



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ESTRATÉGIA ELETROQUÍMICA PARA A DETECÇÃO DE GLIFOSATO  
UTILIZANDO UM ELETRODO MODIFICADO COM COBRE E QUITOSANA**

**ANDREZA RÖEHRS MICHEL**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Luisa Jost  
Coorientadora: Me. Franciele de Matos Morawski

Florianópolis  
Dezembro/2020

Andreza Röehrs Michel

**ESTRATÉGIA ELETROQUÍMICA PARA A DETECÇÃO DE GLIFOSATO  
UTILIZANDO UM ELETRODO MODIFICADO COM COBRE E QUITOSANA**

Relatório apresentado ao Departamento de Química  
da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito parcial da disciplina de  
Estágio II (QMC 5512)

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Cristiane Luisa Jost

---

Me. Franciele Morawski

Florianópolis  
Dezembro/2020

## **Agradecimentos**

Chegar ao fim do tão sonhado curso é uma sensação indescritível. Depois de tantos semestres, me vem a certeza de que cada esforço aplicado valeu a pena.

Cada pessoa que andou comigo nessa caminhada teve seu papel: aqueles me ajudaram diretamente nas questões científicas, aqueles que me apoiaram nos momentos difíceis, e claro, aqueles que pude contar para todos os momentos em que se fazia necessário um sorriso e uma risada amiga.

Agradeço inicialmente a minha família, por me apoiar e me incentivar nos meus sonhos durante todos esses anos.

Agradeço aos meus amigos de curso, Thalia, Douglas, João, Jaqueline e Marina, os quais pude contar como verdadeiros parceiros para todos os momentos da faculdade.

Agradeço ao meu grupo de pesquisa, em especial à Cris, por ter me orientado e me possibilitado esse trabalho, e à Franciele, a coorientadora mais persistente, atenciosa e dedicada desse mundo. Sou muito feliz de ter tido vocês duas como minha dupla orientadora.

Por fim, agradeço à UFSC, por ser uma universidade acolhedora e de extrema qualidade, e a todos meus professores e professoras que, sem dúvidas, fizeram de mim ser a cientista que sou.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	5
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1 Glifosato.....	6
2.1.2 <i>Legislação brasileira</i> .....	8
2.2 Métodos e técnicas analíticas utilizados na determinação de Glifosato .....	8
2.3 Complexos de Cu (II) com glifosato.....	10
2.4 Métodos de modificação .....	11
2.5 Quitosana.....	13
2.5.1 <i>Quitosana como estabilizante de íons metálicos</i> .....	13
2.5.2 <i>Quitosana como um estabilizante de íons e óxidos de cobre</i> .....	14
2.6 Sistema quitosana, cobre e glifosato: uma solução eletroanalítica .....	16
3. OBJETIVOS .....	18
3.1 Objetivo geral.....	18
3.2 Objetivos específicos .....	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	19
4.1 Reagentes e soluções .....	19
4.2 Instrumentação .....	19
4.3 Preparação das soluções de Cu (II) e quitosana (Cu/CTS).....	20
4.4 Preparação do eletrodo modificado .....	20
4.5 Desenvolvimento do método de análise .....	21
4.6 Segurança no laboratório e destino dos resíduos gerados .....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
5.1 Soluções de cobre e quitosana.....	23
5.1.1 <i>Caracterização por espectroscopia UV-Vis</i> .....	24
5.1.2 <i>Estudo eletroquímico: otimização da concentração de Cu (II) na modificação</i> .....	25

5.2 Caracterização eletroquímica da superfície do GCE modificado.....	27
5.3 Comportamento do eletrodo modificado com Cu/CTS frente ao analito glifosato.....	29
5.4 Otimização do pH .....	31
5.5 Seleção da técnica eletroanalítica e otimização dos parâmetros experimentais.....	32
5.5.1 <i>Frequência</i> .....	33
5.5.2 <i>Amplitude de pulso</i> .....	34
5.6 Curva de calibração .....	35
5.6.1 <i>Repetibilidade</i> .....	36
5.6.2 <i>Métodos comparativos</i> .....	37
5.7 Estabilidade da dispersão Cu/CTS .....	39
6. CONCLUSÃO .....	41
7. REFERÊNCIAS.....	42

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Fórmula estrutural do glifosato.....	12
<b>FIGURA 2.</b> Equilíbrios e constantes de dissociação do herbicida glifosato.....	13
<b>FIGURA 3.</b> Imagem da esquerda: estrutura molecular do complexo $\text{CuL}^-$ . Imagem da direita: diagrama de espécies Cu(II)-Glifosato (pH 1 a 14), sendo $F_i$ a fração da espécie no meio.....	17
<b>FIGURA 4.</b> Estrutura da quitina e da quitosana.....	19
<b>FIGURA 5.</b> Estrutura do hidrogel de quitosana com o íon prata.....	20
<b>FIGURA 6.</b> Estrutura do hidrogel de quitosana com o íon cobre (II): (a) modelo de ponte e (b) modelo pendente. ....	21
<b>FIGURA 7.</b> Esquema representativo de síntese e estabilização de nanopartículas de cobre em quitosana. ....	21
<b>FIGURA 8.</b> Reação de redução do cobre por quitosana.....	22
<b>FIGURA 9.</b> Voltamogramas cíclicos de 10 mM de sulfato de cobre em 0,2 M de sulfato de sódio. Eletrodo de trabalho: Disco de Pt e Contra-eletrodo: haste de carbono.....	22
<b>FIGURA 10.</b> Esquema representativo das interações entre os grupos aminos e hidroxila da quitosana e da modificação por drop-coating do hidrogel no eletrodo de carbono vítreo.....	27
<b>FIGURA 11.</b> Modificações contendo diferentes concentrações de $\text{CuSO}_4$ em quitosana–(B) Solução 0,050 mol $\text{L}^{-1}$ de $\text{CuSO}_4 + \text{NaOH}$ : (I) Após 1h (II) Após 24h.....	30
<b>FIGURA 12.</b> Modificação da superfície do eletrodo (GCE) com Cu/CTS.....	30
<b>FIGURA 13.</b> Espectros de absorção molecular: (a) CTS/Cu antes da adição de NaOH; (b) CTS/Cu depois da adição de NaOH.....	31
<b>FIGURA 14.</b> Dia 1: Voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo modificado (GCE-Cu/CTS) com diferentes concentrações de $\text{CuSO}_4$ (0,01; 0,02 e 0,05 mol $\text{L}^{-1}$ ), em solução tampão BR 0,1 mol $\text{L}^{-1}$ (pH 6,5), $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ .....	32
<b>FIGURA 15.</b> Voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo modificado (GCE-Cu/CTS), em solução tampão BR 0,1 mol $\text{L}^{-1}$ (pH 6,5), $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ (A) Dia 2: GCE-Cu/CTS com diferentes concentrações de $\text{CuSO}_4$ (0,01; 0,02 e 0,05 mol $\text{L}^{-1}$ ), 24 h após a síntese da modificação. (B) Comparação dos voltamogramas cíclicos do Dia 1 e Dia 2 do GCE-Cu/CTS ( $[\text{CuSO}_4] = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ).....	33

<b>FIGURA 16.</b> (A) Voltamogramas cíclicos comparativos do GCE e GCE-Cu/CTS. (B) Dados de EIS para GCE e GCE-Cu/CTS; em um sistema contendo 5 mmol L <sup>-1</sup> de K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]/K <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] e 0,1 mol L <sup>-1</sup> KCl, $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ .....	34
<b>FIGURA 17.</b> Voltamogramas cíclicos para GCE-Cu/CTS na presença e ausência de glifosato no meio, tampão BR 0,1 mol L <sup>-1</sup> (pH 6,5), $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ .....	36
<b>FIGURA 18.</b> Voltamogramas cíclicos para GCE-Cu/CTS em soluções tampão BR 0,1 mol L <sup>-1</sup> obtidos em diferentes valores de pH: 5,0; 5,5; 6,0; 6,5 e 7,0., $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ e faixa de potencial de +0,6 a -0,6 V. ....	37
<b>FIGURA 19.</b> Voltamogramas coletados com GCE-Cu/CTS, tampão BR 0,1 mol L <sup>-1</sup> (pH 6,5), $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ , em diferentes técnicas eletroanalítica.....	38
<b>FIGURA 20.</b> Voltamogramas de onda quadrada para o eletrodo modificado com Cu/CTS, em solução tampão BR 0,1 mol L <sup>-1</sup> (pH 6,5), obtidos em diferentes valores de frequência de aplicação de pulso: (a) 10; (b) 20; (c) 30; (d) 40; (e) 50; (f) 60; (g) 70 e (h) 80 utilizando como valores fixos: $a = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$ .....	40
<b>FIGURA 21.</b> Voltamogramas de onda quadrada para o eletrodo modificado com Cu/CTS, em solução tampão BR 0,1 mol L <sup>-1</sup> (pH 6,5), em diferentes valores de amplitude de pulso: (a) 10; (b) 20; (c) 30; (d) 40; (e) 50; (f) 60; (g) 70, (h) 80, (i) 90 e (j) 100, utilizando como valores fixos: $f = 40 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$ .....	41
<b>FIGURA 22.</b> Voltamogramas de onda quadrada para GCE-Cu/CTS, em 10 mL de solução tampão BR 0,1 mol L <sup>-1</sup> (pH 6,5), na presença de diferentes concentrações de glifosato: (a) 0; (b) 0,5 (c) 1; (c) 2; (d) 3; (e) 4; (f) 5; (g) 6, (h) 7, (i) 8, (j) 9, (k) 10, (l) 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando os parâmetros otimizados: $f = 40 \text{ Hz}$ , $a = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2,0\text{mV}$ (faixa de potencial de faixa de +0,4 a -0,4 V).....	42
<b>FIGURA 23.</b> Estudo de repetibilidade: voltamogramas de onda quadrada para 5 diferentes eletrodos modificados com Cu/CTS preparados no mesmo dia. Condições experimentais: solução tampão BR 0,1 mol L <sup>-1</sup> (pH 6,5), $f = 40 \text{ Hz}$ , $a = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2,0\text{mV}$ .....	43
<b>FIGURA 24.</b> Avaliação da estabilidade eletroquímica da dispersão de Cu/CTS por voltametria cíclica utilizando eletrodos modificados com GCE-Cu/CTS preparados em diferentes períodos no intervalo de um mês. As análises foram realizadas em solução tampão BR 0,1 mol L <sup>-1</sup> (pH 6,5), $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ na faixa de potencial de +0,6 a -0,6 V.....	45

## LISTA DE TABELAS

**TABELA 1** Constantes de estabilidade (log K) de complexos metálicos com glifosato.....16

**TABELA 2** Comparação de dados de performance para a determinação de glifosato deste trabalho e de outros trabalhos da literatura.....44

## LISTA DE ABREVIATURAS

- $\Delta E_p$  – diferença entre o potencial de pico de oxidação e redução;
- $\Delta E_s$  – incremento de potencial (do inglês, *step potential sweep*);
- AAS – espectroscopia de absorção atômica (do inglês, *atomic absorption spectroscopy*);
- a – amplitude de pulso;
- AMPA - ácido aminometilfosfônico (do inglês, *aminomethylphosphonic acid*);
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
- BR – Britton-Robinson;
- BTC - 1,3,5 Benzeno Tricarboxilato;
- Cdl – capacitância da dupla camada elétrica (do inglês, *double layer capacitance*);
- Cu/CTS – modificação contendo cobre em quitosana;
- CV – voltametria cíclica (do inglês, *cyclic voltammetry*);
- DPV – voltametria de pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry*);
- EIS – espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy*);
- $E_p$  – potencial de pico;
- $E_{pc}$  – potencial de pico catódico;
- f – frequência de aplicação dos pulsos;
- HPLC – cromatografia líquida de alta performance (do inglês, *high performance liquid chromatography*);
- $i_p$  – corrente de pico;
- LOD – limite de detecção (do inglês, *limit of detection*);
- LSV – voltametria de varredura linear (do inglês, *linear sweep voltammetry*);
- MS – espectroscopia de massas (do inglês, *mass spectroscopy*);
- MOF – Redes Metalorgânicas (do inglês, *metal-organic framework*);
- Redox – Reações de Oxirredução;
- $R_{ct}$  – resistência à transferência de carga (do inglês, *resistance to charge transfer*);
- $R_s$  – resistência ôhmica (do inglês, *ohmic resistance*);
- SWV – voltametria de onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry*);
- v – velocidade de varredura;

VMP – Valor máximo permitido;

XPS – Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios X (do inglês, *X-ray photoelectron spectroscopy*);

Zw – impedância de Warburg (do inglês, *Warburg impedance*).

