



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

***Preparação de Eletrodos Quimicamente Modificados com Sílicas
Organofuncionalizadas, Aplicados à Detecção de Micropoluentes
Emergentes***

Aluno: Hernane de Toledo Barcelos

Orientador: Prof. Dr. Gesley Alex Veloso Martins

Co-Orientador: Prof. Dr Eric de Souza Gil (FF-UFG)

Brasília

2013

“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for.
O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem
qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?”

Fernando Pessoa

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às pessoas que tiveram imensa contribuição na minha formação e pelas quais sou e serei eternamente grato:

A minha mãe querida Maria Lúcia de Toledo Barcelos (*In Memoriam*), que sempre me ensinou sobre trabalho, dignidade, respeito e amor ao próximo. Uma mãe de verdade, que dedicou sua vida aos seus filhos. Espero um dia poder ser digno de estar novamente ao seu lado.

Ao meu pai Hélio Divino de Barcelos, por ser um exemplo de integridade e honestidade. Um homem que viu de tudo nesta vida, mas não desistiu de acreditar no ser humano.

Ao meu amigo e Orientador Gesley Alex Veloso Martins, por se dispor a enfrentar o desafio de orientar um aluno de doutorado em uma área de pesquisa não tão confortável para ele e por fazê-lo com grande sabedoria.

Ao meu eterno Orientador Alexandre Gustavo Soares do Prado, um gênio, um professor excepcional, um incompreendido, um amigo. Você se foi tão precocemente que não pude agradecer por toda a ajuda que me proporcionou e sem que eu pudesse expressar toda a admiração que lhe tinha (e tenho). Obrigado por tudo AGS!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido a vida e ter feito dela um infinito de felicidades e de ensinamentos. Agradeço pelos bons e maus momentos que tenho vivido, pois todos eles me trazem ensinamentos de grande valia.

Ao Prof. Dr. Gesley Alex Veloso Martins, por toda sua ajuda e pela coragem em aceitar me ajudar no final do meu projeto de doutorado.

Ao Prof. Dr. Eric de Souza Gil por seus ensinamentos, dicas e principalmente pela paciência em me ajudar com as medidas eletroquímicas.

Ao Prof. Dr. Edésio F. C. Alcântara, pela ajuda e pela a disponibilidade que me acolheu após a perda de meu orientador.

Ao Professor Luciano Lião pelas análises de RMN;

Ao meu velho amigo Leonardo François pela ajuda e pelas conversas na reta final do trabalho.

Aos novos companheiros Fernando Lino e Stefani Garcia que tanto me auxiliaram nas medidas eletroquímicas.

A minha esposa Luclecia Dias Nunes, que sempre me apoiou e muito contribuiu para que eu pudesse fazer um doutorado fora de minha cidade, além de me proporcionar a maior felicidade de minha vida, meu filho Henrico.

Aos professores do Instituto de Química da UnB que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

Neste trabalho foram preparadas duas sílicas quimicamente modificadas, a partir da sílica gel 60, com área superficial específica (S_{BET}) de $391,93 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. As sílicas foram inicialmente modificadas via reação de silanização com a molécula de 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) formando o material denominado SiN, que em seguida foi funcionalizado separadamente com o pesticida ácido-2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e com glutaraldeído por rota heterogênea, obtendo-se os materiais funcionalizados SiD e SiG respectivamente. Os materiais foram caracterizados através de análises elementares de C, H e N, medidas de porosidade, análises termogravimétricas, espectroscopia na região de infravermelho e RMN de ^{29}Si e ^{13}C . As análises elementares indicaram as quantidades de $1,15 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$ 2,4-D por grama de SiD e $1,57 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$ de glutaraldeído por grama de SiG. As medidas de área superficial, volume de poros e de diâmetro médio de poros dos materiais, mostraram uma diminuição em relação ao material de partida. Os espectros de FTIR apresentaram bandas características dos grupos imobilizados na superfície das sílicas. As superfícies funcionalizadas (SiD e SiG) foram utilizadas na confecção de eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados e estes eletrodos foram utilizados na detecção eletroquímica dos micropoluentes 2,4-D e catecol em soluções aquosas diluídas, sendo que para o último, foi também testada uma composição de SiG com lacase suportada. Foram efetuados estudos de voltametria cíclica, determinando-se a presença de um par redox para o 2,4-D em 150 e 482 mV e de um par redox para o catecol em 180 e 455 mV. Medidas de diferencial de pulso para se determinar os pHs ótimos para a detecção das analito foram efetuadas nos intervalos de redução dos analitos, determinando-se os valores ótimos de pH 3 e pH 5 para a quantificação de 2,4-D e catecol respectivamente. Foram construídas curvas de corrente de pico em função da concentração do analito nos pHs ótimos, afim de se atestar a viabilidade do uso dos materiais (SiD e e SiG) na obtenção como sensores eletroquímico, determinando-se assim os limites de detecção de 7,57 ppb para o 2,4-D e 0,300 ppb para o catecol.

