrodos de trabalho (fios de cobre com Hg eletrodepositado). De acordo com a tabela pode-se perceber que com o aumento da área superficial do eletrodo, os rendimentos também aumentam claramente. O eletrodo de trabalho com 50 cm de comprimento mostrou-se mais eficiente nas determinações e por isso foi escolhido como superfície ideal para o método proposto neste estudo.

Tabela 21: Relação entre a superfície do eletrodo de trabalho e o rendimento na eletrólise, utilizando massa constante de 5×10^{-4} g de ametrina. Tempo de eletrólise: 3 min.

Compr. do eletrodo (cm)	Rendimento (%)
20	15,37
30	17,51
50	29,30

Fazendo uma projeção em relação ao tamanho do eletrodo observa-se que somente para comprimentos da ordem de 150 cm os rendimentos de eletrólise se aproximariam de 100%. Contudo, esta alternativa não foi investigada devido a dificuldade prática de acomodar o eletrodo nos suportes utilizados.

4.4.2.3 Eletrodeposição

O procedimento de eletrodeposição foi feito de acordo com o item 3.5.8 do presente trabalho. Eventualmente pode ocorrer a formação de substâncias escuras [152] sobre a superfície do eletrodo de trabalho podendo ser removidas com uma solução de HNO_3 50% e em seguida lavada com água ultra pura.

A deposição de Hg metálico sobre fios de Ag ou Cu sem aplicação de potencial é também uma alternativa para a construção destes eletrodos, que se mostram eficientes nas determinações eletroquímicas, porém, a eletrodeposição proporciona superfícies mais uniformes e adequadas ao sistema Coulométrico.

De acordo com Gunawardena et al [108] o processo de nucleação eletroquímica do mercúrio sobre a superfície do eletrodo de trabalho, é praticamente instantâneo, formando camadas uniformes de mercúrio estáveis à aplicação de potenciais.

4.4.3 Determinação Coulométrica off line de Tiotriazinas e ETU, utilizando como eletrodo de trabalho uma placa CVR com eletrodeposição de Hg

A determinação off line das tiotriazinas em estudo e de ETU foi realizada em meio a solução tampão Britton Robinson (pH= 4,3), utilizando como eletrodo de trabalho uma placa CVR com Hg eletrodepositado com 5,5 cm² de área superficial.

Se compararmos os resultados da tabela 22 que utiliza um eletrodo de CVR com Hg eletrodepositado com os resultados da tabela 18 que utiliza como eletrodo de trabalho um fio de cobre também com Hg eletrodepositado para a determinação de tiotriazinas, percebe-se que a massa mínima detectada com o eletrodo de CVR foi o dobro ($5,0 \times 10^{-4}$ g) e também produz rendimentos menores, comprometendo a correlação linear entre os pontos na faixa de concentração de 10 mg L⁻¹ a 40 mg L⁻¹, mostrando com isso que o eletrodo de cobre com Hg eletrodepositado apresenta um desempenho melhor na determinação dos analitos do que o CVR.

Tabela 22: Determinação Coulométrica off line de desmetrina utilizando como eletrodo de trabalho uma placa de CVR com Hg eletrodepositado.

Nº de pontos da curva	Massa (g)	Branco Q (C)	Desmetrina Q (C)	Rend. (%)
1	$5,0 \times 10^{-4}$	$5,843 \times 10^{-2}$	$6,062 \times 10^{-2}$	0,96
2	$7,5 \times 10^{-4}$	$9,015 \times 10^{-2}$	$1,046 \times 10^{-1}$	4,25
3	$1,0 \times 10^{-3}$	$1,104 \times 10^{-1}$	$1,286 \times 10^{-1}$	4,02
4	$2,0 \times 10^{-3}$	$1,110 \times 10^{-1}$	$4,526 \times 10^{-1}$	37,76

A ETU tal como as tiotriazinas são detectadas em $E_{\text{pico}} = -1,05 \text{ V}$ em meio ácido. A determinação off line de ETU utilizando como eletrodo de trabalho uma placa de CVR com Hg eletrodepositado produz altos rendimentos na eletrólise, conforme a tabela 23, onde a curva analítica para ETU foi construída com uma faixa de concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ a 10 mg L^{-1} . De acordo com os dados da tabela os rendimentos não são muito constantes, alterando com isso o comportamento linear da ETU frente ao eletrodo de CVR com Hg eletrodepositado, obtendo valores de r para três pontos da curva analítica de 0,93.

Tabela 23: Determinação off line de ETU em solução tampão Britton Robinson (pH= 4,3) utilizando uma placa de CVR com mercúrio eletrodepositado ($r_3 = 0,93$; $r_4 = 0,96$). Tempo de eletrólise: 3 minutos.

Nº de pontos	Massa(g)	Branco Q (C)	ETU Q (C)	Rend. (%)
1	$2,5 \times 10^{-5}$	$6,922 \times 10^{-2}$	$7,899 \times 10^{-2}$	41,37
2	$7,5 \times 10^{-4}$	$6,771 \times 10^{-2}$	$1,365 \times 10^{-1}$	72,83
3	$1,0 \times 10^{-3}$	$5,920 \times 10^{-2}$	$1,582 \times 10^{-1}$	41,92
4	$2,0 \times 10^{-3}$	$4,719 \times 10^{-2}$	$4,274 \times 10^{-1}$	80,51

A revisão de Van der Linden e Diecker [93] salienta que os eletrodos de CVR de boa qualidade têm superfícies mais planas, proporcionando melhor reprodutibilidade nas determinações das espécies. De acordo com os pesquisadores, observou-se também no atual trabalho que as eletrodeposições de Hg em placas de CVR são uniformes, porém com o eletrodo de cobre com Hg eletrodepositado utilizado no presente trabalho, os resultados foram melhores do que aqueles com CVR, considerando os rendimentos na eletrólise e a massa mínima detectável.

4.4.4 Determinação off line de Tiotriazinas e ETU em meio salino utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com eletrodeposição de Hg

A determinação off line de Tiotriazinas e ETU em meio ácido e altamente salino como as soluções para hemodiálise, foi feita utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com 50 cm de comprimento com eletrodeposição de Hg, aplicando um potencial constante em -1,05 V durante 3 minutos de eletrólise, sob forte agitação. Nestas condições experimentais a desmetrina pôde ser medida no sistema Coulométrico obtendo bons rendimentos e também uma boa correlação linear entre os pontos.

A tabela 24 relaciona os resultados obtidos para a curva analítica da desmetrina numa faixa de concentração de 3,84 mg L⁻¹ a 7,69 mg L⁻¹ (Tempo de eletrólise= 3 minutos).

Tabela 24: Determinação off line de desmetrina em meio salino ($\mu= 4,20$), utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado. Eletrólise: 3 minutos.

Nº de pontos	Massa(g)	Branco Q (C)	Desmetrina Q (C)	Rend.(%)
1	$2,50 \times 10^{-4}$	$2,853 \times 10^{-1}$	$3,019 \times 10^{-1}$	14,67
2	$3,75 \times 10^{-4}$	$1,619 \times 10^{-1}$	$2,154 \times 10^{-1}$	31,54
3	$5,00 \times 10^{-4}$	$1,208 \times 10^{-1}$	$1,794 \times 10^{-1}$	25,91

Observou-se que o comportamento eletroquímico das tiotriazinas e da ETU são semelhantes porque os analitos são reduzidos na superfície do eletrodo de trabalho, porém, a ETU exige uma massa maior para a sua detecção (5×10^{-4} g) neste sistema, de acordo com a tabela 25. Para os métodos coulométricos os rendimentos registrados podem ser considerados baixos, apesar disso os ensaios analíticos são reproduzíveis com Desvio Padrão DP= 0,07%, gerando boa correlação linear entre os pontos na faixa de concentração de 7,69 mg L⁻¹ a 30,76 mg L⁻¹, conforme a tabela abaixo.

Tabela 25: Determinação off line de ETU em meio salino ($\mu= 4,20$), utilizando como eletrodo de trabalho um fio de cobre com Hg eletrodepositado. $r_3= 0,9989$; $r_4= 0,9396$.

Nº de pontos	Massa(g)	Branco Q (C)	ETU Q (C)	Rend. (%)
1	$5,0 \times 10^{-4}$	$1,250 \times 10^{-1}$	$1,286 \times 10^{-1}$	0,76
2	$7,5 \times 10^{-4}$	$1,278 \times 10^{-1}$	$1,463 \times 10^{-1}$	2,61
3	$1,5 \times 10^{-3}$	$4,044 \times 10^{-1}$	$4,588 \times 10^{-1}$	3,83
4	$2,0 \times 10^{-3}$	$1,723 \times 10^{-1}$	$3,280 \times 10^{-1}$	8,24

Os ensaios coulométricos utilizando como eletrodo de trabalho uma placa CVR com eletrodeposição de Hg sobre sua superfície, não favoreceram a detecção das tiotriazinas em estudo e de ETU no meio salino. Quando o eletrodo entra em contato com o concentrado salino sua superfície rapidamente começa a escurecer impossibilitando a determinação das espécies.

Este fenômeno foi também observado por Méndez et al. [153], que estudaram o comportamento eletroquímico da tiotriazina Menazon em meio ácido (pH= 4,8). O estudo coulométrico utilizou um eletrodo de Hg como eletrodo de trabalho aplicando um potencial em -1,10 V, onde os produtos de redução foram detectados. Os autores observaram também a formação de um filme escuro sobre a superfície de Hg, possivelmente devido à presença de substâncias eletroativas na solução que reagiram com o Hg, tornando as análises coulométricas pouco reprodutíveis com relação ao número de elétrons envolvidos.

Considerando que a coulometria é uma técnica que utiliza eletrodos com grandes áreas superficiais onde a amostra é eletrolisada 100% e onde são necessários longos tempos de eletrólise para a quantificação, investigamos tempos mais curtos com rendimentos inferiores a 100%. Observou-se como principal desvantagem a determinação das espécies somente em concentrações mais altas (mg L^{-1}). Como alternativa a esse problema utilizou-se a pré-concentração das espécies em colunas condicionadas com adsorventes adequados.

Comparativamente, não considerando o processo de pré-concentração, a amperometria que analisa cerca de 0,5% da amostra apresentou uma

sensibilidade muito mais alta do que a coulometria cujo sinal provém de uma quantidade muito maior de amostra. Esta aparente contradição está relacionada a influência da linha de base no sinal analítico, principalmente considerando soluções com baixas forças iônicas. No caso dos meios salinos a amperometria não se mostrou adequada conforme já descrito no item 4.3.1.

4.4.5 Determinação on line de tiotriazinas

As tiotriazinas são determinadas por Coulometria de potencial constante no sistema on-line ao aplicar um potencial em $-0,95$ V para as determinações em meio ácido e em $-0,85$ V para as determinações em meio alcalino, onde os herbicidas são reduzidos na superfície de mercúrio do eletrodo de trabalho.

Os fatos observados na literatura também foram vistos aqui, os analitos que foram determinados no sistema off line também foram determinados no sistema on line mudando apenas o potencial. Isto pode estar relacionado ao processo de oxidação dos analitos no eletrodo.

Antes dos ensaios coulométricos, o eletrodo de trabalho deve ser previamente preparado, para isso, a eletrodeposição on line foi realizada aplicando um potencial em $-0,90$ V ao fluir pela célula coulométrica uma solução de HgCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ que pode ser reaproveitada para novas eletrodeposições. Após a eletrodeposição on line foi feita a remoção de uma eventual camada de substâncias escuras que se formam na superfície do eletrodo de trabalho. Esta limpeza utilizou um fluxo de 5 mL min^{-1} de uma solução de HNO_3 50% e em seguida o sistema era lavado com água ultra pura Milli Q.

A determinação coulométrica on-line de ametrina em meio ácido foi feita utilizando uma solução tampão Britton Robinson ou HClO_4 com $\text{pH} = 2,5$ aplicando um potencial constante em $-0,95$ V. As curvas analíticas foram construídas a partir de uma massa mínima de $25 \mu\text{g}$. Considerando que apenas 30% desta massa foi eletrolisada, as curvas foram construídas partindo de uma massa mínima de $8,3 \mu\text{g}$, com adições crescentes desta mesma quantidade para os cinco pontos da

curva analítica. Neste sistema foi utilizado um tempo de eletrólise de 3 minutos e um fluxo de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ onde o analito foi determinado obtendo correlação linear de $r=0,73$; $r=0,77$; $r= 0,80$ para os cinco pontos da curva analítica. A correlação linear entre os pontos da curva ficou prejudicada em razão das diferenças nos rendimentos de eletrólise entre os ensaios eletroquímicos e também pela influência do sistema on line. Em função disso, se compararmos com o sistema off line, utilizando as mesmas condições experimentais onde as diferenças nos rendimentos das eletrólises são menores e conseqüentemente os coeficientes de correlação indica um comportamento mais linear. As curvas analíticas no sistema off line foram construídas partindo de uma massa mínima de $250 \mu\text{g}$, ou seja, uma massa 10 vezes maior do que no sistema on line, apesar disso, percebe-se que no sistema off line o comportamento do herbicida frente ao eletrodo de mercúrio é mais estável.

A determinação coulométrica on line de ametrina em $E_{\text{pico}} = -0,85 \text{ V}$ em meio alcalino utilizou como eletrólito suporte uma solução de $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ ($\text{pH} = 9,0$) e foi realizada após a eletrodeposição de Hg sobre o fio de cobre, desta maneira, foi possível construir uma curva analítica utilizando no primeiro ponto uma massa mínima detectável de $25 \mu\text{g}$ do herbicida. A tabela 26 relaciona o comportamento on line da ametrina em meio alcalino que mostrou ser bastante semelhante ao sistema off line. Porém, observa-se que as determinações da tiotriazina em meio alcalino necessitam de 360 s para obter rendimentos com eletrólises totais de 97,49% do analito, enquanto que no sistema off line rendimentos de 98,01% podem ser alcançados com 300 s de eletrólise. A correlação linear entre os pontos da curva analítica ficou prejudicada tanto no sistema on line quanto no sistema off line devido a variação nos rendimentos de eletrólise entre os ensaios coulométricos.