## RESUMO

O glifosato é um herbicida de amplo espectro largamente utilizado em regiões rurais e urbanas do mundo todo. Embora sua toxicidade seja considerada baixa, nos últimos anos observa-se a crescente preocupação sobre os possíveis efeitos carcinogênicos do glifosato à saúde humana, principalmente devido à exposição crônica e ao seu uso em larga escala. Considerando que o glifosato muitas vezes é aplicado próximo a ambientes aquáticos, esse composto é considerado um potencial contaminante de águas superficiais, fontes de águas minerais e potáveis, justificando a necessidade de estratégias analíticas eficientes para o seu monitoramento. Buscando estudar novos métodos capazes de detectar o glifosato em tempo real, este trabalho teve como objetivo desenvolver um método eletroanalítico portátil e de baixo custo para sua detecção. Considerando a ausência de grupos eletroativos na molécula de glifosato, foi utilizada a estratégia de análise indireta, onde uma modificação de cobre estabilizado em quitosana foi posta em um eletrodo de carbono vítreo (GCE-Cu/CTS). Essa estratégia foi escolhida devido à alta afinidade do glifosato com o cobre, sendo assim, a presença deste analito provocaria a inibição da atividade redox no filme modificador. A modificação proposta foi caracterizada por UV-VIS, voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica. A técnica escolhida para as análises voltamétricas foi a voltametria de onda quadrada, e a curva de calibração construída apresentou um  $R^2 = 0,9941$  e uma faixa linear de 169 a 1350  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O limite de detecção obtido foi de 81,9  $\mu\text{g L}^{-1}$ , valor que atende a concentração máxima permitida de glifosato em água potável, estimada pela ANVISA como 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

**Palavras Chaves:** Glifosato, Quitosana, Cobre, Voltametria, Eletrodo modificado.

## 1. INTRODUÇÃO

O glifosato é um herbicida não seletivo largamente utilizado em todo o mundo. É usado para controle de ervas daninhas, sendo amplamente aplicado em plantações de soja, milho e algodão. Embora a toxicidade aguda do glifosato seja considerada baixa, nos últimos anos observa-se a crescente preocupação sobre possíveis efeitos prejudiciais do glifosato à saúde humana, principalmente relacionados à exposição crônica e ao seu uso em larga escala. Nesse sentido, em 2015 a Organização Mundial de Saúde reclassificou o glifosato como “provável carcinógeno para humanos”. Os limites de tolerância para glifosato em alimentos e em água para consumo humano são estabelecidos pela ANVISA, sendo assim, justifica-se a importância de pesquisas voltadas para sua detecção e quantificação.

Muitas das técnicas analíticas empregadas na detecção de glifosato não são adequadas para testes de campo e análise em tempo real, pois requerem reagentes e equipamentos custosos e laboratórios especializados. Sendo assim, busca-se o desenvolvimento de estratégias de detecção rápida, de baixo custo e eficientes para este analito. As técnicas de eletroanálise têm recebido atenção da comunidade científica, devido a vantagens como seletividade, sensibilidade, baixo custo, praticidade e análise em tempo real. Além disso, a possibilidade de miniaturização dos dispositivos e, a sua consequente portabilidade, torna a eletroanálise uma abordagem adequada para o controle químico em estudos ambientais de campo.

A detecção eletroanalítica de glifosato é um desafio pois o composto não apresenta grupos eletroquimicamente ativos em sua estrutura. Dessa maneira, é necessário o uso de diferentes estratégias que possibilitem a sua detecção como, por exemplo, a modificação química da superfície do eletrodo. Nesse caso, a utilização de diferentes materiais com propriedades eletrocatalíticas, pode promover o aumento da sensibilidade e seletividade dos dispositivos frente ao analito.

Considerando os desafios encontrados para a determinação eletroquímica de glifosato, visa-se desenvolver uma nova estratégia analítica utilizando como princípio a alta afinidade de complexação do glifosato com íons Cu (II). A proposta consiste na detecção indireta do analito através da inibição do sinal eletroquímico de redução do Cu (II) frente a sua complexação com o glifosato.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

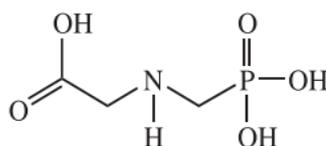
### 2.1 Glifosato

O glifosato é um herbicida não seletivo pertencente ao grupo dos pesticidas organofosforados, fabricado pela empresa de agricultura e biotecnologia Monsanto.<sup>1</sup> Seu mecanismo de ação se baseia na inativação da enzima EPSPs (5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase), a qual é responsável pela biossíntese de aminoácidos aromáticos fundamentais para o crescimento das plantas (ex: triptofano, fenilalanina e tirosina).<sup>2</sup> Este herbicida é classificado como não seletivo por afetar todas as plantas, sendo elas desejáveis ou pragas. Em decorrência disso, a Monsanto produz e vende uma linha de sementes batizadas de Roundup Ready, as quais são geneticamente modificadas para resistir ao glifosato.<sup>3</sup> Há evidências também de espécies de ervas daninhas com resistência adquirida a glifosato após o seu uso prolongado.<sup>1</sup>

O glifosato é quimicamente estável em água e não está sujeito a processos de degradação fotoquímicos e, nesse sentido, a sua degradação ocorre apenas por ação microbiana. O composto apresenta baixa mobilidade no solo, devido a adsorção e degradação por atividade microbiana. No entanto, o glifosato pode entrar nas águas superficiais como consequência da sua aplicação próxima a ambientes aquáticos, por escoamento superficial ou lixiviação do solo.<sup>4</sup>

O glifosato tem fórmula molecular  $C_3H_8NO_5P$  ( $169,1 \text{ g mol}^{-1}$ ), como mostrado na Figura 1. É muito solúvel em água ( $10,5 \text{ g L}^{-1}$  a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e quase insolúvel em solventes orgânicos.<sup>2</sup> O glifosato tem um grupo fosfonato,  $R-PO(OH)_2$ , amino,  $R_2NH$ , e carboxilato,  $COOH$ .<sup>5</sup>

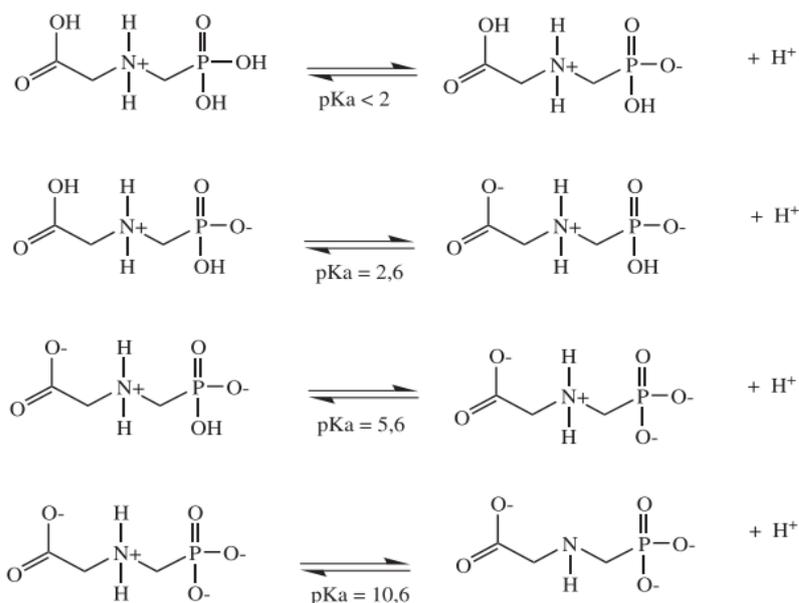
**Figura 1** - Fórmula estrutural do glifosato



Fonte: Coutinho, Luiz e Mazo (2005).<sup>5</sup>

Devido aos grupos presentes em sua estrutura, o glifosato tem a habilidade de formar complexos estáveis com metais, especialmente com os metais de transição, devido aos grupos carboxilato e fosfonato que se encontram desprotonados em condições de pH próximas à neutralidade. A possibilidade de múltiplos pontos de coordenação caracteriza o glifosato como um ligante quelante. Seus valores de pK são:  $pK_1 < 2$ ;  $pK_2 = 2,6$ ;  $pK_3 = 5,6$ ;  $pK_4 = 10,6$ , como mostrado na figura 2. <sup>5,6</sup>

**Figura 2** – Equilíbrios e constantes de dissociação do herbicida glifosato



Fonte: Coutinho, Luiz e Mazo (2005).<sup>5</sup>

Em valores de pH abaixo de 2 o glifosato encontra-se majoritariamente protonado, resultando em uma carga formal positiva, o que favorece interações com argilas presentes em solos já que normalmente apresentam carga formal negativa.<sup>5</sup> Em valores de pH na faixa de 2 a 6, cerca de 50% dos grupos carboxilato encontram-se desprotonados. De acordo com o aumento do pH, o número de cargas negativas no composto aumenta favorecendo a desprotonação do grupo fosfonato. Em valores de pH em torno de 5 a 6, 50% do grupo fosfanato está na forma  $\text{PO}_3\text{H}^-$  e 50% na forma  $\text{PO}_3^{2-}$ . Por fim, em condições de pH acima de 11 ocorre a desprotonação do grupo amino. Nessa condição, o glifosato se apresenta na forma trianiônica.<sup>1</sup>

### **2.1.2 Legislação brasileira**

No Brasil, o padrão de potabilidade da água é regulamentado pela Portaria do Ministério da Saúde nº 2.914 de dezembro de 2011. Segundo esta portaria, o valor máximo permitido (VMP) de glifosato em água potável é de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esse valor considera sua presença isolada ou em conjunto com o ácido aminometilfosfônico (AMPA, do inglês *aminomethylphosphonic acid*), seu principal metabólito.<sup>7</sup>

Na União Europeia, o VMP de glifosato em água potável diminuiu significativamente para  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esse valor somente é válido quando a concentração total de pesticidas não ultrapassa  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ . Sendo assim, comparativamente, a concentração permitida de glifosato no Brasil é 500 vezes maior.<sup>8</sup>

### **2.2 Métodos e técnicas analíticas utilizados na determinação de Glifosato**

Recentemente Valle *et al.* apresentaram uma revisão de literatura abordando os principais desafios a respeito da detecção do glifosato, em que se destaca sua ampla utilização global e difícil detecção por diferentes métodos analíticos. O principal desafio analítico deve-se principalmente às propriedades físico-químicas do glifosato como: alto caráter iônico, alta polaridade e solubilidade em água, baixa pressão de vapor, baixa solubilidade em solventes orgânicos, baixa massa molecular e formação de complexos favorecida devido efeito quelato. Técnicas fotométricas e fluorimétricas necessitam de derivatização devido à ausência de grupos cromóforos ou fluoróforos na molécula. As técnicas cromatográficas são as mais empregadas para o glifosato devido a alta sensibilidade e seletividade. No entanto, em técnicas de cromatografia líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*) também pode haver a necessidade de um pré-tratamento da amostra dependendo do detector utilizado.<sup>6</sup>

Em técnicas de LC acoplada a um espectrômetro de massas (MS, do inglês *mass spectroscopy*) não é necessário derivatizar a amostra com grupos cromóforos ou fluoróforos, porém, é requerido um longo tempo de análise e são relatados impactos adversos no tempo de vida da coluna. Por outro lado, a técnica de cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*) necessita de volatilização da amostra, e conseqüente derivatização considerando a baixa volatilização do glifosato. Embora os métodos citados apresentem alta sensibilidade e baixos limites

de detecção, os mesmos requerem o pré-tratamento da amostra e o uso de equipamentos de elevado custo de aquisição e manutenção.<sup>6,9</sup>

As técnicas eletroanalíticas se destacam frente às outras em razão de sua praticidade e baixo custo, aliadas a portabilidade do equipamento, o que permite o fácil transporte, ideal para as análises em campo. No entanto, o maior desafio em detectar glifosato por técnicas eletroanalíticas encontra-se na sua estrutura química não eletroativa. Dessa maneira, buscam-se estratégias alternativas para a sua detecção como: (i) o foco no eletrodo de trabalho, com a modificação de sua superfície, para determinação direta ou indireta ou (ii) o foco no analito, através de sua derivatização. Recentemente, relatou-se o desenvolvimento de um sensor eletroquímico baseado em polímeros com impressão molecular dupla (MIP, do inglês *molecularly imprinted polymers*) visando a detecção simultânea de glifosato e glufosinato, ambos herbicidas.<sup>9</sup> Neste caso, a fim de tornar o analito eletroativo, o glifosato foi derivatizado com um grupo nitroso (R-NO). A modificação com polímero impresso foi utilizada como estratégia para aumentar a seletividade do eletrodo.

Cao *et al.* desenvolveram um sensor eletroquímico de ITO (óxido de estanho dopado com índio) modificado com um material de Cu-BTC para detecção de glifosato. Nesse caso, a modificação com o íon cobre apresenta sinal de oxidação e redução, resultando inicialmente em uma resposta de corrente pronunciada. Durante a análise com glifosato, por causa de seu efeito quelante causado pelo grupo fosfato, grupos amino e carboxila, ocorre a adsorção do analito no centro metálico de cobre (II), presente nas estruturas Cu-BTC.<sup>10</sup> O complexo formado dificulta a transferência de elétrons, diminuindo a corrente de resposta do filme de Cu-BTC. Nesse caso, a diminuição da resposta de corrente é diretamente proporcional à concentração de glifosato no meio.