Palavras-Chave: sensores, sílica, 2,4-D, micropoluentes, fenóis, voltametria.

ABSTRACT

In this work, were prepared two chemically modified silica from silica gel 60 with specific surface area (S_{BET}) of $391,93 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. The silicas were initially modified through silanization reaction with 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) forming SIN, which was then functionalized separately with the pesticide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and glutaraldehyde through the heterogeneous route, thus obtaining the materials SiD and SiG respectively. The materials were characterized by elemental analyzes of C, H and N, measurements of porosity, thermogravimetric analysis, infrared spectroscopy and ^{29}Si and ^{13}C NMR. Elemental analyzes indicated amounts of $1,15 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$ of 2,4-D per gram of SiD and $1,57 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$ of glutaraldehyde per gram of SiG. The surface area measurement, pore volume and average pore diameter of the materials, showed a decrease compared to the starting material. FTIR spectra showed characteristics bands from immobilized groups on the silica's surface. The functionalized surfaces (SiD and SiG) were used to manufacture carbon paste electrodes chemically modified and these were used in the electrochemical detection of catechol and 2,4-D micropollutants in dilute aqueous solutions, and for the last, it was also SiG tested with laccase supported sample. Cyclic voltammetry tests were carried out determining the presence of a redox couple for 2,4-D in 150 and 482 mV and a redox pair to catechol at 180 and 455 mV. Measurements of differential pulse to determine the optimum pH for the detection of analyte were performed at intervals of analytes reduction, establishing the optimum values of pH 3 and pH 5 for quantification of 2,4-D and catechol, respectively. Curves of peak current as function of analyte concentration at optimum pH were performed in order to attest the viability of (SiD SiG) material as electrochemical sensors, the detection limits of 7,57 ppb to 2,4-D and 0,300 for catechol were found.

Keywords : sensors , silica , 2,4- D , micropollutants , phenols , voltammetry

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	x
1.0 INTRODUÇÃO	01
2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	05
2.1 AGRICULTURA E CRESCIMENTO DEMOGRÁFICO	06
2.2 MICROPOLUENTES EMERGENTES	07
2.3 PRODUÇÃO AGRÍCOLA E O USO DE AGROQUÍMICOS	08
2.3.1 Herbicidas	09
2.4 PROBLEMAS AMBIENTAIS GERADOS PELOS AGROQUÍMICOS	09
2.5 O HERBICIDA 2,4-D	11
2.6 CONTAMINANTES FENÓLICOS	12
2.7 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE MICROPOLUENTES	13
2.8 A SÍLICA GEL – ESTRUTURA E REATIVIDADE	13
2.9 REAÇÕES NA SUPERFÍCIE DA SÍLICA	15
2.9.1 Modificação da superfície com agentes silanizantes	15
2.9.2 Funcionalização da superfície da sílica	16
2.10 – O ELETRODO DE PASTA DE CARBON QUIMICAMENTE MODIFICADO	17
2.10.1 Métodos de obtenção de eletrodos quimicamente modificados por oclusão com pasta de carbono	18
2.11 USO DE ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS COMO SENSORES	19
2.12 – BIOSENSORES	20

2.12.1 Biosensores para a análise ambiental	21
2.13 OS BIOSSENSORES BASEADOS EM ENZIMAS	21
2.13.1 Biosensores a base de lacase	23
3.0 OBJETIVOS	24
3.1 – OBJETIVO GERAL	25
3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4.0 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	27
4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	27
4.1.1 REAGENTES	27
4.1.2 SOLVENTES	28
4.1.3 EQUIPAMENTOS	28
4.2 MÉTODOS	29
4.2.1 Preparação das soluções	29
4.2.2 Ativação da sílica gel (SiOH)	30
4.2.3 Organofuncionalização da sílica aminopropiltrimetóxisilano	30
4.2.4 - Funcionalização da sílica com 2,4-D	32
4.2.5 – Imobilização do glutaraldeído na superfície de SiN	33
4.2.6 – Produção de lacase	34
4.2.7 – Imobilização da lacase	35
4.2.8 – Caracterização dos Materiais Preparados	35
4.2.8.1 Análises Elementares de C, H e N	35
4.2.8.2 Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR)	36
4.2.8.3 Análises Termogravimétricas (TG e DTG)	36