Tabela 26: Determinação on line de ametrina em meio alcalino, utilizando um fio de cobre com Hg eletrodepositado como eletrodo de trabalho. Massa de ametrina: 50 µg.

Tempo de eletrólise (s)	Rendimento na eletrólise (%)
600	84,82
360	97,49
300	73,51
240	56,16
120	29,21

Na revisão de Rucki [154] são citados os principais detectores eletroquímicos para sistemas em fluxo que se destacam por sua sensibilidade e pelos baixos custos, em função disso, eletrodos sólidos de carbono, platina, ouro e filme de mercúrio foram indicados como importantes por terem características de baixo custo e sensibilidade.

Tal como no trabalho de Rucki o maior problema com eletrodos sólidos com filmes de mercúrio é a não reprodutibilidade da superfície do eletrodo causada pela adsorção das substâncias e pela formação de óxidos superficiais, que devem ser removidos através de um procedimento de renovação superficial do eletrodo de trabalho. De acordo com a revisão, os detectores coulométricos requerem grandes áreas superficiais de eletrodos, exigindo uma célula adequada para que o sistema, apesar das dificuldades do fluxo, aproxime-se o máximo possível de 100% de eletrólise das espécies eletroativas presentes em solução.

4.5 Pré-concentração de Tiotriazinas e ETU em fase sólida

A pré-concentração de tiotriazinas e ETU em pré-colunas foi uma alternativa para melhorar a sensibilidade dos métodos de análise. Tanto os métodos utilizados neste trabalho (eletroquímicos) quanto outras metodologias encontradas na literatura não apresentam em muitos casos sensibilidade adequada. Para isso, foram investigadas três fases estacionárias comercialmente disponíveis e amplamente utilizadas e três tipos de colunas empacotadas produzidas neste trabalho com fases estacionárias de Teflon (PTFE), Polietileno (PE) e Poliestireno (PS). As fases estacionárias comerciais utilizadas foram C 18, SAX (Strong Anion Exchanger) e Cyano. Estas fases foram escolhidas em função de suas estruturas e polaridades [155]. A fase C 18 caracteriza-se por ser apolar e por ser composta por grupos alquílicos com uma cadeia de 18 carbonos que adsorvem substâncias pouco polares como os analitos em estudo. A SAX é utilizada na determinação de compostos iônicos e devido a sua estrutura pode ser considerada aniônica. A utilização da coluna SAX com grupo funcional com sais de quaternário de amônio caracteriza a coluna como aniônica e é normalmente utilizada na determinação de ânions. A Cyano é considerada catiônica e também pode ser empregada na determinação de espécies levemente polares devido ao seu grupo funcional que está quimicamente ligado à sílica. Estas três fases correspondem a uma ampla faixa de polaridade e foram escolhidas porque os analitos embora não sejam substâncias polares, as determinações neste trabalho foram feitas em meios com uma ampla variação de forças iônicas. Juntamente com as fases comerciais, as fases com polímeros não modificados anteriormente indicadas foram utilizadas como suporte para a pré-concentração de tiotriazinas e ETU a partir de soluções com diferentes forças iônicas ($0 < \mu \leq 4,2$). O PTFE é um polímero com propriedades apolares e o seu monômero é composto por 4 átomos de flúor sendo que cada átomo tem 3 pares de elétrons disponíveis para interagir com o analito fazendo com que o PTFE tenha também propriedades polares, enquanto o PE também considerado apolar e interage com as espécies apenas com a dupla ligação. O PS é considerado um substrato com características apolares e é

formado a partir da copolimerização do estireno com o divinilbenzeno. Em função da sua estrutura as espécies são mais ou menos fracamente adsorvidas pelo polímero [156].

A polaridade da fase estacionária e a polaridade do meio são fatores importantes no processo de adsorção dos analitos em substratos sólidos. As polaridades das fases estacionárias são de difícil quantificação enquanto que as polaridades dos meios podem ser relacionadas a grandezas conhecidas como a força iônica e as constantes dielétricas (ϵ) dos solventes. Desta forma, investigou-se neste trabalho a solubilidade das tiotriazinas em dois grupos de solventes. No grupo 1 foram investigados os solventes de baixa polaridade como hexano ($\epsilon= 1,89$), tetraclorometano ($\epsilon= 2,24$), benzeno ($\epsilon= 2,28$), clorofórmio ($\epsilon= 4,81$), acetato de etila ($\epsilon= 6,02$), tetrahidrofurano ($\epsilon= 7,58$) e diclorometano ($\epsilon= 8,93$). No grupo 2, os solventes mais polares como n-pentanol ($\epsilon= 13,90$), n-butanol ($\epsilon= 17,80$), acetona ($\epsilon= 20,56$), etanol ($\epsilon= 24,55$), metanol ($\epsilon= 32,66$), acetonitrila ($\epsilon= 35,90$) e água ($\epsilon= 78,30$). A solubilidade das tiotriazinas foi maior nos solventes do grupo 2 do que no grupo 1, de modo que a solubilidade seguiu aproximadamente a polaridade dos solventes até a ACN, onde foi observada a maior solubilidade. Substituindo os solventes orgânicos por água observou-se um forte decréscimo na solubilidade da espécie, sugerindo que a polaridade do solvente condiciona a solubilidade do analito até um certo limite. Relativamente às fases estacionárias, pode-se inferir que o processo de adsorção depende da polaridade das fases e da força iônica ou das constantes dielétricas dos solventes. Contudo, a forma mais simples de avaliar a eficiência das fases estacionárias num dado meio ainda é empírica em função da falta de dados científicos para este fim. Considerando que o foco deste trabalho trata da determinação de baixas concentrações de algumas espécies orgânicas em matrizes salinas, o processo de extração em fase sólida foi investigado em meios com baixa força iônica (água + analito) e meios com alta força iônica tendo como limite a força iônica presente nos concentrados salinos utilizados em hemodiálise.

4.5.1 Avaliação das fases estacionárias

Como características desejáveis para uma fase estacionária utilizada para pré-concentração pode-se indicar parâmetros como a capacidade de adsorção, facilidade de eluição, reuso, custo, fator de pré-concentração alcançado e seletividade. Para avaliação destes fatores utilizou-se no presente trabalho a medida espectrofotométrica para a obtenção dos sinais. Esta escolha está relacionada à simplicidade da medida e ao fato dos analitos apresentarem bandas de absorção na região de comprimentos de onda de 220 a 290 nm. Comparando os espectros das soluções antes da pré-concentração (solução original) e após a eluição (solução pré-concentrada), observou-se para todas as fases estacionárias utilizadas deslocamentos significativos nos comprimentos de onda de máxima absorção. Contudo, este efeito não interferiu no processo de avaliação das colunas. A etapa de pré-concentração pode também ser associada com as técnicas eletroquímicas de detecção investigadas neste trabalho levando em conta sempre a influência dos eluentes na medida realizada.

Capacidade de adsorção- considerando a natureza dos analitos (espécies orgânicas de baixa polaridade) observou-se para todas as fases estacionárias um comportamento relativamente uniforme, ou seja, todas as fases adsorveram os analitos em alguma extensão a partir de meios com baixa polaridade até meios muito polares. Conforme o esperado, a adsorção foi mais intensa para os analitos presentes em soluções salinas do que para os analitos misturados a água pura. Este comportamento explica-se pelo efeito salting out presente nas soluções que afetou também a difusão dos analitos através de membranas conforme será tratado adiante.

Eluição- no processo de eluição do analito quando o principal objetivo é a pré-concentração para melhorar a sensibilidade, deve-se investigar eluentes que retirem da coluna a totalidade do analito de forma rápida no menor volume possível, uma vez que o fator de pré-concentração alcançado é a razão entre o volume da solução original e o volume eluído. Neste sentido, diversos solventes de baixa polaridade foram investigados como eluentes. Solventes como

clorofórmio, ciclohexano, tetrahidrofurano, toluol e xilol embora sejam de baixa polaridade não se mostraram adequados a presente investigação porque suas absorvidades molares são elevadas na região entre 220 e 290 nm utilizada nas determinações das tiotriazinas e ETU. Esses solventes poderiam ser investigados por outras técnicas considerando em cada caso os valores de linha base. Metanol e etanol embora mostrem alguma absorção na região do sinal dos analitos, permitem a determinação espectrofotométrica das espécies. Contudo, suas capacidades de eluição não se mostraram adequadas, porque a eluição dos analitos não foi total para todas as colunas testadas. O solvente mais adequado em todos os casos foi a ACN porque além de eluir de forma rápida e completa os analitos apresentam absorvidades molares elevadas somente para comprimentos de onda abaixo de 195 nm e, portanto fora da faixa utilizada para as tiotriazinas e ETU. Adicionalmente, ACN pode também ser utilizada como meio na determinação de tiotriazinas por Voltametria Adsorviva, conforme trabalho anteriormente publicado [78].

Reuso- para investigar o reuso das colunas adotou-se como critério a intensidade do analito após sucessivas eluições. A partir de uma diminuição de 20% do sinal considerou-se a coluna inadequada para novas utilizações. A performance das colunas vão se modificando a partir da interação prolongada do eluente que é variável entre os diferentes tipos de colunas e a partir da adsorção irreversível dos analitos nos substratos, o que também acarreta em redução do sinal analítico.

Custos- existe uma diferença de custo significativo entre as colunas adquiridas comercialmente e aquelas manufaturadas no laboratório a partir dos polímeros utilizados. A coluna manufaturada tem um custo de 10 a 20 vezes inferior ao custo das colunas comerciais.

Fator de pré-concentração- o fator de pré-concentração para tiotriazinas e ETU foi avaliado com ACN como eluente. Três mililitros de ACN foram suficientes para extrair totalmente os analitos de todas as fases testadas e ainda obter um volume adequado para as medidas espectrofotométricas em cubetas convencionais (caminho óptico 1 cm). A eluição dos analitos foi avaliada comparando os espectros obtidos para uma mesma massa de analito antes e depois da etapa de

pré-concentração das espécies. Em todos esses ensaios, soluções contendo uma massa fixa de analito em volumes de 25, 50, 75 e 100 mL foram investigadas em relação a extração dos analitos nas fases sólidas. Em todos os casos um volume de 3 mL de ACN foi utilizado para eluição. Somente com as colunas preenchidas com PS fatores de pré-concentração maiores do que 30 foram obtidos. Com as demais colunas fatores menores do que 10 foram obtidos. Considerando todos os parâmetros citados anteriormente o PS foi o substrato mais adequado à determinação de tiotriazinas e ETU.

4.5.2 Rendimento na extração de tiotriazinas e ETU com diferentes substratos sólidos

O rendimento na extração de tiotriazinas e ETU a partir dos diferentes extratos sólidos investigados neste trabalho foi definido através da diferença entre os espectros das soluções com os analitos utilizadas antes e depois da passagem pelo polímero. Sendo assim, para definir o rendimento nas extrações, empregou-se volumes com 25 mL de maneira a formar soluções com concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos que foram passadas pela coluna e o sinal espectrofotométrico foi monitorado antes e depois da passagem pelo substrato. Esta diferença espectral corresponde ao rendimento (%) obtido nas extrações sem a utilização de eluente. Neste meio aquoso, as tiotriazinas e ETU foram determinadas em $\lambda = 225$ e 230 nm, respectivamente, onde a forma dos espectros não foi alterada independentemente da força iônica do meio.

4.5.3 Determinação de ETU e tiotriazinas em soluções salinas após pré-concentração em colunas de PS

A tabela 27 apresenta as FE estudadas, comparando os rendimentos obtidos nas pré-concentrações que foram feitas com a passagem de 25 mL das soluções com diferentes forças iônicas contaminadas com os analitos com concentração

conhecida e eluídos com 3 mL de ACN para posterior detecção espectrofotométrica. Os melhores rendimentos foram obtidos pelo sistema de pré-concentração utilizando FE compostas por C 18, PTFE e PS, conforme a tabela. As colunas com substrato C 18 e PTFE apresentaram bons rendimentos na pré-concentração (> 70%), porém, o PS apresentou o melhor rendimento (próximo a 100%). Além disso, entre os substratos avaliados o PS permitiu o maior número de análises, onde somente ao término de 50 procedimentos o polímero não adsorvia mais os analitos com a mesma intensidade, devido provavelmente ao longo tempo de contato com o eluente (ACN) utilizado. Por este motivo, entre os polímeros estudados, o PS foi escolhido como a melhor FE para o sistema, sendo que, foi capaz de reter os analitos a partir de concentrações da ordem de $1\mu\text{g L}^{-1}$. A força iônica não foi o fator determinante no processo de adsorção. Como se observa, (tabela 27) para forças iônicas variando amplamente rendimentos semelhantes foram obtidos para cada coluna. Com relação aos substratos SAX e Cyano, devido à polaridade destes e a baixa polaridade dos analitos, os menores rendimentos foram observados inclusive a partir dos meios com as forças iônicas mais altas.

Tabela 27: Rendimentos (%) obtidos através da pré-concentração de tiotriazinas nas fases estacionárias estudadas com diferentes forças iônicas. Concentração da solução original: $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Volume de amostra: 25 mL. Fator de pré-concentração: 8,33.