### 2.3 Complexos de Cu (II) com glifosato

Estudos por Madsen *et al.* mostram as constantes de estabilidade de complexos metálicos com glifosato, das quais a constante do complexo de cobre II se destaca frente às outras, conforme a Tabela 1. A constante de estabilidade (K) de um complexo é definida pela relação entre a concentração do complexo formado e a concentração dos ligantes livres em solução, e portanto, quanto maior o valor de K, maior a estabilidade do complexo metálico. Os valores de K podem também ser expressos em log K. <sup>11</sup>

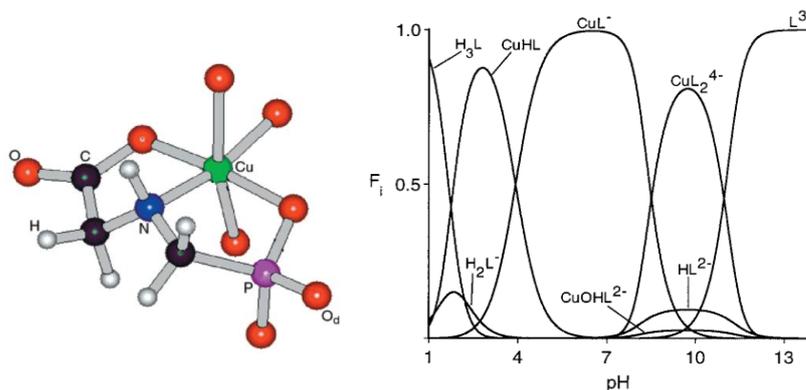
**Tabela 1** - Constantes de estabilidade (log K) de complexos metálicos com glifosato.

Cu(II)	Zn(II)	Mn(II)	Ca(II)	Mg(II)
11,92	8,4	5,53	3,25	3,25

Fonte: Madsen *et al.* (1978).<sup>11</sup>

Um dos possíveis complexos para glifosato e Cu (II) é um complexo 1:2 ( $\text{CuL}_2^{-4}$ ), onde Sheals *et al.* sugerem que os átomos de nitrogênio dos grupos amina se coordenam um na posição axial e outro na equatorial.<sup>2</sup> Outra possibilidade é o complexo 1:1 ( $\text{CuHL}$  e  $\text{CuL}^-$ ), em que o glifosato ocupa três das seis posições, formando um octaedro distorcido devido ao efeito Jahn Teller, e as outras três posições são ocupadas por moléculas de água. Desta maneira, uma molécula de glifosato forma dois anéis quelatos com sua estrutura. As estruturas  $\text{CuHL}$  e  $\text{CuL}^-$  se diferenciam pela protonação do grupo fosfonato, que ocorre em pH abaixo de 3 (Figura 3).<sup>12</sup>

**Figura 3** - Imagem da esquerda: estrutura molecular do complexo CuL<sup>-</sup>. Imagem da direita: diagrama de espécies Cu(II)-Glifosato (pH 1 a 14), sendo F<sub>i</sub> a fração da espécie no meio.



Fonte: Sheals, Persson e Hedman (2001).<sup>12</sup>

## 2.4 Métodos de modificação

A modificação do eletrodo de trabalho com nanopartículas pode trazer muitas vantagens na detecção eletroquímica. Nanopartículas são formadas por partículas diâmetro tão pequenos (1-100 nm) que acabam tendo propriedades físicas e químicas diferentes daquelas quando em seu estado brutos. A mudança de propriedades ocorre devido ao aumento na razão entre a área de superfície e o volume dessas partículas, que acarretam em uma elevada área superficial, a qual auxilia no desempenho de processos catalíticos e de transferência de elétrons. Isso é de grande interesse para a eletroquímica, tendo em vista que o aumento na cinética de transferência de elétrons aumenta o desempenho de eletrodos, aumentando sua sensibilidade e facilitando a quantificação de analitos em nível de traços. Porém, imobilizar esses materiais no eletrodo de maneira que aumente sua funcionalidade é uma tarefa desafiadora.<sup>13</sup>

A relação entre área superficial do eletrodo e a intensidade de corrente gerada pode ser explicada pela equação de Randles-Sevick (Equação 1). Segundo a equação de Randles-Sevick esses dois termos são diretamente proporcionais, sendo assim, quanto maior a área superficial (A) do eletrodo, maior é o sinal de corrente ( $i_p$ ). Na equação,  $n$  é o número de elétrons transferidos durante a reação redox,  $D^0$  é o coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ),  $v$  a velocidade de varredura ( $\text{V s}^{-1}$ ), e  $C^0$  ( $\text{mol cm}^{-3}$ ) é a concentração da espécie eletroativa.<sup>14</sup>

$$i_p = 0.446nFAC^0 \left( \frac{nFvD_o}{RT} \right)^{1/2} \quad (\text{Equação 1})$$

Um método que pode ser utilizado é a eletrodeposição, como é feito por Regiart *et al.*, onde um filme nanoporoso de cobre é sintetizado via eletrodeposição em um microeletrodo de cobre. O eletrodo foi aplicado na detecção de glifosato, apresentando um limite de detecção de 4 nmol L<sup>-1</sup>.<sup>15</sup>

Considerando as estratégias de modificação, o método de adsorção física é amplamente empregado dada sua simplicidade e eficiência. Essa metodologia normalmente consiste no gotejamento (*drop-coating*) ou imersão do eletrodo na solução modificadora. Porém, devido a adsorção ser um processo de equilíbrio, pode ocorrer, durante a utilização do eletrodo, o processo de dessorção do modificador para o meio, reduzindo a vida útil do eletrodo.<sup>16</sup>

No trabalho de Bakhsh *et al.* foi desenvolvido um eletrodo de GCE modificado com nanopartículas de cobre estabilizadas em quitosana para detectar 4-nitroanilina. Para modificar o eletrodo, gotejou-se uma suspensão contendo nanopartículas, seguido de Nafion, que é um fluoropolímero muito utilizado como revestimento, criando uma membrana semipermeável em eletrodos modificados.<sup>17</sup>

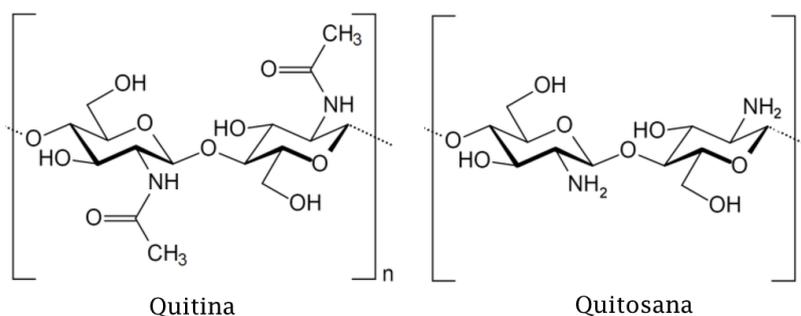
Arena *et al.* realizou uma síntese eletroquímica de nanopartículas de óxido de cobre dispersas em quitosana, e pelo método de *drop-coating* adicionou essa modificação na superfície de um eletrodo de ouro. Após evaporação do solvente, foram adicionadas algumas gotas de quitosana para formar uma membrana semipermeável.<sup>18</sup>

O método de *drop-coating* é prático, mas necessita de algum agente capaz de interagir com a superfície do eletrodo de trabalho, evitando a dessorção da espécie modificadora. Muitos trabalhos encontrados na literatura utilizam a quitosana para este fim, pois ela é um polímero natural e é capaz de se adsorver em diferentes tipos de superfícies.

## 2.5 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo obtido através da desacetilação da quitina (presente no exoesqueleto de crustáceos), apresentando grupos amino em sua estrutura (Figura 4).<sup>19</sup> Dentre as principais vantagens do uso de quitosana na construção de eletrodos modificados, pode se destacar a sua origem natural, abundante, de baixo custo e biodegradável.<sup>20</sup> Além disso, a quitosana tem propriedades diferenciadas devido seus grupos funcionais aminos e hidroxilas, que são capazes de complexar com metais, originando complexos, bionanocompósitos e hidrogéis.<sup>19</sup> A quitosana atua como uma base fraca e, apresenta um valor de pKa que pode variar de 6,3 a 7,2. Esse valor é decorrente dos grupos amino e, conseqüentemente depende do grau de desacetilação do biopolímero. A quitosana é apenas solúvel em valores de pH abaixo do pKa, devido à protonação dos grupos aminos ( $\text{NH}_3^+$ ).<sup>21</sup>

Figura 4 - Estrutura da quitina e da quitosana.



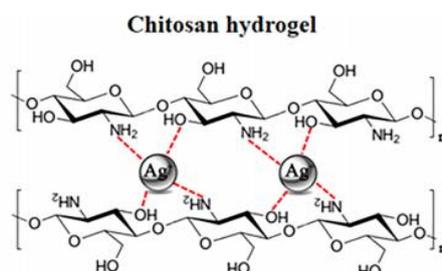
Fonte: Younes e Rinaudo (2015).<sup>23</sup>

### 2.5.1 Quitosana como estabilizante de íons metálicos

A capacidade da quitosana formar complexos com metais têm sido estudadas visando diferentes aplicações, como na remoção de íons metálicos de águas residuais. A quitosana é um ótimo adsorvente de metais pesados, com propriedades quelantes de 5 a 6 vezes maior que a quitina. A capacidade de formar complexos com metais de transição deve-se a presença dos grupos aminos em sua estrutura. Janegitz *et al.* empregaram quitosana para tratamento de efluentes contaminados por íons metálicos de mercúrio, cádmio, cobre, cromo e chumbo.<sup>22</sup>

O trabalho de Fu *et al.* propõe um hidrogel à base de quitosana usando íons de prata como agente de reticulação como modificador de superfície em um eletrodo de carbono vítreo, visando detecção eletroquímica de antioxidantes. A Figura 5 mostra a estrutura proposta para o hidrogel de quitosana com o íon prata.<sup>24</sup>

**Figura 5** - Estrutura do hidrogel de quitosana com o íon prata

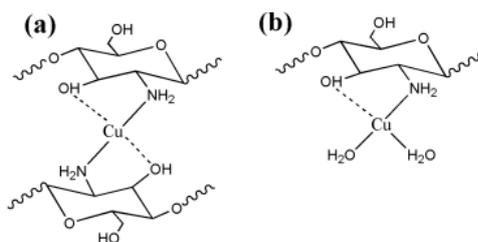


### **2.5.2 Quitosana como um estabilizante de íons e óxidos de cobre**

O trabalho de Li *et al.* utiliza um sistema combinado de quitosana e Cu (II) para formar um hidrogel biocompatível, antibactericida e resistente, com objetivo de ser utilizado na cicatrização de ferimentos. Nesse trabalho, o hidrogel de quitosana é reticulado sob atmosfera gasosa de amônia, para que a quitosana possa estabilizar o íon Cu (II) com seu grupo amino desprotonado.<sup>25</sup> A Figura 6 mostra duas possíveis estruturas resultantes da complexação entre os grupos funcionais da quitosana com íons de cobre, podendo ser classificados como o "modelo de ponte" e "modelo pendente". Nesses modelos o cobre assume uma configuração de quadrado planar. No "modelo de ponte" o cobre forma duas ligações com os grupos -NH<sub>2</sub> e duas ligações com os grupos -OH, enquanto. Por outro lado, no modelo pendente o cobre está ligado apenas a um grupo -NH<sub>2</sub> e um grupo -OH da quitosana.<sup>26</sup>

A quitosana tem sido utilizada como agente modificador de eletrodos, como feito por Janegitz *et al.*, que empregaram quitosana em um eletrodo de pasta de carbono para determinação de Cu (II) em amostras de águas. O trabalho propõe que o aumento na magnitude de corrente ocorre devido ao processo adsorptivo causado pela quelação dos íons Cu (II) com a quitosana imobilizada na superfície do eletrodo.<sup>19</sup>

**Figura 6** - Estrutura do hidrogel de quitosana com o íon cobre (II): (a) modelo de ponte e (b) modelo pendente.

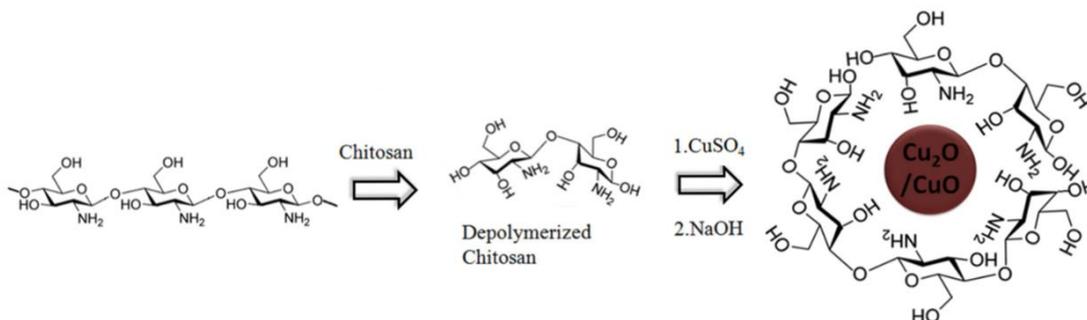


Fonte: Cai, Zeng e Fang (2015)<sup>26</sup>

No trabalho de Basumallick *et al.* uma dispersão de óxido de cobre em quitosana foi sintetizada, partindo-se de uma solução de CuSO<sub>4</sub>. Nesse caso, a quitosana como agente estabilizante e redutor do íon cobre (II) a cobre (I) (Figura 7).

27

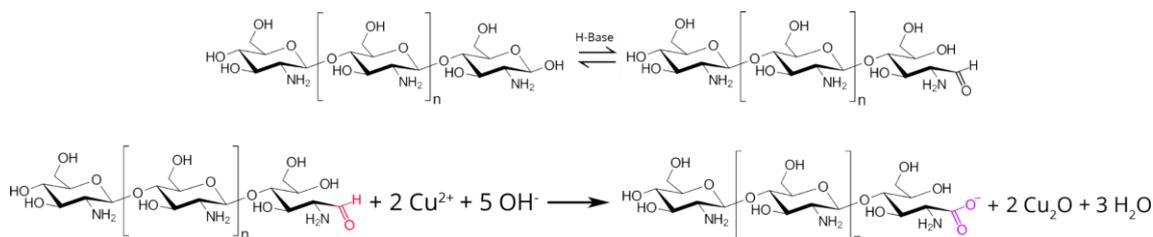
**Figura 7** - Esquema representativo de síntese e estabilização de nanopartículas de cobre em quitosana.



Fonte: Basumallick *et al.* (2012)<sup>27</sup>

A quitosana é capaz de agir como um agente redutor fraco. Isso ocorre pois nas extremidades de suas cadeias poliméricas existem grupos hemiacetais derivados de aldeído. Em meio básico, esses grupos entram em equilíbrio formando grupos aldeídicos, os quais são capazes de sofrer oxidação, formando ácido carboxílico (Figura 8). A reação de redução do Cu (II) com açúcares redutores, como a glicose e a glicosamina (monômero da quitosana), é uma reação muito conhecida, também chamada de teste de Benedict.

**Figura 8 - Reação de redução do cobre por quitosana**



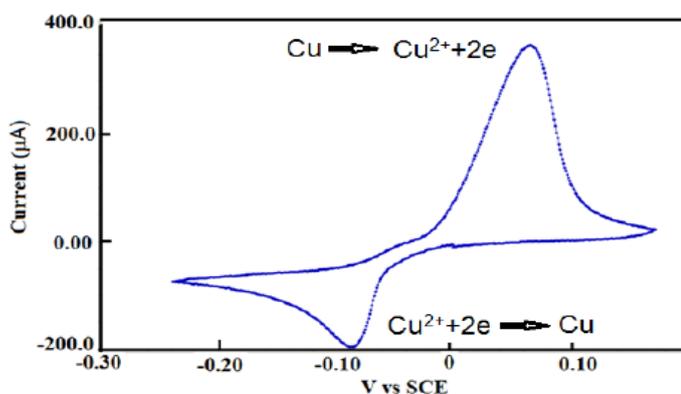
Fonte: A autora

## 2.6 Sistema quitosana, cobre e glifosato: uma solução eletroanalítica

Técnicas de eletroanálise fornecem uma resposta em intensidade de corrente resultantes da transferência de elétrons causada pela aplicação de um potencial. Nesse sentido, o foco da análise consiste principalmente na avaliação de um analito passível de sofrer processos de oxirredução.

O Cu (II) é um íon metálico, apresentando sinais anódico (oxidação) e catódico (redução) bem definidos, como pode ser visto na Figura 9. Foi abordado anteriormente que o glifosato é capaz de quelar o íon Cu (II), resultando em um produto de complexação estável.

**Figura 9 – Voltamogramas cíclicos de 10 mM de sulfato de cobre em 0,2 M de sulfato de sódio. Eletrodo de trabalho: Disco de Pt e Contra-eletrodo: haste de carbono.**



Fonte: Jaikumara *et al.* (2015)<sup>28</sup>

Essa interação que ocorre entre essas duas espécies pode ser usada como estratégia para a detecção indireta de glifosato por meio da inibição do sinal de redução do Cu (II), visto que o glifosato não é eletroativo. Essa estratégia foi explorada

recentemente por Cao *et al.* O complexo formado dificulta a transferência de elétrons, reduzindo a corrente de resposta do íon Cu (II). Nesse caso, a inibição do sinal de redução de Cu (II) a Cu (0) é proporcional a concentração de glifosato no meio.<sup>10</sup>

O Cu (II) apresenta uma ótima afinidade com a quitosana, podendo ser imobilizado na rede do biopolímero. Além disso, a quitosana também é capaz de interagir com o glifosato, possibilitando o desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em processos adsorptivos, como foi demonstrado por Do *et al.*<sup>29</sup> Assim, espera-se que a modificação do eletrodo de trabalho através da formação de um filme estável de quitosana contendo íons Cu (II) responda às concentrações de glifosato presente no meio, resultando em supressão do sinal da corrente catódica.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Esse trabalho tem como objetivo propor a detecção do glifosato por meios eletroquímicos através da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com um filme de quitosana e Cu (II).

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Sintetizar a solução modificadora de Cu (II) estabilizado em quitosana (Cu/CTS);
- Caracterizar a solução modificadora por espectroscopia UV-Vis;
- Otimizar as concentrações de quitosana e Cu (II) para a modificação do eletrodo;
- Estudar e discutir o comportamento eletroquímico do eletrodo modificado;
- Verificar o comportamento eletroquímico do eletrodo modificado frente ao analito glifosato;
- Otimizar as condições experimentais de análise e parâmetros da técnica;
- Estudar a utilização de um pré-tratamento no eletrodo de carbono vítreo antes da análise, com objetivo de aumentar sua estabilidade do filme;
- Construir uma curva de calibração nas condições otimizadas;
- Determinar parâmetros analíticos como faixa linear e limite de detecção.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes a serem utilizados neste trabalho são de elevado grau de pureza. As soluções foram utilizando água ultrapura, purificada pelo sistema Milli-Q (Millipore, Redford, MA, USA), com resistividade de 18,2 MΩ. A solução padrão de glifosato (Sigma-Aldrich, ≥99.9%) utilizada na curva de calibração foi preparada na concentração de 0,001 mol L<sup>-1</sup>. As medidas eletroquímicas foram realizadas em solução tampão Britton-Robinson (BR), preparado com ácido bórico (Synth, ≥99.5%), ácido fosfórico (Grupo Química, 85%), ácido acético (Vetec, 80%). O ajuste de pH de soluções na faixa de 5,8 - 7,4 foi realizado com o auxílio de solução de hidróxido de sódio 6 mol L<sup>-1</sup> (NaOH, Vetec, ≥99%).

As soluções estoque de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 5 mmol L<sup>-1</sup> e KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> (Sigma-Aldrich, ≥99%) foram preparadas em água ultrapura.

Para as soluções modificadoras foram utilizados os reagentes sulfato de cobre pentahidratado (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, Biotec), quitosana (Sigma-Aldrich, baixo peso molecular), ácido acético (Vetec, 80%) e NaOH (Vetec, ≥99%).

### 4.2 Instrumentação

Os experimentos foram realizados em uma célula eletroquímica de 10 mL, contendo três eletrodos: Ag/AgCl, KCl (3 mol L<sup>-1</sup>) como eletrodo de referência (RE, do inglês *reference electrode*), fio de platina (Pt) como contra eletrodo (CE, do inglês *counter electrode*) e eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *glassy carbon electrode*) modificado com as soluções de Cu/CTS como eletrodo de trabalho (WE, do inglês *working electrode*).

As análises voltamétricas foram realizadas com o auxílio de um potenciostato/galvanostato PalmSens (Palm Instruments BV – Holanda) conectado a um computador com o software PSTrace (versão 5.6) para tratamento dos dados. A partir deste sistema conectado por fios aos eletrodos da célula eletroquímica foi possível coletar os voltamogramas nas condições de análise pré-estabelecidas.

A caracterização eletroquímica do GCE, na presença e ausência da modificação, foi realizada em solução de  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, utilizando as técnicas de voltametria cíclica (do inglês, *Cyclic Voltammetry* – CV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy* – EIS). Os voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de potencial de -0,2 V a +0,6 V. Para as medidas de EIS, foram utilizados os seguintes parâmetros: voltagem senoidal de 10 mV e faixa de frequência de 0,01 a 50000 Hz. Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em pH 6,5.

As verificações de pH foram realizadas com o uso de um conjunto medidor e eletrodo de vidro combinado da marca Ohaus (Modelo ST3100-F), após calibração.

A caracterização das soluções foi realizada em um espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV1601PC). Os espectros foram obtidos na região de comprimento de onda de 200 a 800 nm, em cubeta de quartzo (percurso óptico de 1 cm).

#### **4.3 Preparação das soluções de Cu (II) e quitosana (Cu/CTS)**

A solução estoque de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (1 mol L<sup>-1</sup>) foi preparada com água ultrapura. As soluções modificadoras de quitosana e cobre foram preparadas a partir da adição de alíquotas da solução de  $CuSO_4$  em soluções contendo quitosana (Sigma-Aldrich).

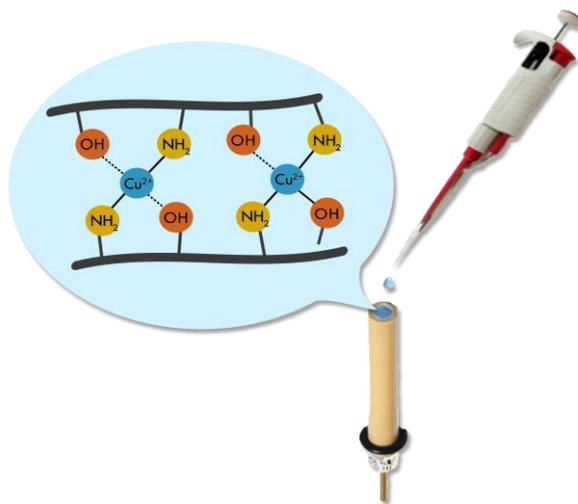
A solução de quitosana foi preparada inicialmente a 2,5% m/m, em meio contendo ácido acético (Vetec) a 2% (v/v), mas após adição de água, a concentração final de quitosana nas modificações foi de 1% (m/m). O volume adicionado de  $CuSO_4$  e de água nessas soluções modificadoras foi de modo que a concentração final de Cu (II) fosse 0,010 mol L<sup>-1</sup>, 0,025 mol L<sup>-1</sup> e 0,050 mol L<sup>-1</sup>. Após, foi adicionado a solução de Cu (II) e quitosana 40 uL de uma solução de NaOH 6 mol L<sup>-1</sup>.

#### **4.4 Preparação do eletrodo modificado**

Para cada modificação, foi necessário fazer a limpeza da superfície do eletrodo. Essa limpeza foi feita através do polimento da superfície com alumina (0,5 µm), seguida de uma lavagem com água destilada. A solução Cu/CTS foi gotejada (4 uL)

na superfície do GCE, o qual foi deixado em estufa por 15 minutos, na temperatura de aproximadamente 40 °C (Figura 10). Após cada análise, o mesmo GCE foi submetido a procedimento de limpeza e novamente modificado outras análises. Em todas as medidas, utilizou-se um GCE com área geométrica igual a 3 mm<sup>3</sup>. As análises voltamétricas foram feitas logo após a modificação.

**Figura 10** - Esquema representativo das interações entre os grupos aminos e hidroxila da quitosana e da modificação por *drop-coating* do hidrogel no eletrodo de carbono vítreo.



Fonte: A autora

#### 4.5 Desenvolvimento do método de análise

O comportamento eletroquímico do eletrodo foi estudado para soluções produzidas com diferentes concentrações de cobre. O sinal eletroquímico do GCE modificado foi observado inicialmente por CV na presença do analito glifosato.

A otimização da técnica analítica foi feita na ausência do analito, a partir de análises de voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada. Após isso, foram estudados os parâmetros da técnica escolhida. Para a escolha dos parâmetros da técnica eletroanalítica, optou-se por aqueles que apresentaram o sinal de corrente mais intenso, sem que houvesse o comprometimento da qualidade do sinal analítico.

O método de análise foi empregado com objetivo de obter uma curva de calibração para o analito. A curva de calibração para o glifosato foi construída através da adição de alíquotas de uma solução padrão de glifosato em 10 mL de uma solução

tampão BR. A partir dessa curva, estipulou-se a faixa de linearidade do método e o limite de detecção (LOD) frente ao glifosato. O valor de LOD (Equação 2) foi calculado estatisticamente através do desvio padrão do coeficiente linear da curva de calibração (**s**) e do coeficiente angular da curva de calibração (**S**).<sup>30</sup>

$$LOD = \frac{3,3 \cdot s}{S} \quad (\text{Equação 2})$$

#### **4.6 Segurança no laboratório e destino dos resíduos gerados**

A segurança em laboratório é algo muito importante e deve ser levado a sério pelos seus usuários. O grupo AMPERE segue normas internas e o Manual de Regras Básicas de Segurança para Laboratórios de Química do DQ-UFSC. Atenção, cuidado e organização são essenciais para minimização de riscos dentro de um laboratório. Se faz obrigatório o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), como jaleco, luvas e calçados fechados. Devido a potencial periculosidade dos reagentes, é preciso sempre observar os avisos de segurança presentes nos frascos, como por exemplo os símbolos presentes em reagentes corrosivos, inflamáveis e tóxicos.