Fase Estacionária	Extração Rendimentos (%)			
	$\mu= 0,01$	$\mu= 0,64$	$\mu= 2,10$	$\mu= 4,20$
C 18	79,0	79,5	79,7	80,0
PE	59,5	60,0	61,0	61,0
PS	94,0	95,0	96,0	96,0
PTFE	71,9	72,3	72,8	73,0
SAX	17,0	17,8	17,8	18,0
Cyano	55,9	56,7	56,9	57,0

Antes de cada pré-concentração as colunas foram submetidas a um processo de condicionamento que consistia em lavar o polímero com o auxílio de uma bomba peristáltica forçando a passagem de 30 mL de água ultra pura, sob um fluxo de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$. Em seguida, a FE era lavada com 13 mL de ACN, sob um fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ e por fim utilizando um fluxo de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ foram passados mais 30 mL de água, concluindo assim o condicionamento dos sistemas de pré-concentração.

Plasencia e colaboradores [126] relatam a pré-concentração de tiotriazinas em colunas de PS. Neste trabalho os pesquisadores utilizaram este substrato para pré-concentrar espécies orgânicas presentes em amostras aquosas para subsequente quantificação. No presente trabalho foi possível pré-concentrar soluções com até $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de ametrina, enquanto que o trabalho proposto por Plasencia et al pré-concentrou soluções do herbicida a partir de $16 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando o mesmo polímero para a pré concentração.

4.5.4 PS como substrato para pré-concentração de ametrina e ETU

Considerando que o PS apresentou melhores resultados no processo de extração dos analitos a partir dos meios com as diferentes polaridades investigadas, avaliou-se a influência do fluxo no sistema de pré-concentração. Fluxos entre 3,0 e 0,8 mL min⁻¹ foram utilizados nos processos de pré-concentração e eluição. A forma mais conveniente para a avaliação deste fator foi a análise do espectro da solução antes e após a passagem pela coluna. Optou-se por uma avaliação do espectro no lugar de um único comprimento de onda para que eventuais deslocamentos de bandas pudessem ser observados. Para fluxos de 3,0 a 1,2 mL min⁻¹ os espectros obtidos para solução antes e após a passagem pela coluna não mostraram variações significativas de modo que uma baixa eficiência na adsorção ocorreu nestas condições. Estes resultados foram similares para ametrina e ETU a partir de meios com forças iônicas variando entre 0,01 e 4,20. Para fluxos de 1,0 ou 0,8 mL min⁻¹, a adsorção dos analitos foi total de modo que os espectros das soluções que passaram pela coluna não mostraram qualquer sinal característico das espécies investigadas. A figura 23 apresenta os espectros de soluções 30 µg L⁻¹ de ametrina após a passagem por colunas de PS com fluxos de 3,0; 1,8; 1,2 e 1,0 mL min⁻¹ (curvas A - D, respectivamente). Para ETU comportamento semelhante foi observado. Comparando os espectros mostrados na figura 23 com os espectros das soluções originais (sem a passagem pela coluna de PS) pode-se calcular rendimentos de retenção na coluna inferiores a 5% para os fluxos de 3,0 e 1,8 mL min⁻¹. Para o fluxo de 1,2 mL min⁻¹ a diferença entre os espectros indica rendimentos melhores, porém somente para fluxos de 1 mL min⁻¹ observou-se a supressão completa dos espectros dos analitos após a passagem pela coluna de PS.

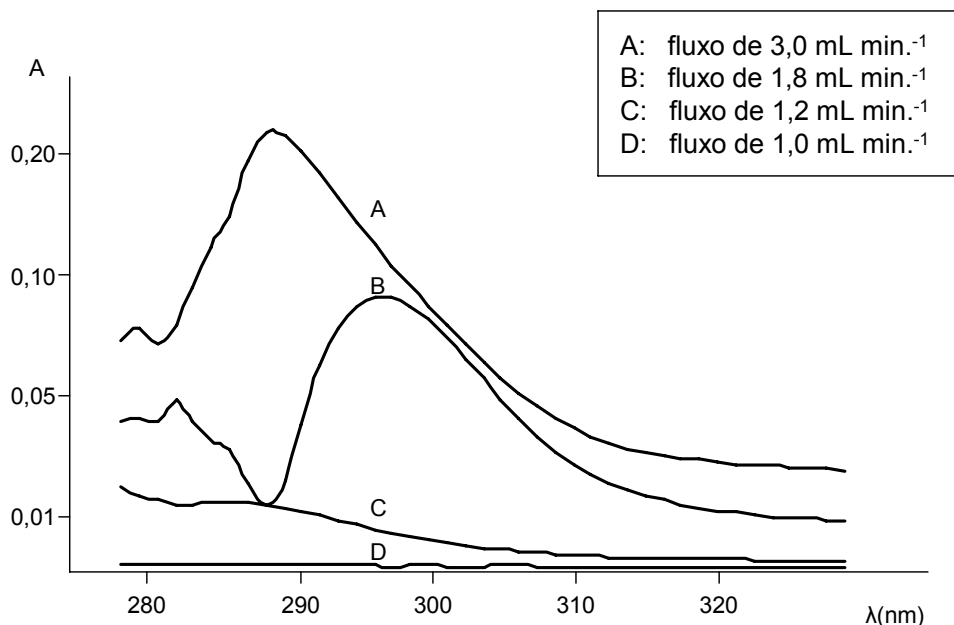


Figura 23: Espectros obtidos com diferentes fluxos investigados para extração de ametryn. Concentração: 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. Volume: 25 mL.

Considerando que a aplicação mais importante da determinação das tiotriazinas ou ETU relaciona-se a quantificação em meios de alta força iônica e dentre estes os mais relevantes são os concentrados salinos para hemodiálise, aplicou-se a metodologia a quantificação destas espécies em soluções artificiais de concentrados salinos. Desta forma, soluções com a força iônica máxima ($\mu=4,20$) foram contaminadas com quantidades variáveis de ETU ou ametryn e a seguir estas espécies foram quantificadas por espectrofotometria após pré-concentração nas colunas de PS. Para estes ensaios soluções salinas de volumes crescentes (25 a 100 mL) foram adicionadas de 0,1 ou 1 μg de ametryn ou ETU formando soluções com concentrações entre 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 40 $\mu\text{g L}^{-1}$. Estas soluções passaram pela coluna de PS e a seguir os analitos (separadamente) foram eluídos com 3 mL de ACN. A figura 24 mostra os espectros obtidos para a solução de 100 mL adicionada de 0,1 μg de ametryn formando uma solução de 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. A curva A mostra o espectro da solução antes do processo de pré-concentração e a curva B após a eluição. Neste caso, um fator de pré-concentração de 33,3 vezes pode

ser calculado e os valores de absorvância estão de acordo com o fator indicado. Para ETU comportamento semelhante foi observado.

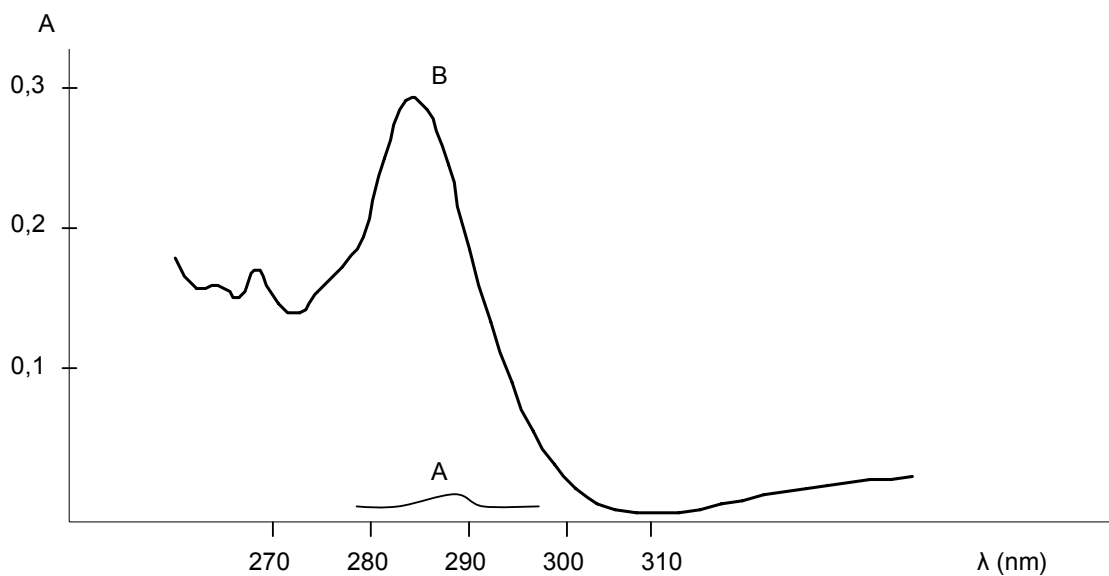


Figura 24: Espectros de ametrina em solução salina com fator de pré-concentração de 33 vezes. Curva A: espectro sem a pré-concentração. Curva B: espectro após a pré-concentração. Concentração da amostra A: $1 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.5.5 Curvas Analíticas para tiotriazinas e ETU

4.5.5.1 Tiotriazinas em meio aquoso ($\mu= 0,01$) sem pré-concentração

As curvas analíticas para as tiotriazinas em meio aquoso (sem a adição dos sais, $\mu= 0,01$) foram construídas no comprimento de onda de absorvância máxima ($\lambda= 225$ nm). A figura 25 registra cinco espectros referentes às soluções de 5, 10, 20, 30 e 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ametrina. A sensibilidade do método espectrofotométrico permite a obtenção de curvas analíticas com bons coeficientes de correlação linear ($r > 0,99$) para concentrações de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Considerando as curvas apresentadas na figura 25 a curva analítica (inserção) ilustra a boa linearidade obtida.

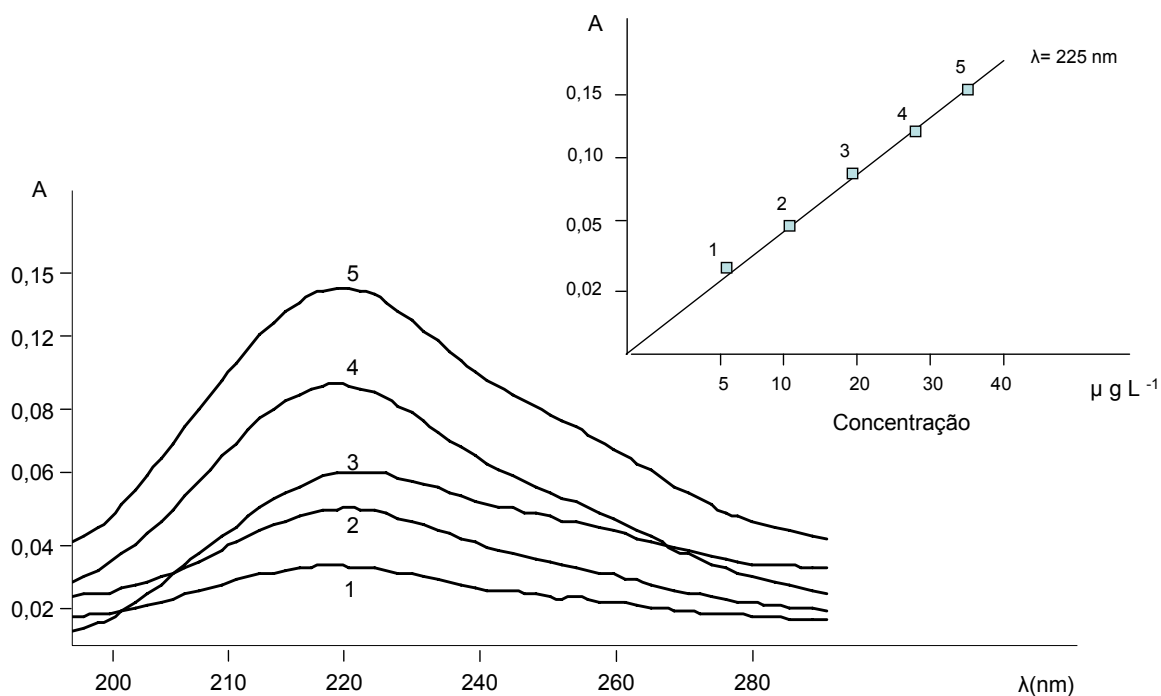


Figura 25: Espectros da curva analítica de ametrina em meio aquoso com padrões de 5, 10, 20, 30, 40 $\mu\text{g L}^{-1}$. (Curva de 1 a 5, respectivamente).

4.5.5.2 ETU em meio aquoso ($\mu= 0,01$) sem pré-concentração

A determinação espectrofotométrica proposta neste sistema para ETU em meio aquoso ($\mu= 0,01$) permitiu construir curvas analíticas em uma faixa de concentração de 5 a 80 $\mu\text{g L}^{-1}$. Em concentrações iguais a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ o espectro da ETU tem uma forma de banda que se estende de 210 nm a 230 nm (curva A da figura 26), enquanto que, em concentrações maiores, a partir de 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ (curva B) observa-se que o sinal espectrofotométrico da ETU passa a ter uma forma espectral mais bem definida com absorvância máxima em $\lambda= 230$ nm.