Sabendo que prevenir a geração de resíduos é melhor que tratá-lo, deve-se buscar sempre minimizar a produção deles. O planejamento e a organização das atividades realizadas foram essenciais para prevenir erros que acabam acarretando em uma geração indevida de resíduos. No caso das técnicas voltamétricas, as análises são feitas em sistemas aquosos e requerem pequenos volumes de solução, consequentemente minimizando volume dos resíduos gerados. Os principais resíduos que serão provenientes dos experimentos são constituídos por soluções contendo tampão fosfato e glifosato e, em menor quantidade também são gerados resíduos de soluções de sulfato de cobre e quitosana. Todos os rejeitos são acondicionados em recipientes separados com as devidas especificações e, posteriormente recolhidos pela empresa Proactiva Meio Ambiente Brasil Ltda, conforme o procedimento recomendado pelo programa de Gestão e Gerenciamento de Resíduos da UFSC.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Soluções de cobre e quitosana

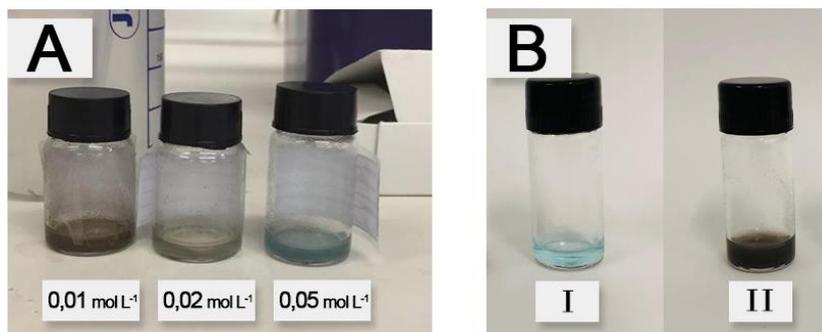
Após ter sido feita a adição de NaOH, as soluções de Cu/CTS apresentaram mudança de cor. A mudança de cor de azul para marrom indica a formação de óxidos no meio. A cor marrom indica uma dispersão de óxido vermelho de cobre (Cu<sub>2</sub>O) e óxido preto de cobre (CuO). A formação de CuO pode ter ocorrido por meio da formação inicial de hidróxido de cobre, como mostra a Equação 3. Por outro lado, a formação de Cu<sub>2</sub>O pode ter ocorrido devido a ação redutora da quitosana, como foi apresentado na Figura 8.<sup>31</sup>



Essa mesma observação foi feita por Arena *et al.* ao sintetizar nanocompósitos de cobre em quitosana. Segundo os autores do artigo, a cor da solução de quitosana e Cu (II) alterou de azul para marrom em pH maior que 5,5.<sup>18</sup> O mesmo foi observado por Basumallick *et al.*, onde a quitosana foi utilizada como agente redutor dos íons Cu (II) e estabilizante dos óxidos de cobre formados.<sup>27</sup>

A conclusão inicial deste trabalho foi de que a dispersão contendo 0,01 mol L<sup>-1</sup> de CuSO<sub>4</sub> teria uma maior concentração dos óxidos de cobre formado, pois era a que apresentava uma cor marrom mais intensa (Figura 11.A). Após 24h de repouso das dispersões, foi possível perceber que todas elas alteraram a coloração, indicando que durante esse período ocorreu a redução do cobre do meio. A Figura 11B mostra a diferença de cor entre uma dispersão feita a partir 0,050 mol L<sup>-1</sup> de CuSO<sub>4</sub> recém feita e outra após adição de NaOH estocada por 24h. Após 24 h, as dispersões foram aplicadas na superfície do GCE (Figura 12). Eletrodos de carbono vítreo são interessantes devido a sua ampla janela redox, baixa corrente capacitiva e facilidade de modificação através da construção de filmes planejados. O comportamento eletroquímico dos eletrodos modificados foi estudado por voltametria cíclica.

**Figura 11** - Modificações contendo diferentes concentrações de  $\text{CuSO}_4$  em quitosana (B) Solução  $0,050 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{CuSO}_4 + \text{NaOH}$ : (I) Após 1h (II) Após 24h.



Fonte: A autora

**Figura 12** - Modificação da superfície do eletrodo (GCE) com Cu/CTS.

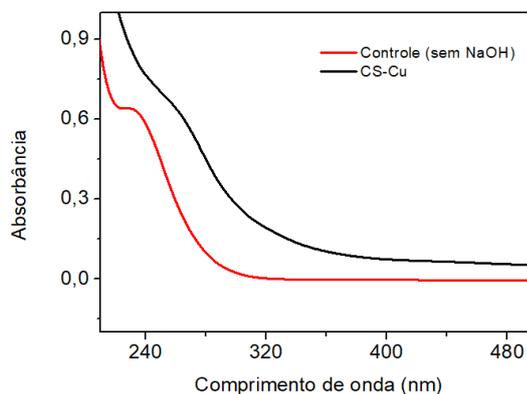


Fonte: A autora

### **5.1.1 Caracterização por espectroscopia UV-Vis**

A fim de caracterizar a dispersão de Cu/CTS, foram feitas duas análises por espectroscopia UV-Vis: uma antes (controle) e outra após a adição de NaOH (Figura 13). Nenhuma banda na região de 600 nm foi observada nesse espectro, uma região característica de bandas de efeito plasmon de nanopartículas de cobre, o que indica que a dispersão provavelmente não contém partículas em escala nanométrica de  $\text{Cu}^0$ . Percebe-se no espectro um deslocamento da banda da solução de controle, resultando em uma banda alargada na região de 250 - 300 nm. As bandas de ambos espectros podem ser da própria quitosana, sendo que o deslocamento pode ter ocorrido devido a mudança do pH do meio. Também é relatado bandas de nanocompósitos de óxido de cobre nessa mesma região.<sup>32, 33</sup>

**Figura 13** – Espectros de absorção molecular: (a) CTS/Cu antes da adição de NaOH; (b) CTS/Cu depois da adição de NaOH.



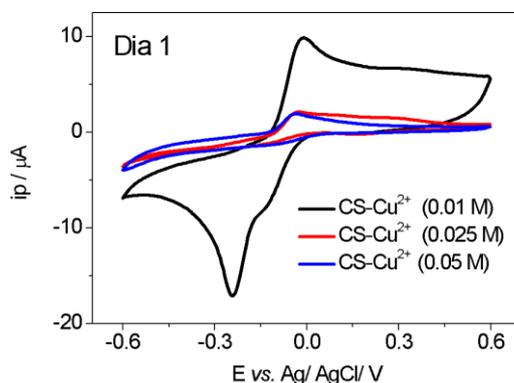
Fonte: A autora

### **5.1.2 Estudo eletroquímico: otimização da concentração de Cu (II) na modificação**

Para verificar a melhor concentração de  $\text{CuSO}_4$  na dispersão de Cu/CTS, foram coletados voltamogramas cíclicos no mesmo dia e 24h após o preparo das modificações. Os parâmetros utilizados para a análise foram uma faixa de potencial de  $-0,6 \text{ V}$  até  $+0,6 \text{ V}$  e  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

A Figura 14 apresenta o gráfico com os voltamogramas do Dia 1, imediatamente após a síntese, no qual pode-se observar que o voltamograma com maior intensidade dos sinais redox de cobre é aquele em que a modificação contém  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  de cobre. Essa solução teve sua cor alterada de azul para marrom já no primeiro dia, o que indica que o óxido de cobre presente na modificação provoca o aumento na intensidade dos picos.

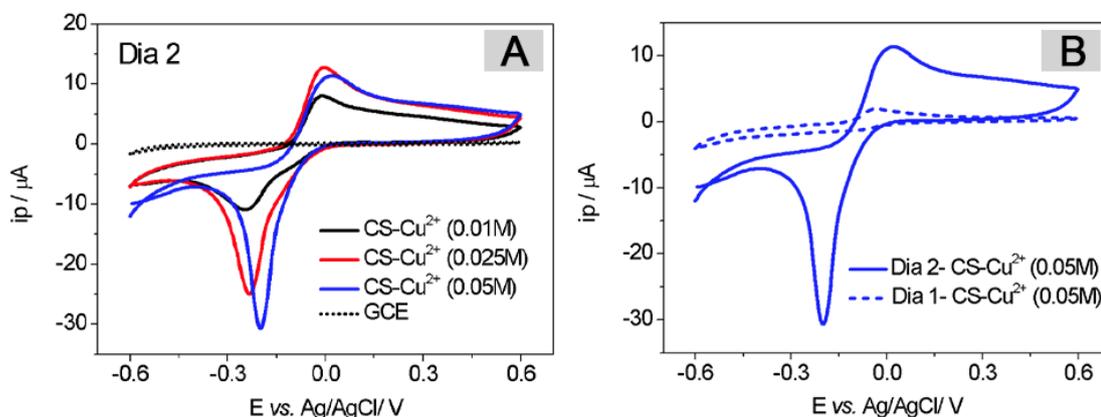
**Figura 14** - Dia 1: Voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo modificado (GCE-Cu/CTS) com diferentes concentrações de  $\text{CuSO}_4$  (0,01; 0,02 e 0,05 mol  $\text{L}^{-1}$ ), em solução tampão BR 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH 6,5),  $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ .



Fonte: A autora

As mesmas análises foram feitas com as dispersões de Cu/CTS no GCE 24h depois. A Figura 15 apresenta um gráfico com os voltamogramas obtidos neste segundo dia, e podemos perceber que a variação da intensidade dos sinais de corrente é diretamente proporcional à concentração de cobre em solução. Considerando que no segundo dia todas as dispersões já apresentavam coloração marrom escuro, podemos concluir que a intensidade dos picos pode ser associada com a presença de óxidos de cobre na superfície do eletrodo. A partir desse resultado, a dispersão de Cu/CTS de 0,05 mol  $\text{L}^{-1}$  foi escolhida para modificação do eletrodo. Considerando que o método consiste em ser uma análise indireta, essa escolha foi feita com a intenção de se obter um sinal de corrente capaz de conter uma maior faixa de trabalho.

**Figura 15** - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo modificado (GCE-Cu/CTS), em solução tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,5),  $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$  (A) Dia 2: GCE-Cu/CTS com diferentes concentrações de CuSO<sub>4</sub> (0,01; 0,02 e 0,05 mol L<sup>-1</sup>), 24 h após a síntese da modificação. (B) Comparação dos voltamogramas cíclicos do Dia 1 e Dia 2 do GCE-Cu/CTS ([CuSO<sub>4</sub>] = 0,05 mol L<sup>-1</sup>).



Fonte: A autora

## 5.2 Caracterização eletroquímica da superfície do GCE modificado

As técnicas de voltametria cíclica (CV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) podem ser empregadas em um sistema contendo o par redox K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>], com objetivo de investigar o comportamento eletroquímico do eletrodo.

A Figura 16.A apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos em solução redox de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] para o GCE na ausência e presença da modificação de Cu/CTS. Ao comparar os voltamogramas da Figura 16.A, percebe-se que a modificação resulta no aumento da intensidade dos picos anódicos e catódicos, indicando que a modificação feita no eletrodo facilita transferência de elétrons na interface eletrodo/solução.

No mesmo gráfico, percebe-se a diminuição na distância entre os picos de redução e oxidação ( $\Delta E_p$ ). O  $\Delta E_p$  diz respeito à reversibilidade da reação, sendo  $59,2/n \text{ mV}$  ( $n$ =número de elétrons) um  $\Delta E_p$  ideal para reações reversíveis. Por outro lado, quanto maior o valor do  $\Delta E_p$ , há um certo comprometimento do processo de transferência de elétrons na superfície do eletrodo, o que torna a reação menos reversível. O Quadro 1 mostra os valores de corrente dos picos com seus respectivos potenciais de oxidação e redução. A diminuição do  $\Delta E_p$  de 176,25 mV para 125,86

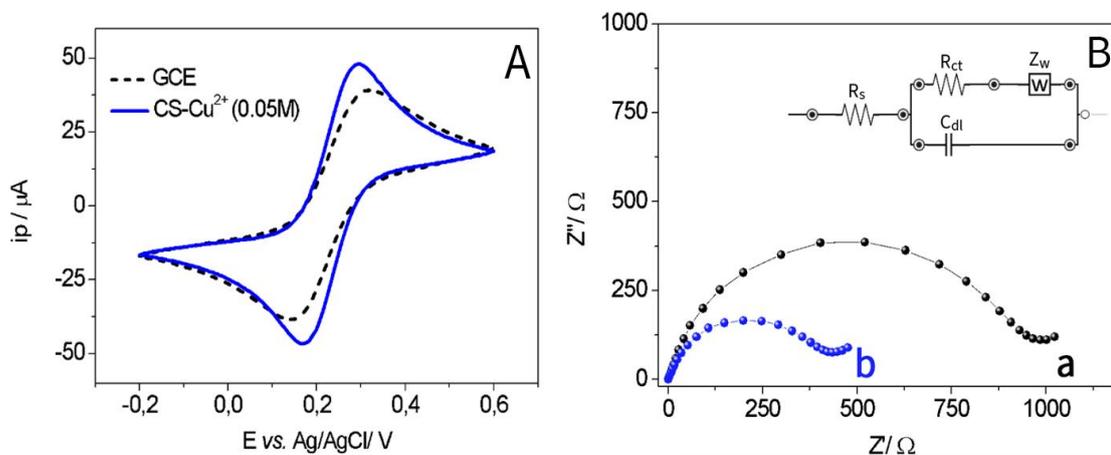
mV significa que a modificação aumentou a reversibilidade das reações redox na superfície do eletrodo de carbono vítreo. <sup>14</sup>

A razão entre as correntes catódicas e anódicas é um dos critérios para avaliar a reversibilidade das reações.<sup>34</sup> Um sistema reversível tem  $i_{pa} / i_{pc}$  constante e igual a um. O sistema estudado obedeceu a condição de igualdade, porém a distância entre picos obtida o descaracteriza como um sistema reversível, sendo então classificado como um sistema *quasi-reversível*.

**Quadro 1** - Valores de corrente e potencial de pico referente aos voltamogramas da Figura 3A

Eletrodo	$i_{pa}$ ( $\mu A$ )	$i_{pc}$ ( $\mu A$ )	Razão $i_{pa} / i_{pc}$	$E_{pa}$ (V)	$E_{pc}$ (V)	$\Delta E_p$ (mV)
GCE	39,1538	-38,4364	1,0187	0,31863	0,14238	176,25
GCE-Cu/CTS	47,9396	-46,6128	1,0285	0,29348	0,16762	125,86

**Figura 16** - (A) Voltamogramas cíclicos comparativos do GCE e GCE-Cu/CTS. (B) Dados de EIS para GCE e GCE-Cu/CTS; em um sistema contendo 5 mmol L<sup>-1</sup> de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] e 0,1 mol L<sup>-1</sup> KCl,  $\nu = 50,0$  mV s<sup>-1</sup>.