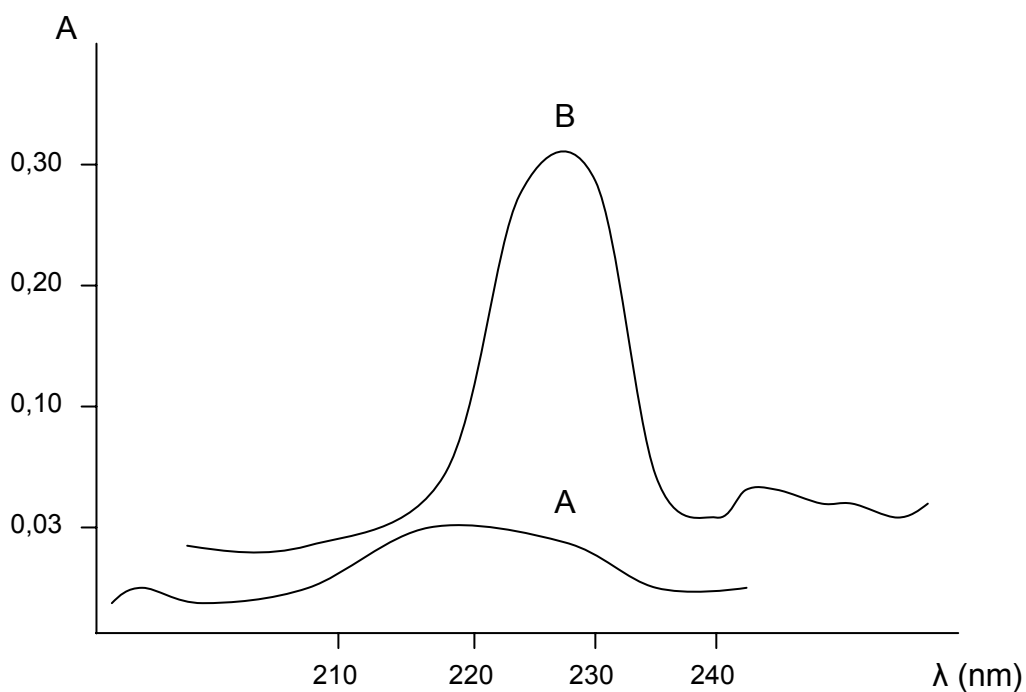


Figura 26: Espectro de ETU em meio aquoso ($\mu= 0,01$). Curva A: 5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Curva B: 40 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A curva analítica para a espécie foi construída com concentrações de 5, 10, 20, 40 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ em meio aquoso em um comprimento de onda máximo de 230 nm, onde a ETU apresentou maior absorvância. Desta forma, foi possível obter coeficientes de correlação linear para os cinco pontos da curva de 0,9708.

4.5.5.3 Tiotriazinas e ETU em meio salino ($0,01 < \mu < 4,20$) sem pré-concentração

As curvas analíticas para as tiotriazinas em meio salino foram feitas com forças iônicas variando de 0,01 a 4,20. Nenhuma diferença importante foi observada nos sinais de absorvância em relação às diferentes forças iônicas das soluções. Além disso, foi possível construir as curvas partindo de soluções com concentrações de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de ametrina. Na presença de forças iônicas maiores do que 0,01 (meios salinos testados), concentrações menores do que em água pura ($\mu = 0,01$) puderam ser determinadas por espectrofotometria. Em relação aos valores de λ_{max} (225 nm para ametrina e 230 nm para ETU) não foram observadas variações em função da força iônica do meio. A figura 27 mostra os espectros de ametrina em meio a uma solução salina com $\mu = 4,20$ onde as curvas 1 a 5 representam os padrões da tiotriazina com concentrações na faixa de 100 a $500 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Neste meio a faixa linear para a determinação de ametrina varia de 1 a $500 \mu\text{g L}^{-1}$.

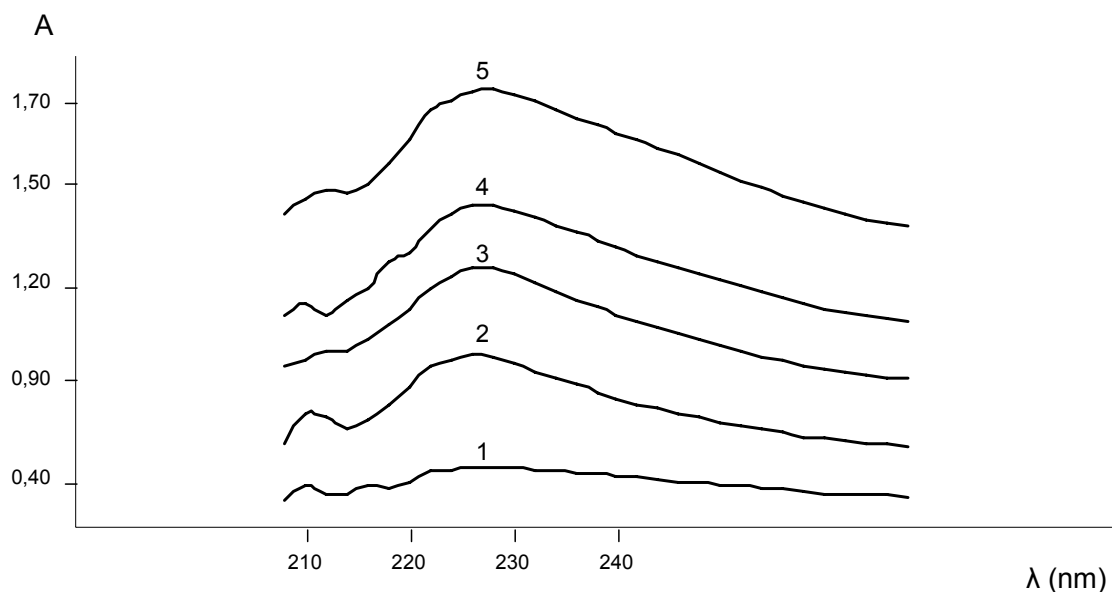


Figura 27: Espectros de ametrina em meio salino ($\mu = 4,20$) utilizando padrões de 100, 200, 300, 400, $500 \mu\text{g L}^{-1}$. (Curva 1 a 5, respectivamente). $\lambda = 225 \text{ nm}$. $r_5 = 0,9970$.

A construção das curvas analíticas para ETU no meio salino também foi feita utilizando diferentes forças iônicas e tal como para as tiotriazinas não se observou mudança no comportamento das espécies em relação ao meio salino. O espectro da ETU apresentou absorvidade molar máxima em $\lambda = 230$ nm. A figura 28 apresenta cinco espectros de ETU no meio salino com $\mu = 4,20$, utilizando concentrações de 50, 100, 200, 300 e 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os espectros de 1 a 5, respectivamente. Para a faixa de concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ a calibração mostrou ser linear onde coeficientes de correlação linear para cinco pontos da curva de $r_5 = 0,9932$ foram obtidos. Para concentrações mais baixas na faixa de 5 a 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ a calibração ainda mostrou-se linear, obtendo-se, no entanto, um coeficiente de correlação de 0,9619.

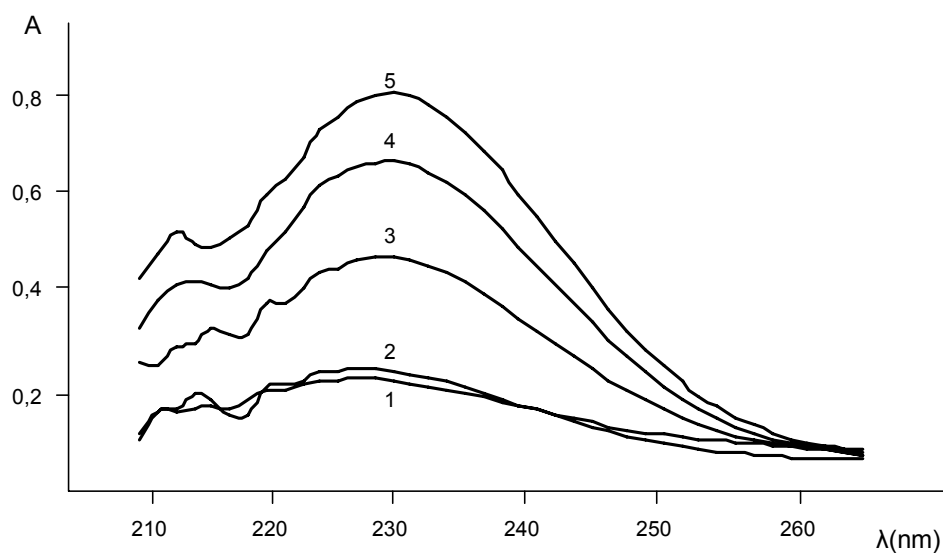


Figura 28: Espectros de ETU no meio salino ($\mu = 4,20$) com concentrações de 50, 100, 200, 300 e 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os pontos de 1 a 5, respectivamente. $\lambda = 230$ nm. $r_5 = 0,9932$.

4.5.5.4 Tiotriazinas e ETU em meios com $0,01 \leq \mu < 4,20$, após pré-concentração em colunas de PS

A pré-concentração de tiotriazinas e ETU em colunas de PS foi realizada após condicionamento prévio do polímero (conforme descrito anteriormente). A construção das curvas analíticas para as tiotriazinas utilizaram amostras com 25 mL das soluções salinas (com diferentes forças iônicas) contaminadas com ametrina de maneira a formar soluções com 1, 3, 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ deste analito. Estas soluções foram passadas pela coluna de PS e o analito retido no polímero foi eluído com 3 mL de ACN para subsequente determinação por Espectrofotometria Molecular UV/Vis. Nestas condições, o fator de pré-concentração foi de 8,33. A tabela 28 apresenta os coeficientes de correlação linear para 3 e 4 pontos para curvas analíticas com 3 ou 4 pontos após o procedimento de pré-concentração.

Tabela 28: Pré-concentração de ametrina em colunas de PS utilizando meio salino com $\mu= 4,20$. $\lambda_{\text{detecção}}= 290$ nm. Fator de pré-concentração: 8,33. Volume de amostra: 25 mL.

Antes da pré-concentração	Após a pré-concentração
1 $\mu\text{g L}^{-1}$	8,3 $\mu\text{g L}^{-1}$
3 $\mu\text{g L}^{-1}$	24,9 $\mu\text{g L}^{-1}$
5 $\mu\text{g L}^{-1}$	41,5 $\mu\text{g L}^{-1}$
7 $\mu\text{g L}^{-1}$	58,1 $\mu\text{g L}^{-1}$

Comparando as medidas em meio aquoso ($\mu= 0,01$) figura 25 e meio salino ($\mu= 4,20$) figura 27, observa-se no segundo um comportamento Gaussiano mais típico. A força iônica do meio salino favorece a adsorção dos analitos na coluna de PS. O espectro dos analitos gerado após a pré-concentração sofre um deslocamento de 225 nm para 290 nm. A figura 29 apresenta os espectros utilizados na construção da curva analítica para ametrina em soluções salinas com força iônica 4,20 após pré-concentração em colunas de PS. Para concentrações iniciais de 1, 3, e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (curvas A a C) após a pré-concentração a solução do

eluído passa a ter as concentrações de 8,3; 24,9 e 41,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ que podem ser observadas nos espectros de A a C da figura 29. O coeficiente de correlação linear para os três pontos da curva foi 0,9922.

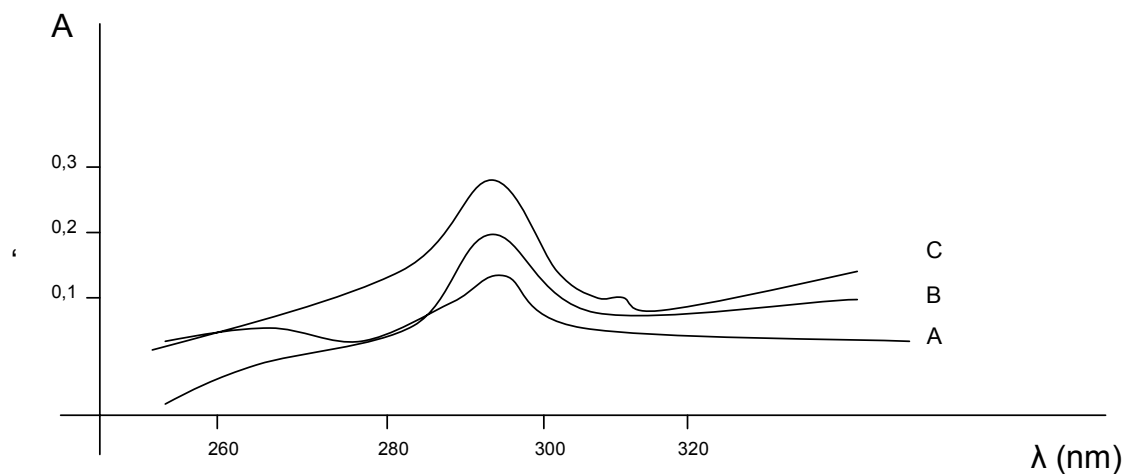


Figura 29: Espectros de ametrina no meio salino, pré-concentrada em coluna de PS. Concentrações de 8,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, 24,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 41,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para as curvas A, B e C, respectivamente. $\lambda_{\text{detecção}} = 290 \text{ nm}$. $r_5 = 0,9922$.

Os mesmos ensaios espectrofotométricos foram realizados para ETU, que mostrou um comportamento semelhante ao da ametrina conforme a tabela 29.

Tabela 29: Pré-concentração de ETU em colunas de PS utilizando meio salino com $\mu = 4,20$. $\lambda_{\text{detecção}} = 295 \text{ nm}$. Fator de pré-concentração: 8,33. Volume de amostra: 25 mL

Antes da pré-concentração	Após a pré-concentração
1 $\mu\text{g L}^{-1}$	8.3 $\mu\text{g L}^{-1}$
3 $\mu\text{g L}^{-1}$	24.9 $\mu\text{g L}^{-1}$
5 $\mu\text{g L}^{-1}$	41.5 $\mu\text{g L}^{-1}$

A curva analítica para ETU apresentou boa correlação linear (0,9661) para três pontos, na mesma faixa de concentração utilizada para ametrina. Os

espectros foram obtidos após a pré-concentração e podem ser observados na figura 30. Da mesma forma que para a ametrina com a ETU observou-se também um deslocamento do comprimento de onda máximo de 230 nm para 295 nm. Se compararmos os espectros de ETU com a ametrina nas mesmas condições de pré-concentração do sistema percebe-se valores de absorvância levemente superiores para ETU, porém a ametrina mostra espectros mais bem definidos em concentrações baixas. Observou-se também que mesmo existindo uma diferença no $\lambda_{\text{máx}}$ da ametrina em relação à ETU, não foi investigada a especiação.

Para o cálculo LD adotou-se o mesmo procedimento utilizado para ametrina e o valor obtido foi de $0,113 \mu\text{g L}^{-1}$.

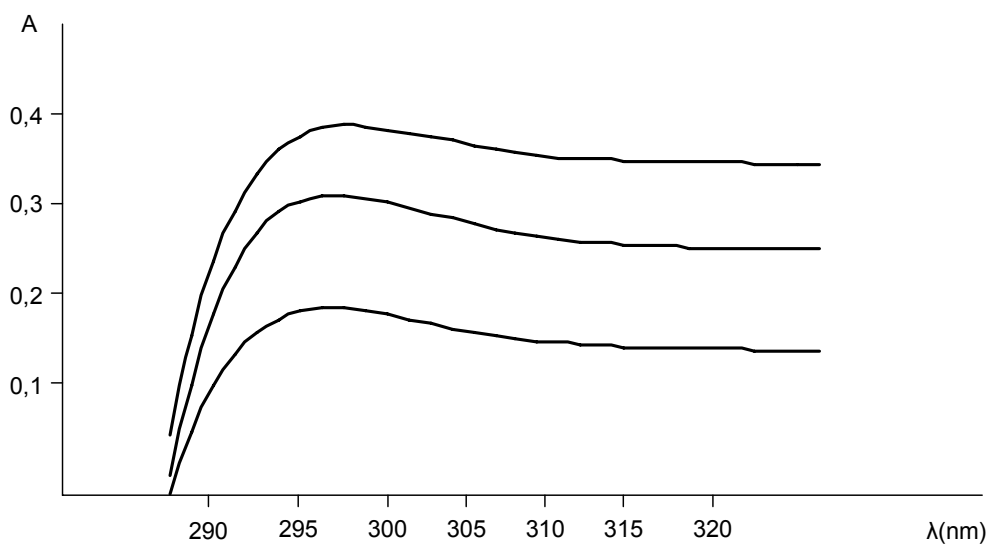


Figura 30: Espectros de ETU no meio salino, pré-concentrado em coluna de PS, utilizando padrões de $8,3 \mu\text{g L}^{-1}$, $24,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $41,5 \mu\text{g L}^{-1}$. $\lambda_{\text{detecção}} = 295 \text{ nm}$.

Neste trabalho investigou-se a determinação de ETU e ametrina em soluções salinas com força iônica igual ao concentrado salino para hemodiálise ($\mu = 4,20$) e forças iônicas menores. Dentre as forças iônicas investigadas utilizou-se $\mu = 0,68$ que corresponde à força iônica da água do mar e a metade e a quarta parte desse valor. Nestes ensaios observou-se que o comportamento dos analitos frente ao

processo de pré-concentração e a determinação espectrofotométrica não apresentou variações significativas.

A revisão de Biziuk e colaboradores [21] sobre a determinação de herbicidas em amostras aquosas e salinas (água do mar) salientam a eficiência da Espectrofotometria UV/Vis na detecção de herbicidas incluindo as tiotriazinas, devido ao fato destas substâncias fazerem parte de um dos maiores grupos de poluentes aquáticos e serem solúveis em água. Os pesquisadores de acordo com o presente trabalho, fazem uso de colunas de PS devido a sua capacidade de pré-concentração para determinação das espécies, já que estes analitos são encontrados em amostras aquosas normalmente em baixas concentrações.

Martínez et al [124] desenvolveram um método para determinação de herbicidas em amostras aquosas utilizando a extração fase sólida com vários polímeros para comparar a eficiência na pré-concentração e a extração dos analitos, para isso, os autores selecionaram resinas com Sílica, C 18 e PS. A pré-concentração e determinação das espécies com PS proposta pelos pesquisadores, tal como no presente trabalho, mostrou-se adequada para os analitos investigados. A revisão de Balinova [157], também estudou o comportamento de polímeros na pré-concentração em fluxo de tiotriazinas em amostras aquosas. Antes do procedimento de pré-concentração das espécies, os polímeros investigados foram previamente condicionados com a fase móvel mais adequada para cada substrato utilizando as condições ideais de fluxo para o sistema. Balinova apresenta o PS como uma alternativa as colunas C18 para a adsorção de compostos pouco polares como os analitos em estudo no presente trabalho. Nos ensaios comparativos de pré-concentração utilizando colunas C18 e PS, Balinova encontrou valores de LD baixos para os substratos, porém, segundo a autora o PS também oferece a vantagem de ser mais eficiente diante de matrizes aquosas mais complexas.

4.6 Difusão de analitos através de membranas

No presente trabalho foi investigada a difusão de ETU através de membranas em meio salino. Considerando que uma membrana pode ser definida como uma barreira seletiva entre duas fases através da qual a matéria pode ser transportada de uma fase à outra, analitos como àqueles investigados neste trabalho podem ter seus processos de difusão condicionados tanto pelas membranas quanto pelo meio onde eles se encontram. No contexto do presente trabalho, processos de difusão importantes são àqueles relacionados à hemodiálise onde as membranas são normalmente fabricadas a base de polissulfonas ou celulose e idealmente devem permitir apenas a depuração das toxinas que os rins não conseguiram eliminar. O transporte através de membranas ocorre fundamentalmente devido a três fatores que podem atuar isoladamente ou não; a diferença de concentração, a diferença de potencial elétrico ou ainda a diferença de pressão. Além destes aspectos, a eficiência da diálise depende ainda da presença de adsorções específicas de determinadas espécies sobre a membrana e de interações hidrofóbicas entre a membrana e a solução de diálise. Embora, este último aspecto não seja ainda bem entendido. Como se observa existem muitos fatores que poderiam justificar a difusão de espécies orgânicas e derivados destas espécies através das membranas de hemodiálise com a conseqüente contaminação dos pacientes de forma predominantemente crônica. No presente trabalho, ensaios preliminares da difusão de ETU através de membranas mostraram que a permeabilidade de materiais como polissulfonas e celulose era muito alta de modo que membranas com permeabilidade mais baixa como o PTFE tornam-se mais adequadas ao estudo da influência da força iônica do meio na permeação dos analitos. A membrana de PTFE foi escolhida para o estudo considerando que se as espécies passam pela estrutura de PTFE passariam com maior facilidade pelas membranas de hemodiálise devido a sua estrutura. Desta forma, o PTFE foi tratado como uma situação limite em relação à difusão.

4.6.1 Investigação da difusão

Embora neste trabalho tenham sido investigados os comportamentos de algumas tiotriazinas e ETU, para os estudos de difusão a ETU foi o foco principal considerando seu peso molecular menor e estrutura mais simples em comparação às tiotriazinas. Previamente aos ensaios de difusão investigou-se a vazão ideal das soluções para o sistema e foi possível observar que utilizando vazões menores ou iguais a 1 mL min.^{-1} , as taxas de difusão do analito foram semelhantes, enquanto que ao utilizar vazões mais altas como 2 mL min.^{-1} , a taxa de difusão diminuiu porque diminuiu também o tempo de contato entre as soluções doadora e aceptora. De acordo com o monitoramento espectrofotométrico do parâmetro investigado, a vazão de 1 mL min.^{-1} foi considerada mais adequada para o sistema por permitir no menor tempo possível a avaliação da difusão de ETU através da membrana de PTFE.

Os ensaios de difusão foram realizados visando avaliar a difusão das espécies em meios salinos com forças iônicas variando de 0,01 a 4,20. Os ensaios de difusão originalmente foram realizados partindo de soluções de 5 mg L^{-1} de ETU (solução doadora), onde não foi possível observar o sinal espectrofotométrico característico, então utilizou-se uma solução de 10 mg L^{-1} para observar se as espécies que passam pela membrana formam uma concentração mínima detectável por espectrofotometria molecular. Nestas condições o espectro da ETU pôde ser visualizado indicando a difusão da espécie pela membrana de PTFE através do monitoramento da solução aceptora do sistema.

4.6.2 Difusão de ETU através de membrana de PTFE em meios com diferentes forças iônicas

Neste sistema foi utilizado o mesmo fluxo para a solução doadora e aceptora de 1 mL min.⁻¹. Em todos os casos recolheu-se uma alíquota das soluções para análise por espectrofotometria molecular. Pela comparação dos espectros obtidos foi possível calcular as taxas de difusão da espécie. Desta maneira, o processo de difusão ficou condicionado a dois tipos de difusão, aquele sem a adição de sal ($\mu=0,01$) e as determinações onde a força iônica variou de valores superiores a 0,01 até 4,20. Assim sendo, pode-se dividir em dois grupos, o primeiro onde a difusão em água pura não ocorreu, enquanto que no segundo grupo independentemente das forças iônicas taxas de difusão de 1,5 a 2,5% foram observadas. Na tabela 30 estão apresentados os valores referentes à difusão de ETU utilizando a máxima força iônica investigada (4,20), onde a diferença de absorvância entre os espectros das soluções doadora e aceptora está representada na tabela abaixo indicando a quantidade da espécie que passou pela membrana de PTFE. Percentuais de difusão encontrados para ETU estão representados na tabela no sentido do contra fluxo das soluções, sugerindo, desta forma, que os percentuais de difusão variaram de 1,5% a 2,5%.

Tabela 30: Difusão de ETU em meio salino através de membrana de PTFE. Fluxo do sistema: 1 mL min.⁻¹. $\lambda_{\text{detecção}}=230$ nm. $\mu=4,20$.

ETU (solução doadora) (Absorvância)	ETU (solução aceptora) (Absorvância)	Difusão (%)
1,4648	1,4326	2,19
1,4280	1,4055	1,57
1,6399	1,5988	2,50

A partir de $\mu = 0,16$ observou-se que a porcentagem de difusão não dependia da força iônica do meio, indicando que tendo uma força iônica mínima o efeito salting out provoca a passagem do analito pouco polar através da membrana de PTFE.

A solubilidade é inversamente proporcional ao coeficiente de atividade das espécies orgânicas em solução e conforme já descrito neste trabalho a constante dielétrica dos solventes mostrou forte influência na solubilidade dos analitos orgânicos. Como um dos aspectos investigados neste trabalho foi à difusão de espécies orgânicas através de membranas, o efeito salting out gerado a partir de soluções com diferentes soluções salinas deve também ser avaliado. Este efeito é também usado para facilitar a separação de compostos orgânicos em soluções aquosas.

A revisão de Xie, Shiu e Mackay [158] compara a solubilidade de compostos orgânicos em matrizes salinas (água do mar natural e artificial). Segundo os autores a presença de eletrólitos (sais) em soluções aquosas modifica a solubilidade e propriedades de compostos orgânicos em água, promovendo o efeito “salting out” que é definido pela equação:

$$\log (Y/Y_0) = \log (S_0/S) = K_s \cdot C_s$$

onde

Y_0 e Y são os coeficientes de atividade dos solutos orgânicos em água e em soluções salinas, respectivamente, S_0 e S são as solubilidades do soluto em água e soluções salinas respectivamente, K_s é a constante salting out e C_s (mol L^{-1}) é a concentração molar da solução salina.

Embora neste trabalho não foi medido o valor desta constante, observa-se que mesmo mudando a força iônica do meio num intervalo de 0,01 a 4,20 o incremento da difusão mostrava-se mais ou menos constante, ou seja, o meio não mostrou um incremento significativo da difusão, embora tenha sido significativamente maior do que o efeito salting out, porém, os valores da

constante provavelmente não discrimina entre as taxas de difusão para o intervalo de força iônica investigado. O fenômeno ocorre porque as espécies dissolvidas em água são mais ordenadas e compressíveis, enquanto que, se estas espécies estiverem presentes em soluções fortemente salinas a alta força iônica do meio “expulsa” para um meio de força iônica menor, promovendo o efeito “salting out”.

5 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Os métodos eletroanalíticos permitem investigar o comportamento de espécies em diferentes meios salinos utilizando diferentes eletrodos de trabalho. Em razão disso, como sugestão para trabalhos futuros pode-se investigar o comportamento de novos eletrodos de trabalho com eletrodeposição ou não de Hg sobre a superfície do eletrodo em meios com diferentes forças iônicas. Além disso, novas células eletroquímicas também poderão ser desenvolvidas com diferentes formatos visando melhorar o tempo de análise para sistemas on line.

6 – CONCLUSÕES

No presente trabalho utilizou-se três técnicas eletroquímicas coulometria, amperometria e voltametria para estudar e comparar o comportamento de algumas tiotriazinas e também de um subproduto de degradação dos EBDCs (ETU). Os eletrodos investigados tanto em medidas on line quanto off line foram eletrodos de cobre modificado, eletrodo de CVR modificado ou não e eletrodos de Hg e Au.

Os resultados obtidos com a coulometria mostraram-se pouco sensíveis, tanto no sistema on line quanto no sistema off line, de acordo com a tabela 31. Quando os analitos são quantificados no sistema on line proposto, o LD aumenta de 5 mg L^{-1} para 50 mg L^{-1} se compararmos com o sistema off line nas mesmas condições de análise. Neste sistema o LD foi 10 vezes maior que no sistema off line, devido ao fluxo e ao fato do analito não ter total contato com a superfície do eletrodo de trabalho, gerando uma eletrólise parcial. Assim, o sistema em fluxo proposto neste trabalho construído para determinação de tiotriazinas também apresenta rendimentos pouco constantes na eletrólise, comprometendo, desta forma, a correlação linear nos procedimentos de calibração. As determinações foram feitas em meios ácido (pH= 4,0) e alcalino (pH= 9,0) não se observando diferenças significativas nos valores calculados de LD. A coulometria utiliza eletrodos de trabalho com grandes áreas superficiais, mas apresenta uma importante desvantagem na sensibilidade devido a altas cargas geradas pelos eletrólitos principalmente nos meios salinos investigados neste trabalho (fluidos para hemodiálise).