Fonte: A autora

A técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) é utilizada para verificar as características elétricas da interface eletrodo/solução, podendo ser aplicada em um sistema contendo o par redox  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ . As características elétricas do eletrodo mudam de acordo com a modificação empregada na superfície.

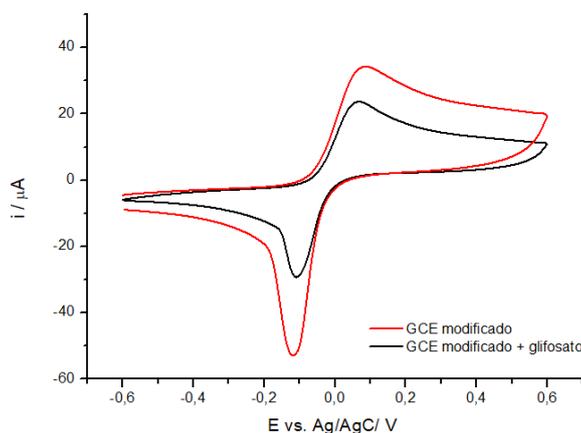
A Figura 16.B apresenta dois gráficos de Nyquist ( $-Z''$  vs.  $Z'$ ). O diâmetro do semicírculo formado no gráfico corresponde a resistência de transferência de cargas ( $R_{ct}$ ) existente em cada superfície analisada. O gráfico do GCE modificado com Cu/CTS apresentou um valor de  $R_{ct}$  de 428 Ohm, enquanto o do GCE não modificado apresentou um  $R_{ct}$  de 971 Ohm. Portanto, podemos afirmar que o eletrodo modificado apresenta uma menor resistência a transferência de cargas, facilitando a transferência de elétrons. Esses resultados corroboram com as análises de voltametria cíclica. Essa característica de melhora na condutividade do eletrodo já é conhecida em sistemas onde a modificação apresenta óxidos de cobre.<sup>18</sup>

O circuito equivalente da reação eletroquímica desse sistema está inserido na Figura 16.B. O componente  $R_s$  é a resistência de solução, uma resistência ôhmica que ocorre entre o eletrodo de trabalho e de referência. O  $R_{ct}$  trata-se da resistência a transferência de cargas na interface eletrodo/solução. O  $C_{dl}$  é a capacitância da dupla camada elétrica, que se forma na interface eletrodo/solução. O componente  $Z_w$  é a impedância de Warburg, a qual trata das limitações de transferência de massa que ocorre durante os processos difusionais entre a solução e o eletrodo.<sup>35</sup>

### **5.3 Comportamento do eletrodo modificado com Cu/CTS frente ao analito glifosato**

O comportamento do eletrodo modificado frente ao glifosato foi inicialmente investigado por CV. A análise foi feita em 20 mL de uma solução de pH 7,0, com tampão BR. O voltamograma da Figura 17 foi obtido ao se aplicar uma faixa potencial  $-0,6$  V até  $+0,6$  V utilizando  $v = 50$  mV s<sup>-1</sup>.

**Figura 17** – Voltamogramas cíclicos para GCE-Cu/CTS na presença e ausência de glifosato no meio, tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,5),  $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ .



Fonte: A autora

Observa-se na Figura 17 que a determinação de glifosato é possível de maneira indireta, ou seja, o sinal de corrente do cobre diminui ao adicionar 100  $\mu\text{L}$  de uma solução de glifosato. O glifosato é uma molécula capaz de quelar o íon  $\text{Cu (II)}$  presente na modificação, sendo assim, as reações redox do cobre são dificultadas devido a formação desse complexo.

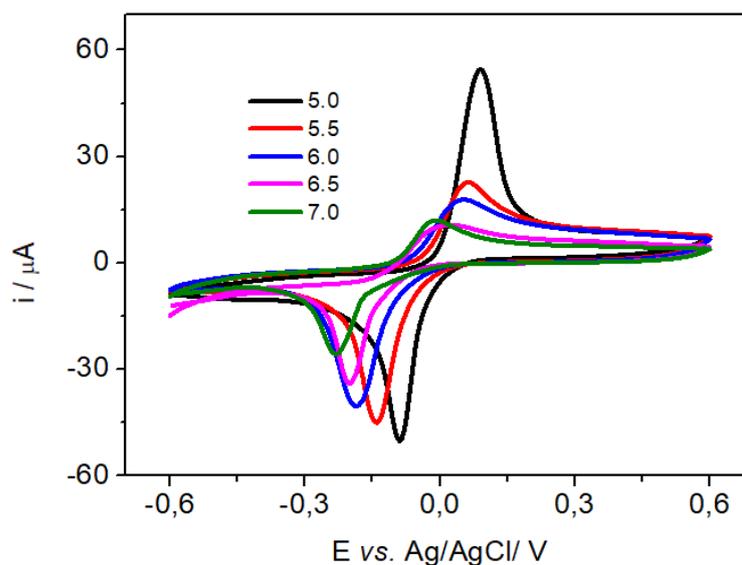
Uma adição sucessiva de glifosato no meio tenderá a reagir mais com o  $\text{Cu (II)}$ , o que causará uma diminuição gradativa do sinal. Isso possibilita a construção de uma curva de calibração para análise de glifosato no meio, em uma determinada faixa de concentração. Observou-se também que os sinais decorrentes do voltamograma do GCE modificado não estavam completamente estáveis. O que poderia estar ocorrendo é a lixiviação do cobre presente no filme, o que leva a uma diminuição no sinal de corrente a cada ciclo feito. Mas a diminuição acentuada do sinal só ocorreu após a adição do glifosato, sendo assim, a presença desse analito efetivamente diminui o sinal de corrente do cobre.

## 5.4 Otimização do pH

Os estudos performados neste trabalho foram todos feitos em pH 6,5. A escolha desse valor de pH está justificada segundo dados da literatura. Segundo Janegitz *et al.*, a maior estabilidade entre quitosana e Cu (II) ocorre em pH 6,0 - 7,0.<sup>19</sup>

As análises para verificar o comportamento do eletrodo modificado em diferentes valores de pH foram realizadas ao final da pesquisa (Figura 18). Verificou-se que a análise feita em pH 5 apresentou uma maior intensidade de sinal, o que pode indicar uma maior faixa de trabalho de para o eletrodo, visto que é uma análise indireta. Porém, os óxidos de cobre (espécie presente na modificação) não são tão estáveis em pH ácido. Além disso, como mostra a Figura 3 deste trabalho, a complexação entre cobre e glifosato tende a formar uma nova estrutura em pH ácidos, podendo trazer resultados diferentes ao estudo. Sendo assim, sugere-se novos estudos para o sistema desse trabalho em pH 5.

**Figura 18** - Voltamogramas cíclicos para GCE-Cu/CTS em soluções tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> obtidos em diferentes valores de pH: 5,0; 5,5; 6,0; 6,5 e 7,0.,  $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$  e faixa de potencial de +0,6 a -0,6 V.

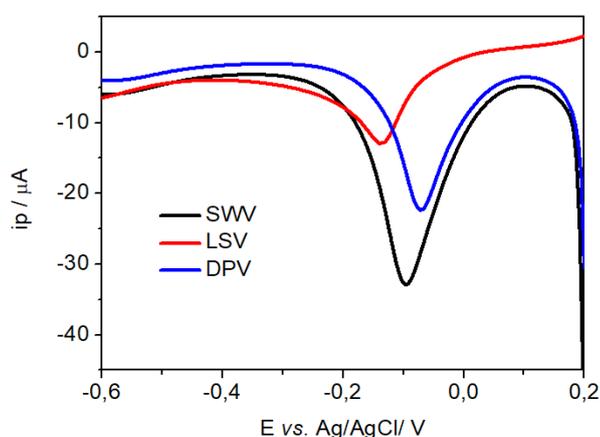


Fonte: A autora

## 5.5 Seleção da técnica eletroanalítica e otimização dos parâmetros experimentais

A avaliação do comportamento do glifosato frente ao eletrodo modificado foi feita com três técnicas voltamétricas diferentes, com objetivo de selecionar aquela que oferece melhor compromisso entre intensidade de corrente e qualidade do sinal analítico. As técnicas estudadas foram voltametria de varredura linear (LSV), voltametria de pulso diferencial (DPV) e voltametria de onda quadrada (SWV). Os voltamogramas obtidos por cada técnica foram sobrepostos para fins de comparação (Figura 19). Para fins comparativos, todas as medidas foram realizadas na velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

**Figura 19** - Voltamogramas coletados com GCE-Cu/CTS, tampão BR  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,5),  $\nu = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ , em diferentes técnicas eletroanalíticas.



Fonte: A autora

Na LSV o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia linearmente com o tempo, possibilitando uma varredura de uma ampla faixa de potencial. Porém, a leitura da corrente é feita de maneira direta, ou seja, a corrente capacitiva (ruído) não é descontada nesse tipo de análise, fazendo com que a técnica raramente seja usada para fins analíticos. <sup>34</sup>

Na DPV, pulsos de igual amplitude são aplicados sobre uma rampa linear de potencial. A aplicação de um pulso de potencial tem como objetivo medir a corrente do sistema em dois momentos: um antes da aplicação do pulso e outro ao final. O propósito de ter dois valores de corrente é subtrair o valor de corrente final do valor de

corrente inicial, o que desconta a corrente capacitiva. Esse desconto é possível pois a diminuição da corrente capacitiva é mais rápida do que a da corrente faradaica, sendo assim, no final do pulso há apenas a presença da corrente que se deseja medir (faradaica). Isso faz com que a técnica de DPV seja mais sensível que outras técnicas voltamétricas como a LSV ou CV. Essa estratégia de aplicação de pulsos, permite aumentar a sensibilidade do método, resultando em limites de detecção na faixa de  $10^{-7}$  a  $10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>.<sup>36, 37</sup>

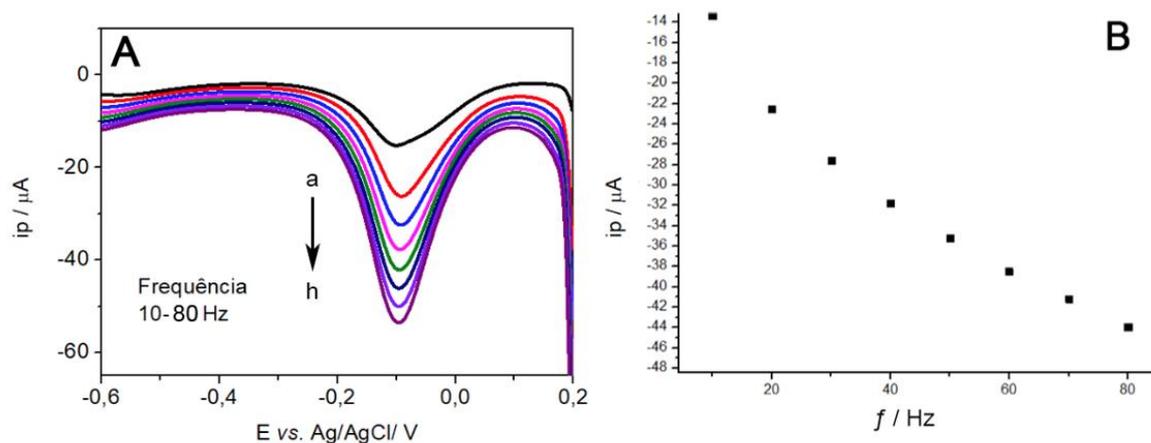
Na SWV também ocorrem compensações da corrente capacitiva, pois também é caracterizada como uma técnica de pulso. A vantagem é que a SWV é muito sensível para processos reversíveis e, mais rápida que a DPV. Na SWV, os pulsos são aplicados em forma de onda quadrada simétrica, superpostos sobre uma rampa de potencial em forma de degraus. A medida da corrente gerada após aplicação do pulso é feita duas vezes: uma após o pulso direto ( $i_1$ ) e outra após o pulso reverso ( $i_2$ ). O voltamograma de SWV apresenta somente um sinal de intensidade de corrente, o qual é obtido a partir da diferença entre a corrente direta e inversa ( $\Delta i = i_1 - (-i_2)$ ). A contribuição da corrente inversa é mais expressiva para sistemas reversíveis. O sistema deste trabalho (CuI/CuII) apresenta sinais de oxidação e redução, o que contribui para o aumento na intensidade da corrente final em análises de SWV. Sendo assim, isso explica o sinal do voltamograma de SWV ser mais intenso do obtido por DPV.