Os ensaios amperométricos utilizaram como eletrodo de trabalho um eletrodo de CVR no sistema on line para a determinação de tiotriazinas. O comportamento amperométrico das tiotriazinas mostrou-se muito diferente do comportamento coulométrico. A amperometria permite determinar baixas quantidades dos analitos e utiliza eletrodos com pequenas áreas superficiais, minimizando as interferências dos eletrólitos. O sistema amperométrico proposto

apresentou melhor sensibilidade para as tiotriazinas onde foi possível determinar soluções com concentrações de até $1 \mu\text{g L}^{-1}$ utilizando como eletrólito uma solução ácida ou ACN. Em meio salino não foi possível detectar as tiotriazinas em estudo, devido ao aumento progressivo da linha de base, inviabilizando o sistema.

A voltametria utilizou eletrodo sólido (Au) e líquido (Hg) na determinação de tiotriazinas e ETU em meios ácido, alcalino com diferentes forças iônicas. O sistema voltamétrico off line com eletrodo de Hg determinou os analitos em concentrações com até $1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ nas melhores condições do sistema, podendo sofrer a interferência de Zn e também de alguns compostos orgânicos que possam estar presentes no meio de análise. Comparando o comportamento dos analitos em relação ao eletrodo de trabalho de Hg e de Au, percebe-se que de acordo com a tabela 31 o LD encontrado no sistema que utilizou eletrodo de Au, foi maior do que no sistema que utilizou o eletrodo de Hg.

Os três sistemas mostraram diferenças expressivas nos LD, nem todos foram adequados a soluções com forças iônicas altas (amperometria) e com relação aos tempos de análise as medidas coulométricas foram mais demoradas (apesar do trabalho ter sido conduzido sem a conversão completa dos analitos nos eletrodos, tempo: 3 minutos).

Como uma alternativa para melhorar a sensibilidade do sistema investigou-se a pré-concentração dos analitos em colunas de PS para posterior determinação utilizando as técnicas eletroquímicas citadas no presente trabalho.

Dentre as colunas investigadas neste trabalho aquela com PS foi o adsorvente que apresentou os melhores rendimentos na extração das espécies estudadas, além disso, a pré-coluna foi reutilizada por aproximadamente 50 procedimentos de pré-concentração e extração, enquanto que outras colunas comerciais são descartáveis.

Em relação ao estudo de difusão verificou-se que a difusão de ETU proposta neste trabalho através da membrana de PTFE ocorreu numa faixa de 1,5% a 2,5%. Estes índices são considerados relativamente altos, já que, se esta contaminação estiver presente na água utilizada na hemodiálise passaria uma

quantidade bem maior da espécie devido à estrutura da membrana de hemodiálise.

Tabela 31: Comparativo entre os resultados obtidos entre os métodos eletroanalíticos utilizados no presente trabalho.

Técnica	Eletrodo	Sistema	Meio	Tempo de eletrólise	Analito	LD
Coulometria	Fio de cobre/Hg	off line	ácido/alcalino	3 minutos	Tiotriazinas	5 mg L ⁻¹
	CVR/Hg	off line	ácido	3 minutos	Tiotriazinas	10 mg L ⁻¹
	CVR/Hg	off line	ácido	3 minutos	ETU	0,5 mg L ⁻¹
	Fio de cobre/Hg	off line	salino	3 minutos	Tiotriazinas	3,8 mg L ⁻¹
	Fio de cobre/Hg	off line	salino	3 minutos	ETU	7,6 mg L ⁻¹
	Fio de cobre/Hg	on line	ácido/alcalino	2 minutos	Tiotriazinas	50 mg L ⁻¹
Amperometria	CVR	on line	ácido/ACN	30 segundos	Tiotriazinas	1 µg L ⁻¹
Voltametria	Hg	off line	ácido	1 minuto	Tiotriazinas	2,2 µg L ⁻¹
	Hg	off line	salino	1 minuto	Tiotriazinas	10 µg L ⁻¹
	Hg	off line	alcalino	2 minutos	ETU	1,3 µg L ⁻¹
	Au	off line	alcalino	2 minutos	Tiotriazinas	15 µg L ⁻¹
	Au	off line	ácido	2 minutos	ETU	5 µg L ⁻¹

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- MUSSINAM, C. J.; KEELAN, M. E. **Sulfur Compounds in Foods**. ACS Symposium series 564. Washington, DC, p. 8, 1994.
- 2- HASSAL, K. A. **The Biochemistry and Uses of Pesticides**. VCH. 2ª ed. New York, p. 57, 1990.
- 3- VYN, J. D.; SWANTON, C. J.; WEAVER, S. E.; SIKKEMA, P. H. Control of *Amaranthus tuberculatus* var. *rudis* (common waterhemp) with pre and post-emergence herbicides in *Zea mays* L. (maize). **Crop Protection**, v. 25, p. 1051-1056, 2006.
- 4- BERG, G. L. **Farmaceutical Chemicals Handbook**, Meister Publishing, Willoughby, OH, USA. 1985.
- 5- DINYA, Z.; LÁNYI, K. Photodegradation study for assessing the environmental fate of some triazine-, urea- and thiolcarbamate-type herbicides. **Microchemical Journal**, v. 80, p. 79-87, 2005.
- 6- PEÑUELA, G. A.; BARCELÓ, D. Photosensitized degradation of organic pollutants in water: processes and analytical applications **Trends Analytical Chemistry**, v. 17, p. 605-612, 1998.
- 7- BARANOWSKA, I.; BARCHANSKA, H.; PACAK, E. Procedures of trophic chain samples preparation for determination of triazines by HPLC and metals by ICP-AES methods. **Environmental Pollution**, v. 143, p. 206-211. 2006.

- 8- M.C. BRUZZONITI, M. C.; SARZANINI, C.; COSTANTINO, Z.; FUNGI, M. Determination of herbicides by solid phase extraction gás chromatography–mass spectrometry in drinking waters. **Analytica Chimica Acta**, In Press. 2006.
- 9- HENNION, M. C.; COQUART. V. Comparison of reversed-phase extraction sorbents for the on-line trace enrichment of polar organic compounds in environmental aqueous samples. **Journal of Chromatography**, v. 642, p. 211-224, 1993.
- 10- HUANG, S. D.; HUANG, H. I. and SUNG, Y. H. Analysis of triazine in water samples by solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography, **Talanta**, v. 64, 887-893, 2004.
- 11- HORTH, H.; BRIAN, C.; GWLLIAM, R. D.; PALMER, C. P.; STANLEY, J. A.; THOMAS, M. J. Techniques for the fractionation and identification of mutagens produced by water treatment chlorination, w organic micropollutants in water sampling. Analysis and toxicity testing. **American Chemical Society**, p. 659-674, 1987.
- 12- PERICÁS, C. C.; HERNANDEZ, R. H. and FALCÓ, P. C. On-fibre solid-phase microextraction coupled to conventional liquid chromatography versus in-tube solid-phase microextraction coupled to capillary liquid chromatography for the screening analysis of triazines in water samples, **Journal of Chromatography A**, v. 1125, p. 159-171, 2006.
- 13- IGNJATOVIC, L. M.; MARKOVIC, D. A.; VESELINOVIC, D. S.; BESIC, B. R. Polarographic behaviour and determination of some s-triazines herbicides. **Electroanalysis**, v. 5, p. 529-533, 1993.
- 14- HERNANDEZ, F.; BELTRAN, J.; LOPES, F. J.; GASPAR, J. V. Used of solid phase microextraction for the quantitative determination of herbicides in soil and water samples. **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 2313-2322, 2000.

- 15- KROGER, S.; TURNER, A. P.; MOSBACH, K.; HAUPT, K. Imprinted polymer based sensor system for herbicides using differential-pulse voltammetry on screen printed electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 71, p. 3698-3702, 1999.
- 16- SAMSONOVA, Zh V.; EREMEN, J. A.; EGOROV, A. M. Polarization fluorescence immunoanalysis of herbicides of the s-1, 3, 5-triazines class. **Voprosy Meditsinskoi Khimii**, v. 40, p. 53-56, 1994.
- 17- BIER, F. F.; STOECKLEIN, W.; BOECHER, M.; BILITEWSKI, U.; SCHID, R. D. Used of fibre optic immunosensor for the detection of pesticides. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 7, p. 509-512, 1992.
- 18- FISCHER, GAD. KATZ, B. Vibronic interations in s-triazine spectra. **Chemical Physics Letters**, v. 96, p. 47-51, 1983.
- 19- PACÁKOVÁ, V.; STULIK, K.; PRIODA, M. High Performance Liquid Chromatography of s-Triazines and their degradation products using ultraviolet photometric and amperometric detection. **Journal of Chromatography**, v. 442, p. 147-155, 1988.
- 20- BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. Sampling of polar pesticides from water matrices. **Analytica Chimica Acta**, v. 338, p. 3-18, 1997.
- 21- BIZIUK, M.; PRZYJASNY, A.; CZERWINSKI, J.; WIERGOWSKI, M. Ocurrence and determination of pesticides in natural and treated waters. **Journal of Chromatography A**, v. 754, p. 103-123, 1996.
- 22- BESTER, K.; HÜHNERFUSS, H. Triazine herbicide concentrations in the german wadden sea. **Chemosphere**, v. 32, p. 1919-1928, 1996.

- 23- MIDIO, A. F.; MARTINS, D. I. Herbicidas em alimentos: aspectos gerais, toxicológicos e maléficos. São Paulo, p. 77-86, 1997.
- 24- WARE, G. W. **The pesticide book**. San Francisco: W. H. Freeman. 1988.
- 25- SARMAH, A. K.; KOOKANA, R. S.; ALSTON, A. M. Degradation of chlorsulfuron and triasulfuron in alkaline soils under laboratory conditions. **Weed Research**, v. 39, p. 83-94, 1999.
- 26- WHO, Environmental Health Criteria 63. Dithiocarbamate pesticides ethylenethiourea and propylenethiourea: a general introduction. WHO, Geneva, 1988.
- 27- CLYDE, D. D. Determination of xanthates, dithiocarbamates and some fungicides by titration with electrogenerated iodine in anhydrous acetonitrile. **Journal Association Official Analytical Chemists**, v. 66, p. 646-650, 1983.
- 28- APREA, C.; BETTA, A.; CATENACCI, G.; LOTTI, A.; MINOIA, C.; PASSINI, W.; PAVAN, I.; CUNA, S. R.; ROGGI, C. Reference values of urinary ethylenethiourea in four regions of Italy (multicentric study). **The Science of the Total Environment**, v. 192, p. 83-93, 1996.
- 29- APREA C.; BETTA, A.; CATENACCI, G.; COLLI, A.; LOTTI, A.; MINÓIA, C.; OLIVIERI, P.; PASSINI, W.; PAVAN, I.; ROGGI, C.; RUGGERI, R.; SCIARRA, G.; TURCI, R.; VANINI, P.; VITALONE, V. Urinary excretion of ethylenethiourea in five volunteers on a controlled diet (multicentric study). **The Science of the Total Environment**, v. 203, p. 167, 1997.
- 30- COLOSIO, C.; FUSTINONI, S.; BIRINDELLI, S.; BONOMI, I.; DE PASCHALE, G.; MAMMONE, T.; TIRAMINI, M.; VERCELLI, F.; VISENTIN, S.; MARONI, M.

Ethylenethiourea in urine as an indicator of exposure to mancozeb in vineyard workers. **Toxicology Letters**, v. 134, p. 133-140, 2002.

- 31- FITSANAKIS, V. A.; AMARNATH, V.; MOORE, J. T.; MONTINE, K. S.; ZHANG, J.; MONTINE, T. J. Catalysis of catechol oxidation by metal-dithiocarbamate complexes pesticides. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 33, p. 1714-1723, 2002.
- 32- BONTOYAN, W. R.; LOOKER, J. B. Degradation of commercial ethylene bisdithiocarbamate formulations to ethylenethiourea under elevated temperature and humidity. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 21, p. 338-341, 1973.
- 33- VAN RIJN, J. P; VAN STRAALLEN, N. M; WILLEMS, J. **Handboek bestrijdingsmiddelen_Handbook pesticides**. Amsterdam: VU Uitgeverij, 1995.
- 34- VERHAAR, H. J M.; VAN LEEUWEN C. J.; HERMENS, J. L. M. Classifying environmental pollutants: structure-activity relationships for prediction of aquatic toxicity. **Chemosphere**, v. 25, p. 471-491, 1992.
- 35- **World Health Organization, Environmental Health Criteria 78, Dithiocarbamate pesticides, ETU and PTU: a general introduction**, WHO. Geneva, Switzerland, 1988.
- 36- **Joint meeting of the FAO, Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues**. Rome, 1980.
- 37- DOWNING, E., Environmental Fate of Maneb, Environmental Monitoring and Pest Management. **Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA**, 2000.

- 38- GRAHAM, S. L.; HANSEN, W. H. Effects of short-term administration of ethylenethiourea on thyroid function of the rat. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, v. 7, p. 19-25, 1972.
- 39- LEWERENZ, H. J.; BLEYL, D.; PLASS, R., ENGST, R. Toxicology of ETU. **Potsdam Rehbrücke, German Democratic Republic, Central Institute for Nutrition, Academy of Science**, 1975.
- 40- International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) Ethylenethiourea. **Pure Applied Chemists**, v. 49, p. 675-689, 1977.
- 41- LARINI, L., **Toxicologia dos Praguicidas**. Ed. Manole Ltda, 1ª ed., p. 230, 1999.
- 42- GARCIA, I., **Contaminación del Suelo**, 2003.
- 43- GUENZI, J.L. **Pesticides in soil and water**. Madison. USA, p. 331, 1974.
- 44- MORETTI, M.; MARCARELLI, M.; VILLARINI, M.; FATIGONI, C.; SCASSELLATI, S. G.; PASQUINI, R. In vitro testing for genotoxicity of the herbicide terbutryn: cytogenetic and primary DNA damage. **Toxicology in Vitro**, v. 16, p. 81-88, 2002.
- 45- FIELDING, M. Pesticides in Ground and Drinking Water (Water Pollution Research Report, 27), **Commission of the European Communities**, p. 1-136, 1992.
- 46- BARR, D. B.; NEEDHAM, L. L. Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review. **Journal of Chromatography B**, v. 778, p. 5-29, 2002.

- 47- DONNA, A.; CROSIGNANI, P.; ROBUTTI, F.; BETTA, P. G.; BOCCA, R.; MARIANI, N.; FERRARIO, F.; FISSI, R.; BERRINO, F. Triazine herbicides and ovarian epithelial neoplasms. **Journal Work Environmental Health**, v. 15, p. 47-53, 1989.
- 48- MARTINEZ, R. C.; GONZALO, R. E.; TORIBIO, S. M. P.; MENDEZ, J. H. Determination of triazines in surface waters by membrane separation coupled on-line to a flow-injection system and partial least squares regression. **Analytica Chimica Acta**, v. 321, p. 147-155, 1996.
- 49- TANABE, A.; MITOBE, H.; KAWATA, K.; SAKAI, M. Monitoring of herbicides in river water by gas chromatography-mass spectrometry and solid-phase extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 754, p. 159-168, 1996.
- 50- McKONE, C. E.; BYAST, T. H.; HANCE, R. J. A comparison of some methods for the determination of triazine herbicides in water. **Analyst**, p. 653-656, 1972.
- 51- VANDECASTEELE, K.; GAUS, I.; DEBREUCK, W.; WALRAEVENS, K. Identification and Qualification of 77 pesticides in Groundwater Using Solid Phase Coupled to Liquid-Liquid Microextraction and Reversed-Phase Liquid Chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 3093-3101, 2000.
- 52- TAKATS, Z.; VARGHA, M.; KAROLY, V. Investigation of atrazine metabolism in river sediment by HPLC/MS. **Social Science and Medicine**, v. 15, p. 1735-1742, 2001.
- 53- SHELTON, D. R.; HADER, S.; KARNS, J. S.; POGELL, B. M. Metabolism of twelve herbicides by Streptomyces. **Biodegradation**, v. 7, p. 129-136, 1996.
- 54- WATELLE, M.; DEMEDTS, P.; FRANCK, F.; DE DEYN, P. P.; WAUTERS, A. Analysis of the antiepileptic phenyltriazine compound lamotrigine using gas

chromatography with nitrogen phosphorus detection. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 19, p. 460-464, 1997.

- 55- DURAND, G.; VERONIQUE, B.; DAMIA, B. Determination of trace level of herbicides in estuarine waters by gas and liquid chromatography techniques. **Journal of Chromatography**, v. 607, p. 319-327, 1992.
- 56- DUBEY J. K.; HEBERER T.; STAN H. Determination of ethylenethiourea in food commodities by a two-step derivatization method and gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection. **Journal of Chromatography A**, v. 765, p. 31-38, 1997.
- 57- MEIRING, H. D.; JONG, A. P. J. M. Determination of ethylenethiourea in water by single-step extractive derivatization and gas chromatography—negative ion chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 683, p. 157-165, 1994.
- 58- FUSTINONI, S.; CAMPO, L.; COLOSIO, C.; BIRINDELLI, S.; FOÁ, V. Application of gas chromatography-mass spectrometry for the determination of urinary ethylenethiourea in humans. **Journal of Chromatography B**, v. 814, p. 251-258, 2005.
- 59- BLASCO, C.; FONT, G.; PICÓ, Y. Determination of dithiocarbamates and metabolites in plants by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1028, p. 267-276, 2004.
- 60- DUBEY, J. K.; HEBERER, T.; STAN, H. J. Determination of ethylenethiourea in food commodities by a two-step derivatization method and gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection. **Journal of Chromatography A**, v. 765, p. 31-38, 1997.

- 61- POLL, J. M., VERSLUIS, HANN, G. G. V.; WILDE, O. Determination of ethylenethiourea in water samples by gas chromatography with alkali flame ionization detection and mass spectrometric confirmation, **Journal of Chromatography A**, v. 643, p. 163-168, 1993.
- 62- MARUYAMA, M. Residue analysis of ethylenethiourea in vegetables by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. **Journal Analytical Chemistry Fresenius**, v. 348, p. 324, 1994.
- 63- BARR, D. B.; NEEDHAM, L. L. Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review, **Journal of Chromatography B**, v. 778, p. 5-29, 2002.
- 64- NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D.; GARCIA, S.; RITZEL, A. F. Liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection of ethylenethiourea in blood serum after microwave irradiation as an auxiliary cleanup step. **Analyst**, v. 122, p. 733-735, 1997.
- 65- NITZ S.; MOZA P.; KORTE F. A capillary gas-liquid chromatographic method for determination of ethylenethiourea and propylenethiourea in hops, beer and grapes. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 30, p. 593-596, 1982.
- 66- MATISOVÁ, E.; CHOVANCOVÁ, J.; BUZINKALOVÁ, T. Capillary gas chromatography of ethylenethiourea, a degradation product of ethylenebisdithiocarbamates. **Journal of Chromatography**, v. 286, p. 331-337, 1984.
- 67- LO, C. C.; HSIAO, Y. M.; Comparison of micellar electrokinetic capillary chromatographic method with high-performance liquid chromatographic method for the determination of Imidazolidine-2-thione (Ethylenethiourea) in formulated products. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 45, p. 3118, 1997.

- 68- PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ, C. L.; TOMAS, V.; SANZ, A.; MARTIN, J. Flow injection spectrofluorimetric determination of ethylenethiourea. **Journal Analytical Chemistry Fresenius**, v. 362, p. 399-403, 1998.
- 69- PEREZ-RUIZ, T.; MARTINEZ, C. L.; TOMAS, V.; FENOLL, J. Kinetic-fluorimetric determination of ethylenethiourea by the stopped-flow technique. **Analytical Letters**, v. 34, p. 295-306, 2001.
- 70- PUACZ, W.; SZAHUN, W. Application of microwave energy to cleavage of sulfur bonds in the S8 ring in the simplest amide solvents. **Microchemical Journal**, v. 53, p. 446-453, 1996.
- 71- KAPOOR, R. C.; AGGARWAL, B. S., **Principles of Polarography**. Ed. J.W. New York. p. 106, 1991.
- 72- FOGG, A. G.; ISMAIL, R.; YUSOFF, A. R. H. M.; AHMAD, R.; BANICA, G. F. Cathodic stripping voltammetric determination at a hanging mercury drop electrode of the environmental heavy metal precipitant trimercapto-s-triazine (TMT). **Talanta**, v. 44, p. 497-500, 1997.
- 73- SKOOG, D. A.; LEARY, J. J. **Principles of Instrumental Analysis**. 4^a ed., Saunders College Publishing, 1992.
- 74- ORTIZ, R.; HIGUERA, M. J.; GALVIN, R. M.; MELLADO, J. M. R. The role of chemical reactions placed between successive electron transfer in the reduction of 2-methylthio-4,6-di(alkylamino)-1,3,5-triazines on mercury electrodes. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 148, p. 419-426, 2001.
- 75- LIPPOLIS, M. T.; CONCILIANI, V. Differential pulse polarographic determination of the herbicides atrazine, prometryne and simazine. **Talanta**, v. 35, p. 235-236, 1988.

- 76- GÁLVEZ, R.; PEDRERO, M.; DE VILLENA, F. J. M.; PINGARRON, J. M.; POLO, L. M. Polarographic study of simazine in micelar and emulsified media. **Analytica Chimica Acta**, v. 273, p. 343-349, 1993.
- 77- BENADIKOVÁ, H.; KALVODA, R. Adsorptive stripping voltammetry of some triazine and nitro group containing herbicides. **Analytical Letters**, v. 17, p. 1519-1531, 1984.
- 78- NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D.; CARVALHO, L. M.; TREVISAN, J.; PILAU, E. J.; VENDRAME, Z. B.; DESSUY, M. Determination of triazines in hemodialysis saline solutions by adsorptive stripping voltammetry after extraction in acetonitrile. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 14, p. 577-583, 2003.
- 79- LIN, M. S.; JAN, B. I.; LEU, H. J.; LIN, J. S. Trace measurement of dithiocarbamate based pesticide by adsorptive stripping voltammetry. **Analytical Chimica Acta**, v. 388, p. 111-117, 1999.
- 80- PICÓ, Y., RODRIGUEZ, R.; MAÑEZ, J. Capillary electrophoresis for the determination of pesticide residues. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 3, 2003.
- 81- LAWRENCE, N. S., BECKETT, E. L., DAVIS, J.; COMPTON, R. G. Advances in the Voltammetric Analysis of Small Biologically Relevant Compounds, **Analytical Biochemistry**, v. 303, p. 1-16, 2002.
- 82- PEREZ, R.; GALVIN, R. M.; MELLADO, J. M. R.; MONTOYA, M. R. A contribution to the study of the electroreduction of 2,4-diamino-1,3,5-triazine on mercury electrodes. **Journal Electrochemical Society**, v. 149, p. 306-310, 2002.

- 83- ZEB, J. M.; JOU, J. J.; KUMAR, A. S. A sensitive voltammetric method for the determination of parathion insecticide. **Analytical Chimica Acta**, v. 396, p. 39-44, 1999.
- 84- MATHEW, L.; REDDY, M. L. P.; RAO, T. P.; IYER, C. S. P.; DAMODARAN, A. D. Differential pulse anodic stripping voltammetric determination of ziram (a dithiocarbamate fungicide). **Talanta**, v. 43, p. 73-76, 1996.
- 85- VANDERBERG, P. J.; JOHNSON, D. C. A study of the voltammetric response of thiourea and ethylenethiourea at gold electrodes in alkaline media. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 362, p. 129-139, 1993.
- 86- CARVALHO, L. M.; NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D.; DEL FABRO, L. Determination of Ethylenethiourea (ETU) at trace levels in water samples by cathodic stripping voltammetry. **Electroanalysis**, v. 16, p.1508-1513, 2004.
- 87- VANDERBERG, P. J.; KOWAGOE, J. L.; JOHNSON, D. C. Pulsed amperometric detection of sulfur compounds: thiourea at gold electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 260, p. 1-11, 1992.
- 88- NEUBURGER, G. G.; JOHNSON, D. C. Pulsed coulometric detection with automatic rejection of background signal in surface-oxide-catalyzed anodic detections at gold electrodes in flow-through cells. **Analytical Chemistry**, v. 60, p. 2288-2293, 1988.
- 89- POLTA, T. Z.; JOHNSON, D. C. Pulsed amperometric detection of sulfur compounds: Part I. Initial studies of platinum electrodes in alkaline solutions. **Journal Electroanalytical Chemistry**, v. 209, p. 159-169, 1986.

- 90- DOERGE, D. R.; YEE, A. B. K. Liquid chromatographic determination of ethylenethiourea using pulsed amperometric detection. **Journal of Chromatography**, v. 586, p. 158-160, 1991.
- 91- KRAUSE, R. T. Liquid Chromatographic electrochemical determination of Ethylenethiourea in foods by revised official methods. **Journal Association Official Analytical Chemists**, v. 72, p. 978-983, 1989.
- 92- NGOVIWATCHAI, A.; JOHNSON, D. Pulsed amperometric detection of sulfur-containing pesticides in reversed-phase liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 215, p. 1-12, 1988.
- 93- VAN DER LINDEN, W. E.; DIEKER, J. W. Glassy carbon as electrode material in electro-analytical chemistry. **Analytica Chimica Acta**, v. 119, p. 1-24, 1980.
- 94- ZITTEL, H. E.; MILLER, F. J. A Glassy-Carbon Electrode for Voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 37, p. 200, 1965.
- 95- RUSLING, J. F.; KAMAU, G. N. Electrocatalytic reactions in organized assemblies Part II. Electrocatalytic reduction of allyl chloride by tris(2,2'-bipyridyl)cobalt(II) in micelles of dodecylsulfate. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 187, p. 355-359, 1985.
- 96- THORNTON, D. C.; CORBY, K. T.; SPENDEL, V. A.; JORDAN, J.; ROBBAT, A. J.; RUTSTROM, D. J.; GROSS, M.; RITZLER, G. Pretreatment and validation procedure for glassy carbon voltammetric indicator electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 57, p. 150-155, 1985.
- 97- KAMAU, G. N. Surface preparation of glassy carbon electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 207, p. 1-16, 1988.