De acordo com a discussão abordada, a técnica escolhida para o sistema neste trabalho foi a SWV. Os parâmetros estudados e otimizados, visando melhorar a sensibilidade da técnica frente ao analito, foram frequência (f) e amplitude de pulso (a).<sup>36</sup>

### **5.5.1 Frequência**

Um dos parâmetros da SWV é a frequência do pulso. Para sua otimização, foram variados os valores de frequência de 10 Hz a 80 Hz, mantendo fixos os demais parâmetros:  $a = 60$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV. O resultado é apresentado na Figura 20, sendo 40 Hz o valor escolhido para a frequência. O resultado observado está de acordo com o documentado para sistemas reversíveis, onde afirma-se que o aumento da corrente é proporcional à raiz quadrada da frequência empregada.<sup>38</sup>

**Figura 20** - Voltamogramas de onda quadrada para o eletrodo modificado com Cu/CTS, em solução tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,5), obtidos em diferentes valores de frequência de aplicação de pulso: (a) 10; (b) 20; (c) 30; (d) 40; (e) 50; (f) 60; (g) 70 e (h) 80 utilizando como valores fixos: a = 60 mV e ΔEs = 2,0 mV.

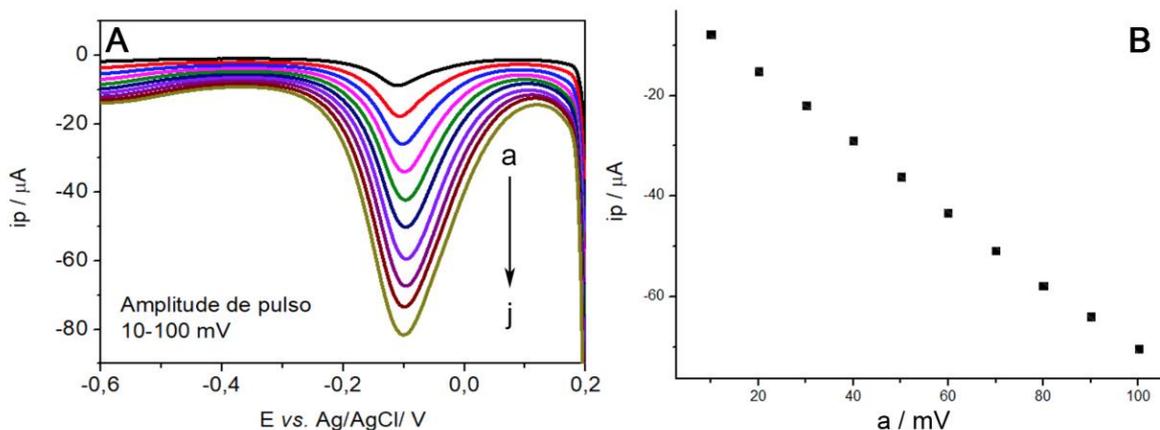


Fonte: A autora

### 5.5.2 Amplitude de pulso

A otimização da amplitude de pulso foi realizada a partir da variação do pulso aplicado na faixa de 10 mV a 100 mV, mantendo fixos os demais parâmetros ( $f = 40$  Hz e  $\Delta E_s = 2$  mV), conforme mostrado na Figura 21. As maiores amplitudes forneceram um maior valor de corrente, porém, tendo em vista que o aumento da largura do sinal é indesejado e, que trabalhar nos limites do aparelho não é indicado por conta do aumento de ruído, foi escolhido 60 mV como valor de amplitude.

**Figura 21** - Voltamogramas de onda quadrada para o eletrodo modificado com Cu/CTS, em solução tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,5), em diferentes valores de amplitude de pulso: (a) 10; (b) 20; (c) 30; (d) 40; (e) 50; (f) 60; (g) 70, (h) 80, (i) 90 e (j) 100, utilizando como valores fixos: f = 40 Hz e ΔEs = 2,0mV.



Fonte: A autora

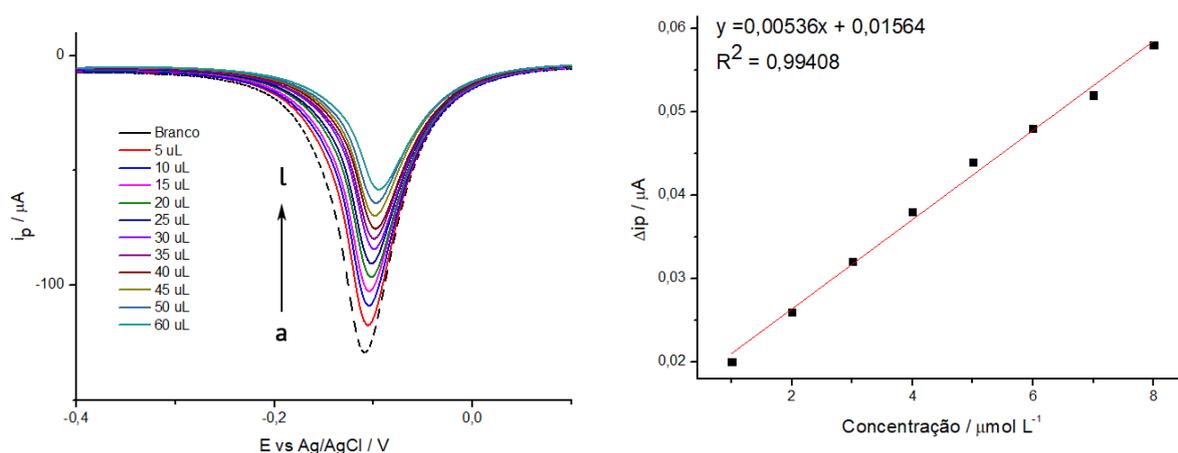
## 5.6 Curva de calibração

Antes de cada medida o eletrodo modificado foi pré-condicionado, aplicando um potencial negativo, de -1,0 V por 30 segundos. Esse parâmetro foi baseado no trabalho Regiart *et al.* onde nanopartículas de óxido de cobre foram eletrodepositadas em um microeletrodo de cobre, e um potencial catódico por aplicado com objetivo de regenerar o cobre (II) complexado com o glifosato no meio.<sup>15</sup> Supõe-se que durante a análise voltamétrica ocorre a lixiviação do íon Cu(II), que complexa com o glifosato no meio. Sendo assim, o potencial negativo tem como objetivo regenerar o cobre na superfície e manter a estabilidade do filme.

A curva de calibração para o glifosato foi construída através da adição de alíquotas de uma solução padrão de glifosato. A análise foi feita com o GCE modificado, empregando agitação de 30 s entre as medidas e todas as condições experimentais sugeridas anteriormente. A Figura 22 apresenta os voltamogramas de onda quadrada resultantes, os quais representam a supressão do sinal da reação redox do cobre devido a interação com o glifosato do meio. Por ser uma medida indireta, observa-se a diminuição das intensidades de corrente com o aumento da concentração de glifosato, no intervalo de concentração de  $5 \times 10^{-7}$  a  $1,5 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>.

O coeficiente de determinação obtido pela equação da reta da curva de calibração foi de 0,9941, com um coeficiente angular de  $0,00536 \pm 1,56129 \times 10^{-4} \mu\text{A L} \mu\text{mol}^{-1}$  e um coeficiente linear  $0,01564 \pm 7,88415 \times 10^{-4} \mu\text{A}$ . A partir destes valores foi possível calcular o valor de LOD em termos de massa do analito por volume da solução, sendo igual a  $81,9 \mu\text{g L}^{-1}$ . A faixa linear desta curva foi de  $169 - 1350 \mu\text{g L}^{-1}$ .

**Figura 22** - Voltamogramas de onda quadrada para GCE-Cu/CTS, em 10 mL de solução tampão BR  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,5), na presença de diferentes concentrações de glifosato: (a) 0; (b) 0,5 (c) 1; (c) 2; (d) 3; (e) 4; (f) 5; (g) 6, (h) 7, (i) 8, (j) 9, (k) 10, (l)  $15 \mu\text{mol L}^{-1}$  utilizando os parâmetros otimizados:  $f = 40 \text{ Hz}$ ,  $a = 60 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2,0 \text{ mV}$  (faixa de potencial de faixa de  $+0,4$  a  $-0,4 \text{ V}$ ).



Fonte: A autora

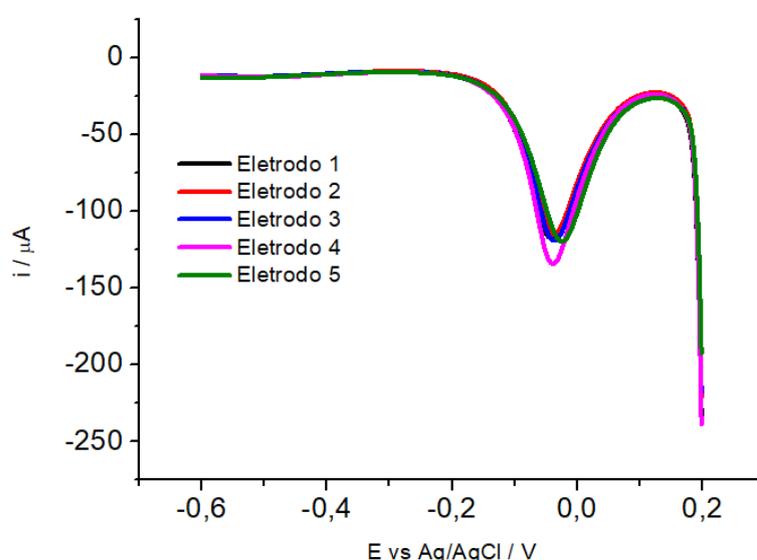
Observou-se experimentalmente que os dois primeiros pontos da análise ficaram fora da curva analítica, mas o comportamento dessa primeira região mostrou uma maior sensibilidade ao analito, sendo uma proposta para estudos futuros. Essa mesma observação foi feita por Cao *et al.*, onde submeteram as análises na faixa de concentração de  $1,0 \times 10^{-12}$  até  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .<sup>10</sup>

### 5.6.1 Repetibilidade

A repetibilidade do eletrodo modificado foi estudada em 10 mL de tampão BR (pH 6,5), na ausência do analito. Inicialmente foram feitos 10 ciclos em CV, com objetivo de estabilizar o sinal. Após, 5 leituras de diferentes filmes de Cu/CTS foram

feitas em SWV, onde utilizou-se o pré condicionamento 30 s a -1 V, medindo 3 vezes cada sinal. O valor obtido para a repetibilidade intradia mostrou uma boa precisão, apresentando um desvio padrão relativo entre os valores de corrente das medidas realizadas na ausência do analito de 7,26 % ( $n=5$ ). A Figura 23 mostra a sobreposição dos voltamogramas de onda quadrada de 5 diferentes eletrodos modificados preparados no mesmo dia.

**Figura 23** - Estudo de repetibilidade: voltamogramas de onda quadrada para 5 diferentes eletrodos modificados com Cu/CTS preparados no mesmo dia. Condições experimentais: solução tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,5),  $f = 40$  Hz,  $a = 60$  mV e  $\Delta E_s = 2,0$ mV.



Fonte: A autora

### 5.6.2 Métodos comparativos

Os estudos apresentados na Tabela 2 mostram dados de *performance* de diferentes tipos eletrodos modificados. As modificações realizadas nestes trabalhos tiveram como objetivo tornar o glifosato um analito eletroativo e aumentar a sensibilidade da técnica. A tabela apresenta dados de tipo de eletrodo, técnica eletroanalítica utilizada, pH do meio, LOD (em  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e a faixa linear de trabalho.

Quando comparado com os outros métodos desta tabela, o LOD obtido neste trabalho teve o maior valor. Porém, considerando a praticidade do método empregado, o qual envolve poucos reagentes e todos de baixo custo, entende-se que os resultados

obtidos são bons e servem ao seu propósito analítico. O valor de LOD obtido é menor que o valor permitido de glifosato em água potável no Brasil ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ), o que indica que o eletrodo poderia ser utilizado como uma estratégia para a detecção deste analito em amostras ambientais.

A Tabela 2 apresenta também os valores de pH em que foram feitas as análises de cada estudo. Todos os valores ficam na faixa de 5,5 - 7,4, adequando-se à análise de amostras como águas minerais e potáveis.

**Tabela 2** - Comparação de dados de performance para a determinação de glifosato deste trabalho e de outros trabalhos da literatura

Modificação	Eletrodo	Técnica	pH	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Ref
MIP-GNPs-PGE <sup>a</sup>	Grafite	DPASV	5,5	0,35	4 – 176	9
Cu-BTC MOF <sup>b</sup>	ITO <sup>c</sup>	DPV	5,5	$2,36 \times 10^{-5}$	$1,69 \times 10^{-4}$ – 0,169	10
Cobre nanoporoso	Cu $\mu\text{E}$ <sup>d</sup>	CV	7,0	0,51	5 – 11	15
Copper phthalocyanine/MWCN Ts <sup>e</sup>	GCE	DPV	7,4	2,02	140 - 1670	39
Cu/CTS	GCE	SWV	6,5	81,9	169 - 1350	Este trabalho

(a) Eletrodo de pasta de carbono com nanopartículas de ouro e impressão molecular do glifosato

(b) Estrutura metalorgânica de  $\text{Cu}^{2+}$  com o ligante 1,3,5 benzeno tricarboxilato

(c) Eletrodo de óxido de estanho e índio

(d) Microeletrodo de cobre

(e) Complexo de cobre com ftalocianina em nanotubos de carbono de paredes múltiplas

Com intuito de validar o método, recomenda-se como perspectiva futura a realização de um ensaio de recuperação. Essa análise consiste em adicionar uma quantidade conhecida do analito em uma matriz (ex: água de rio ou água de torneira), sendo feito em seguida a leitura dessa amostra seguindo o método proposto. A intensidade de sinal obtida pela análise deve ser posta na equação da curva de calibração, e deve resultar em um valor de concentração próximo ao valor adicionado do analito. Esse valor de concentração obtido através do método se chama valor de recuperação do analito, e deve estar entre 70 e 120%, com precisão de até  $\pm 20\%$

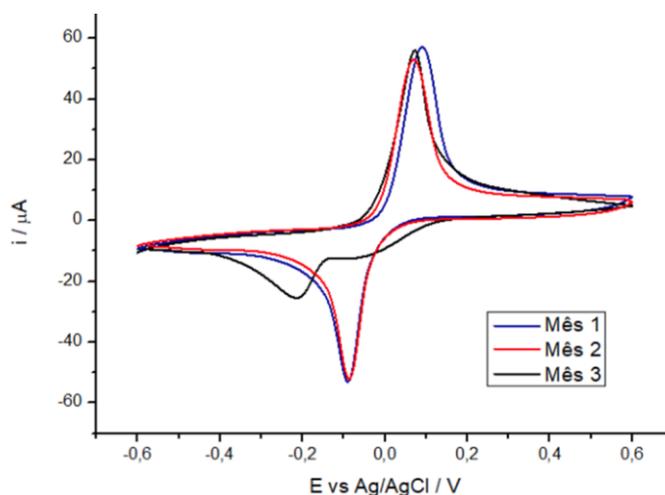
## 5.7 Estabilidade da dispersão Cu/CTS

A estabilidade da dispersão de cobre em quitosana foi avaliada por voltametria cíclica, comparando os sinais redox do cobre com eletrodos preparados em diferentes períodos, utilizando a mesma dispersão (Figura 24).