- 98- RUSLING, J., Variations in Electron-Transfer Rate at Polished Glassy Carbon Electrodes Exposed to Air. **Analytical Chemistry**, v. 56, p. 575-578, 1984.
- 99- ENGSTROM, R. Electrochemical Pretreatment of Glassy Carbon Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 54, p. 2310-2314, 1982.
- 100- CÉNAS, N.; ROSGAITÉ, J.; KULIS, J. Electrocatalytic oxidation of nadh and ascorbic acid on electrochemically pretreated glassy carbon electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 154. p. 121-128, 1983.
- 101- NOWAK, R. J.; SCHULTZ, F. A.; UMAIIA, M.; LAM, R.; MURRAY, R. M. Chemically Modified Electrodes. Radiofrequency Plasma Polymerization of Vinylferrocene on Glassy Carbon and Platinum Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 52, p. 315-321, 1980.
- 102- ZAK, J.; KUWANA, T. Chemically modified electrodes and electrocatalysis. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 150, p. 645-664, 1983.
- 103- LASER, D.; ARIEL, M. The anodic behavior of glassy carbon in acid solution A spectroelectrochemical study. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 52, p. 291-303, 1974.
- 104- EVANS, J. F.; KUWANA, T. Electrocatalysis of solution species using modified electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 80, p. 409-416, 1977.
- 105- HU, I.; KARWEIK, D. H.; KUWANA, T. Activation and deactivation of glassy carbon electrodes. **Journal Electroanalytical Chemistry**, v. 189, p. 59-72, 1985.
- 106- YAMADA, S.; SATO, H., Some Physical Properties of Glassy Carbon. **Nature**, v. 193, p. 261-262, 1962.

- 107- 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. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 580, p. 245-254, 2005.
- 108- GUNAWARDENA, G.; HILLS, G.; MONTENEGRO, I.; SCHARIFKER, B. Electrochemical Nucleation. Part III. The electrodeposition of mercury on vitreous carbon. **Journal Electroanalytical Chemistry**, v. 138, p. 255-271, 1982.
- 109- SERRUYA, A.; MOSTANY, J.; SCHARIFKER, B. R. The kinetics of mercury nucleation from Hg_2^{+2} solutions on vitreous carbon electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 404, p. 39-47, 1999.
- 110- DEL POSO, J. A.; GARCÍA, A. C.; BLANCO, P. T. Adsorptive stripping voltammetry on mercury-coated carbon fibre ultramicroelectrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 273, p. 101-109, 1993.
- 111- HYDE, M. E.; COMPTON, R. G. How ultrasound influences the electrodeposition of metals. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 531, p. 19-24, 2003.
- 112- LI, Q.; BI, S.; JI, G. A method for in situ auto-renewal of the surface of glassy carbon electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 560, p. 19-23, 2003.
- 113- SKOPALOVÁ, J.; LEMR, K.; KOTOUCEK, M.; CÁP, L.; ONDDRA, P. Electrochemical reduction of prometryne and the other 2-mthylthio-4,6-dialkylamino-s-triazine herbicides at mercury electrodes. **Electroanalysis**, v. 10, p. 331-335, 1988.

- 114- SKOPALOVÁ, J.; KOTOUCEK, M. Polarographic behaviour of some s-triazine herbicides and their determination by adsorptive stripping voltammetry at the hanging mercury drop electrode. **Journal Analytical Chemistry Fresenius**, v. 351, p. 650-655, 1995.
- 115- BERG, M.; MÜLLER, S. R.; SCHWARZENBACH, R. P. Simultaneous determination of triazines including atrazine and their major metabolites hydroxyatrazine, desethylatrazine, and deisopropylatrazines in natural waters. **Analytical Chemistry**, v. 67, p. 1860-1865, 1995.
- 116- BATTISTA, M.; DI CORCIA, A.; MARCHETTI, M. Extraction and isolation of triazine herbicide from water and vegetables by a double trap tandem system. **Analytical Chemistry**, p. 935-939, 1989.
- 117- DÖRFLER, U.; FEICHT, E. A.; SCHEUNERT, I. S-triazines residues in groundwater. **Chemosphere**, v. 35, p. 99-106, 1997.
- 118- GARCIÑUNO, R. M.; RAMOS, I.; HERNANDO, P. F.; CÁMARA, C. Optimization of a matrix solid-phase dispersion method with subsequent clean-up for the determination of ethylenebisdithiocarbamate residues in almond samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1041, p. 35-41, 2004.
- 119- GARCIÑUNO, R. M.; HERNANDO, P. F.; CÁMARA, C. Simultaneous determination of Maneb and its main metabolites in tomatoes by liquid chromatography using diode array ultraviolet absorbance detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1043, p. 225-239, 2004.
- 120- HAGINAKA, J. Selectivity of affinity media in solid-phase extraction of analytes. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 407-415, 2005.

- 121- CHAPUIS, F.; PICHON, V.; LANZA, F.; SELLERGREN, S.; HENNION, M. C. Optimization of the class-selective extraction of triazinas from aqueous samples using a molecularly imprinted polymer by a comprehensive approach of the retention mechanism. **Journal of Chromatography A**, v. 999, p. 23-33, 2003.
- 122- JIANG, H.; ADAMS, C. D.; KOFFSKEY, W. Determination of chloro-s-triazines including didealkylatrazine using solid-phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1064, p. 219-226, 2005.
- 123- BUCHHEIT, J. A.; WITZENBACH, M. Pesticide monitoring of drinking water with the help of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 737, p. 67-71, 1996.
- 124- MARTÍNEZ, R. C.; GONZALO, E. R.; HERNANDEZ, E. H.; SAN-ROMAN, F. J.; FLORES, M. G. P. Determination of herbicides and metabolites by solid-phase extraction and liquid chromatography evaluation of pollution due to herbicides in surface and groundwaters. **Journal of Chromatography A**, v. 950, p. 157-166, 2002.
- 125- DOPICO, M. S.; GONZALEZ, R. M. V.; CASTRO, R. J. M.; GONZALEZ, S. E.; PEREZ, I. J.; RODRIGUEZ, T. M.; CALLEJA, A.; VILARINO, J. M. L. Determination of chlorotriazines, methylthiotriazines and one methoxytriazine by SPE- LC- UV in water samples. **Talanta**, v. 59, p. 561-569, 2003.
- 126- PLASENCIA, F. J. R.; VILLOSLADA, F. N.; ARRIBAS, L. V. P.; GONZALEZ, M. E. L.; DIEZ, L. M. P. Preconcentration of triazine herbicides from water by an ion chromatography column and determination by gas chromatography mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 760, p. 314-318, 1997.

- 127- GATIDOU, G.; KOTRIKA, A.; THOMAIDIS, N. S.; LEKKAS, T. D. Determination of the antifouling booster biocides irgarol 1051 and diuron and their metabolites in seawater by high performance liquid chromatography-diode array detector. **Analytica Chimica Acta**, v. 528, p. 89-99, 2005.
- 128- CHAMBERS, T. K.; FRITZ, J. S. High-performance liquid chromatography with non-aqueous solvents. Relative elution strength on a polystyrene-divinylbenzene column. **Journal of Chromatography A**, v. 728, p. 271-278, 1996.
- 129- BARNABAS, I. J.; DEAN, J. R.; FOWLIS, I. A.; OWEN, S. P. Automated determination of s-triazine herbicides using solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 705, p. 305-312, 1995.
- 130- CHAPUIS, F.; PICHON, V.; LANZA, F.; SELLERGREN, B.; HENNION, M. C. Retention mechanism of analytes in the solid-phase extraction process using molecularly imprinted polymers. Application to the extraction of triazines from complex matrices. **Journal of Chromatography B**, v. 804, p. 393-101, 2004.
- 131- GORDON, E.J. Patient's decisions for treatment of end-stage renal disease and their implications for access to transplantation. **Social Science & Medicine**, v. 53, p. 971-987, 2001.
- 132- FEHRMAN-EKHOLM, I. Thor, J. An example of successful systematic improvement work. Process management improved routines and simplified dialysis starts. **Lakartidningen**, v. 97, p. 5920-5922, 2000.
- 133- LINDBERG, J.; CHURCHILL, D. N.; FISHBANE, S. Research directions: new clinical frontiers. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 36, p. S52-S61, 2000.

- 134- ALEXANDER, G. C.; SEHGAL, A. R. Why hemodialysis patients fail to complete the transplantation process. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 37, p. 321-328, 2001.
- 135- CLARK, W. R. Quantitative characterization of hemodialyzer solute and water transport. **Seminars in Dialysis**, v. 14, p. 32-36, 2001.
- 136- **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Portaria nº 82, de 3 de janeiro de 2000.
- 137- BRADBERRY, S. M.; WATT, B. E.; PROUDFOOT, A. T.; VALE, J. A. Mechanisms of toxicity clinical features, and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a review. **Journal of Toxicology**, v. 38, p. 111-122, 2000.
- 138- BRUZZOTINI, M. C.; SARZANINI, C.; MENTASTI, E. Preconcentration of contaminants in water analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 902, p. 289-309, 2000.
- 139- RINGOIR, S. **Water Quality**. Verhandelingen-Koninklijke Academie Voor Geneeskunde Van Belgie, v. 54, p. 179-185, 1992.
- 140- NOVAKOVA, S.; STRATEVA, A. Toxicologic Characteristics of several pesticides and standards for them in water. **Problemi Na Khigienata**, v. 8, p. 116-120, 1983.
- 141- HEYROVSKY, J. Zuman, P. **Practical Polarography**. New York. 1968.
- 142- DO NASCIMENTO, P. C.; SCHWEDT, G. Comparative studies of the determination of cyanide at low concentration levels in waste waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 283, p. 755-761, 1993.

- 143- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications**. 2^a ed. Wiley. New York, 831 p., 2001.
- 144- HUERTAS, A. V. **Polarografía**. Barcelona. 1971.
- 145- PEDRERO, M. Determination of Methoprotrolyne and Terbutrolyn by adsorptive stripping Voltammetry on the hanging mercury drop electrode. **Analyst**, v. 118, p. 1405-1410, 1993.
- 146- **Manual Methrom** AG CH-9100. Herisau (Switzerland). 646 VA Processor.
- 147- BOHRER, D.; DO NASCIMENTO, P. C.; GUTERRES, M.; TREVISAN, M.; SEIBERT, E. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of lead, cadmium, copper and zinc in high-salt content samples after simultaneous separation on polyethylene powder impregnated with 1-(2-pyridilazo)-2-naphthol: application to the analysis of hemodialysis fluids. **Analyst**, v. 124, p. 1345-1350, 1999.
- 148- LAWRENCE, J. F.; IVERSON, F.; HANECAMP, H. B.; BOS, P.; FREI, R. W. Liquid chromatography with UV absorbance and polarographic detection of ethylenethiourea and related sulfur compounds : Application to rat urine analysis. **Journal of Chromatography**, v. 212, p. 245-250, 1981.
- 149- JOHNSON, D. C.; DOBBERPUHL, D.; ROBERTS, R. VANDEBERG, P. Pulsed amperometric detection of carbohydrates, amines and sulfur species in ion chromatography – the current state of research. **Journal of Chromatography**, v. 640, p. 79-86, 1993.
- 150- ZAPARDIEL, A.; BERMEJO E.; PÉREZ, J. A.; CHICHARRO, M. Determination of s-triazines with copper and glassy carbon electrodes flow injection analysis of aziprotryne in water samples. **Journal Analytical Chemistry Fresenius**, v. 367, p. 461-466, 2000.

- 151- SWAIN, G. M.; KUWANA, T. Electrochemical formation of high surface area carbon fibers. **Analytical Chemistry**, v. 63, p. 517-519, 1991.
- 152- MÉNDEZ, J. H.; MARTÍNEZ, R. C.; GONZALO, E. R. Electroanalytical study of the pesticide guthion. **Journal Electroanalytical Chemistry**, v. 244, p. 221-233, 1988.
- 153- MENDEZ, J. H.; MARTINEZ, R. C.; LOPEZ, M. E. G.; GONZALEZ, M. C. Electroanalytical studies of the pesticide Menazon and its hydrolysis products. **Analytica Chimica Acta**, v. 176, p. 121-131, 1985.
- 154- RUCKI, R. J. Electrochemical detectors for flowing liquid systems. **Talanta**, v. 27, p. 147-156, 1980.
- 155- HADDAD, P. R.; JACKSON, P. E. Ion chromatography principles and applications. **Journal of Chromatography**, v. 46, p.29-36, 1990.
- 156- HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 5^o edição. LTC. 2001. Rio de Janeiro.
- 157- BALINOVA, A. Strategies for chromatographic analysis of pesticide residues in water. **Journal of Chromatography A**, v. 754, p. 125-135, 1996.
- 158- XIE, W. H.; SHIU, W. Y. and MACKAY, D. A review of the effect of salts on the solubility of organic compounds in seawater. **Marine Environmental Research**, v. 44, p. 429-444, 1997.

8 - APÊNDICES

Apêndice 01

- Ametrina

2-etilamina-4-isopropilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina

Pureza: 98,2%

Peso Molecular: 227,2 g

Sigma-Aldrich, Alemanha.

- Desmetrina

2-isopropilamina-4-metilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina

Pureza: 98,1%

Peso Molecular: 213,1 g

Sigma-Aldrich, Alemanha.

- Prometrina

2-diisopropilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina

Pureza: 99,7%

Peso Molecular: 241,2 g

Sigma-Aldrich, Alemanha.

- Terbutrina

2-t-butilamina-4-etilamina-6-metiltio-1,3,5-triazina

Pureza: 98,7%

Peso Molecular: 241,2 g

Sigma-Aldrich, Alemanha.

- Etilenotiourea (ETU)

Pureza: > 98%

Peso Molecular: 102,16 g

Marca: Merck.

Apêndice 02**- SAX**

Bond Elut Analytichem

500 mg

- C18

Bakerbond spe™

500 mg

- Cyano

J. T. Baker spe

500 mg

- Polietileno (PE)

Marca: Aldrich

Granulometria: 25 µm

Polyethylene, ultra high molecular weight surface-modified

500 mg

- Poliestireno (PS)

Marca: Aldrich

20-60 mesh polystyrene resin high surface area of 725 m²/g

500 mg

- Politetrafluoretileno (PTFE)

Marca: Alltech

T-PORT-F

Granulometria: 150-180 µm.

500 mg