Nos três momentos de análise o pico anódico se manteve próximo a 0,09 V, sendo atribuído para as duas reações possíveis de oxidação do cobre ( $\text{Cu}^0$  para  $\text{CuI/CuII}$ ), pois ambos os picos aparecem em uma região muito próxima, ocasionando sobreposição dos sinais.<sup>41</sup>

Durante os primeiros dois meses a dispersão manteve a mesma resposta de sinal, em -0,10 V, o qual está atribuído a reação de redução de Cu (II) a  $\text{Cu}^0$ . Já no terceiro mês a dispersão mostrou um comportamento diferente, apresentando dois sinais catódicos: um sinal mais alargado em -0,10 V e um outro mais definido em -0,23 V, sendo atribuídos a reação de redução de Cu(II) a Cu(I) e Cu(I) a  $\text{Cu}^0$ , respectivamente. Este novo comportamento pode estar associado a um aumento na concentração de um dos tipos de óxidos na dispersão e também por conta de mudanças na morfologia do material, devido fenômenos de agregação das partículas.<sup>41</sup>

**Figura 24** - Avaliação da estabilidade eletroquímica da dispersão de Cu/CTS por voltametria cíclica utilizando eletrodos modificados com GCE-Cu/CTS preparados em diferentes períodos no intervalo de um mês. As análises foram realizadas em solução tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,5),  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$  na faixa de potencial de +0,6 a -0,6 V.



Fonte: Elaborado pela autora

Para saber exatamente o motivo dessa alteração, seria necessário a caracterização de cada uma das dispersões. A caracterização poderia ser feita por Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios X (do inglês *X-ray photoelectron spectroscopy* - XPS), a qual é capaz de detectar os elementos presentes na superfície do material e seus estados de oxidação. Esse tipo de caracterização foi usada por Basumallick *et al.* para verificar a presença da mistura de Cu (II) e Cu (I) na superfície da modificação composta por cobre em quitosana. Zhao *et al.* verificou por XPS que sua modificação, feita a partir de CuSO<sub>4</sub> em quitosana, continha óxidos de cobre além das nanopartículas de Cu<sup>0</sup>.<sup>27,41</sup>

## 6. CONCLUSÃO

A síntese desenvolvida para a modificação do eletrodo levou a formação de óxidos de cobre estabilizados em quitosana, a qual foi caracterizada por espectroscopia UV-VIS. A concentração de Cu (II) otimizada presente na modificação foi a de  $0,050 \text{ mol L}^{-1}$ . O comportamento eletroquímico do eletrodo modificado foi observado por CV e EIS, podendo-se concluir que a modificação forneceu ao eletrodo uma menor resistência à transferência de carga.

A resposta do eletrodo modificado frente ao glifosato foi inicialmente observada por CV; utilizou-se a SWV para a determinação do analito. O comportamento se mostrou similar ao predito inicialmente, onde houve uma diminuição na intensidade no sinal de corrente referente às reações de oxirredução do cobre de acordo com o aumento da concentração de glifosato no meio.

Todos os parâmetros voltamétricos foram otimizados previamente ao preparo da curva de calibração. O método desenvolvido mostrou ser uma estratégia promissora para a detecção de glifosato. O limite de detecção obtido no método foi de  $81,9 \mu\text{g L}^{-1}$ , sendo um valor que obedece o limite recomendado pela ANVISA para glifosato em amostras de águas potáveis.

Estudos adicionais de pH mostraram uma possível condição experimental, em pH 5, que pode vir a ser estudada para melhor compressão. Além disso, se fazem necessárias mais análises de caracterização para uma melhor compreensão das espécies formadas na modificação sintetizada. A caracterização poderia vir a ser acompanhada pela técnica de XPS, além de espectroscopia UV-VIS, para uma melhor compreensão morfológica. Como perspectiva final, sugere-se a elaboração de um protocolo de análises para detecção do glifosato, com objetivo de aplicação para amostras reais de águas potáveis e águas minerais.

## 7. REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> AMARANTE, O. P. et al. Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quim Nova**. 25, 589–593, 2012.
- <sup>2</sup> FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides Glyphosate N-(phosphonomethyl)glycine. **FAO**. 2016.
- <sup>3</sup> CUNHA, C. S. et al. Comparação de métodos na detecção de sementes de soja geneticamente modificada resistente ao glifosato. **Rev Bras de Sementes**. 27, 167–175, 2005.
- <sup>4</sup> WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chemical fact sheets of WHO Guidelines for Drinking-water Quality: Glyphosate and AMPA in Drinking-water. **WHO**. 3<sup>rd</sup> edition, 2004.
- <sup>5</sup> COUTINHO, C. F.; LUIZ, E.; MAZO, H. Complexos Metálicos com o Herbicida Glifosato. **Quim Nova**. 28(6), 1038-1045, 2005.
- <sup>6</sup> VALLE, A. L. et al. Glyphosate detection: methods, needs and challenges. **Environ Chem Lett**. 17(1), 291–317, 2019.
- <sup>7</sup> BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Disponível em: [bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html) Acesso em: 20 out. 2020.
- <sup>8</sup> AMARANTE JUNIOR, O. P. et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quim Nova**. São Paulo, 25, 589-593, Julho 2002.
- <sup>9</sup> PRASAD, B. B.; JAUHARI,, D., TIWARI, M. P. Doubly imprinted polymer nanofilm-modified electrochemical sensor for ultra-trace simultaneous analysis of glyphosate and glufosinate. **Biosen Bioelectron**. 59, 81-88, 2014.
- <sup>10</sup> CAO, Y. et al. An electrochemical sensor on the hierarchically porous Cu-BTC MOF platform for glyphosate determination. **Sensor Actuat B-chem**. 283, 487–494, 2019.

- <sup>11</sup> MADSEN, H. E.; CHRISTENSEN, H. H.; GOTTLIEB-PETERSEN, C.; Stability Constants of Copper (II), Zinc, Manganese(II), Calcium and Magnesium Complexes of N-(phosphonomethyl)glycine (Glyphosate). **Acta Chem Scand A.** 32, 79-83, 1978.
- <sup>12</sup> SHEALS, J.; PERSSON, P.; HEDMAN, B. IR and EXAFS Spectroscopic Studies of Glyphosate Protonation and Copper(II) Complexes of Glyphosate in Aqueous Solution. **Inorg Chem.** 40, 4302–4309, 2001.
- <sup>13</sup> BAIG, N.; SAJID, M.; SALEH, T. A. Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. **TRAC - Trend Anal Chem.** 111, 47-61, 2011.
- <sup>14</sup> ELGRISHI, N. et al. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **J Chem Educ.** 95, 2, 197–206, 2018.
- <sup>15</sup> REGIART, M., KUMAR, A., GONÇALVES, M. J. et al. An Electrochemically Synthesized Nanoporous Copper Microsensor for Highly Sensitive and Selective Determination of Glyphosate. **ChemElectroChem.** 1558-1566, 2020.
- <sup>16</sup> PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Quim Nova.** São Paulo , 25, 1012-1021, 2002.
- <sup>17</sup> BAKHSH, E. M.; ALI, F.; KHAN, S. B. et al. Copper nanoparticles embedded chitosan for efficient detection and reduction of nitroaniline. **Int J Biol Macromol.** 131, 666-675, 2019.
- <sup>18</sup> ARENA, A.; SCANDURRA, G.; CIOFI, C. Copper oxide chitosan nanocomposite: Characterization and application in non-enzymatic hydrogen peroxide sensing. **Sensors.** 17, 2198, 2017.
- <sup>19</sup> JANEGITZ, B. C., MARCOLINO, L. H.; FATIBELLO, O. Determinação voltamétrica por redissolução anódica de Cu(II) em águas residuárias empregando um eletrodo de pasta de carbono modificado com quitosana. **Quim Nova.** 30(7), 1673–1676, 2007.
- <sup>20</sup> AZEVEDO, V. V. et al. Chitin and Chitosan: Applications as Biomaterials. **REMAP.** 2(3), 27–34, 2007.
- <sup>21</sup> GONÇALVES, A. et al. Diferentes Estratégias Para A Reticulação De Quitosana. **Quim Nova.** 34(7), 1215–1223, 2011.

- <sup>22</sup> YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. **Mar Drugs**. 13(3), 1133–1174, 2015.
- <sup>23</sup> JANEGITZ, B. C. et al. Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. **Quim Nova**. 30(4), 879–884, 2007.
- <sup>24</sup> FU, L.; WANG, A. et al. Electrochemical antioxidant screening based on a chitosan hydrogel. **Bioelectrochemistry**, 121, 6, 2018.
- <sup>25</sup> LI, P. et al. Preparation of chitosan-Cu<sup>2+</sup>/NH<sub>3</sub> physical hydrogel and its properties. **Int J Biol Macromol**. 133, 67–75, 2019.
- <sup>26</sup> CAI, Y.; ZHENG, L.; FANG, Z. Selective adsorption of Cu(II) from an aqueous solution by ion imprinted magnetic chitosan microspheres prepared from steel pickling waste liquor. **RSC Adv**. 5(118), 97435–97445, 2015.
- <sup>27</sup> BASUMALLICK, S.; SANTRA, S. Chitosan coated copper-oxides nanoparticles: A novel electro-catalyst for CO<sub>2</sub> reduction. **RSC Adv**. 4, 63685–63690, 2014.
- <sup>28</sup> JAIKUMARA, A.; SANTHANAMA, K.; KANDLIKARA, S et al. Electrochemical Deposition of Copper on Graphene with High Heat Transfer Coefficient. **ECS Transactions**. 66, 55–64, 2015.
- <sup>29</sup> DO, M. H. et al. Chitosan-Based Nanocomposites for Glyphosate Detection Using Surface Plasmon Resonance Sensor. **Sensors**. 20(20), 1–19. 2020.
- <sup>30</sup> INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE. INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8\\_05.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf). Acesso em: 29 out. 2020.
- <sup>31</sup> SIRIPHANNON, F. P.; IAMPHAOJEEN, Y. Facile synthesis of chitosan/CuO nanocomposites for potential use as biocontrol agents. **PAN**. 66, 3, 2018.
- <sup>32</sup> AZIZ, S. B. et al. Investigation of Metallic Silver Nanoparticles through UV-Vis and Optical Micrograph Techniques. **Int J Electrochem Sc**. 12, 363 – 373, 2017.

- <sup>33</sup> SANKAR, R. et al. Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using Carica papaya and its application in photocatalytic dye degradation. **Spectrochim Acta A**. 121, 746-50, 2018
- <sup>34</sup> PACHECO, W. F. **Desenvolvimento e comparação de métodos voltamétricos para a determinação de ciclofenil e primaquina em medicamentos e em urina**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, PUC-Rio. Rio de Janeiro; p. 28-49. 2004.
- <sup>35</sup> Princeton, A.R. **Application Note AC-1: Basics of Electrochemical Impedance Spectroscopy**. Disponível em: [www.ameteki.com/library/application-notes/princeton-applied-research](http://www.ameteki.com/library/application-notes/princeton-applied-research). Acesso em: 02 out. 2020.
- <sup>36</sup> ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e técnicas. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. **Chemkeys**. 2003.
- <sup>37</sup> SCHOLZ, F. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. **ChemTexts**. 1, 17, 2015.
- <sup>38</sup> SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Quim Nova**. São Paulo 26, 81-89, 2003 .
- <sup>39</sup> MORAES, F. C.; MASCARO, L. H.; MASCARO, S. A.; BRETT, C. M. Direct Electrochemical Determination of Glyphosate at Copper Phthalocyanine/Multiwalled Carbon Nanotube Film Electrodes. **Electroanal**. 22, 1586-1591, 2010.
- <sup>40</sup> RIBANI, Marcelo et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim Nova**. São Paulo, 27, 771-780, 2004.
- <sup>41</sup> ZHAO, Y.; ZHUGE, Z.; TANGA, Y.; TAO, J. Synthesis of a CuNP/chitosan/black phosphorus nanocomposite for non-enzymatic hydrogen peroxide sensing. **Analyst**. 2020.