4.2.8.4	Determinação da porosidade dos materiais	36
4.2.8.5	Espectroscopia de RMN de ²⁹ Si no estado sólido	37
4.2.8.6	Espectroscopia de RMN de ¹³ C no estado sólido	38
4.2.9	– ESTUDOS ELETROQUÍMICOS	38
4.2.9.1	Preparação dos Eletrodos Quimicamente Modificados	39
4.2.9.2	– Estudo do efeito do pH sobre os materiais	41
4.2.9.3	– Determinação do limite de quantificação dos analitos	42
4.2.9.4	– Reprodutibilidade e Estabilidade dos sensores	42
5.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	– Síntese e Caracterização	44
5.2	– Análises Elementares de C,H e N	44
5.3	– Análises de Superfície	45
5.4	– Cálculo da distância média entre os ligantes (D) em SiD e (Glu) em SiG	48
5.5	– Análise dos Materiais por FTIR	51
5.6	– Análises Térmicas dos Materiais	55
5.7	– Espectroscopia de RMN de ²⁹ Si no estado sólido	61
5.8	– Espectroscopia de RMN de ¹³ C no estado sólido	62
5.9	- Estudos Eletroquímicos	66
5.9.1	– Voltametria Cíclica	66
5.9.2	– Estudo da composição da pasta de carbono	71
5.9.3	- O Efeito do pH sobre as medidas eletroquímicas	74
5.9.4	– Determinação dos micropoluentes 2,4-D e catecol por DPV	78
5.9.5	- Reprodutibilidade e Estabilidade dos Sensores	83

6.0	CONCLUSÃO	84
7.0	PERSPECTIVAS FUTURAS	88
8.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
8.0	ANEXOS	98

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Classes de enzimas baseadas em suas reações bioquímicas	22
Tabela 2 – Composição das pastas de carbono preparadas com as sílicas SiD e SiG.	38
Tabela 3 – Resultado das análises elementares de CHN dos materiais as	44
Tabela 4 - Área superficial (S_{BET}), variação da área superficial (ΔS), volume de poro (V_P) e diâmetro médio de poros (D_P) dos materiais.	47
Tabela 5 - Densidade superficial de moléculas ligantes (d), área ocupada por uma molécula ligante (H_a) e distância média entre as moléculas (l) em SiD e SiG	50
Tabela 6 - Dados da perda de massa das curvas termogravimétricas nos intervalos de temperatura para os materiais SiOH, SiN, SiD e SiG.	60

Lista de Figuras

Figura 1 – Produção agrícola de 1992 a 2019 em relação à produção no período de 2005 a 2007.	07
Figura 2- Participação Percentual das Classes no Valor das Vendas de Defensivos Agrícolas, Brasil 2012.	08
Figura 3 – Comportamento dos pesticidas no meio ambiente	10
Figura 4 – Fórmula estrutural do 2,4-D	11
Figura 5 – Unidade tetraédrica que compõe a estrutura da sílica gel	13
Figura 6 – Tipos de grupos silanóis na superfície da sílica: (1) livres; (2) vicinais conjugados; (3) vicinais isolados e (4) geminais.	14
Figura 7 – Desidratação da superfície da sílica, na formação do grupo siloxano em temperatura menor que 200 °C e em temperatura maior que 200 °C.	15
Figura 8 – Rotas utilizadas para a imobilização de um grupo organofuncional L em superfície de sílica gel SiOH: rota (A)-heterogênea e rota (B)-homogênea onde L (ligante) é um grupo funcional de interesse.	16
Figura 09 – Interface eletrodo –solução para um EQM na presença apenas da solução do eletrólito suporte.	18
Figura 10 – Esquema de um eletrodo de pasta de carbono.	19
Figura 11 – Estrutura de fita da enzima lacase	23
Figura 12 – Eliminação de água dos grupos silanóis na superfície da sílica.	30
Figura 13 – Sistema reacional utilizado na obtenção de (SiN)	31
Figura 14 – Reação de modificação da superfície da sílica gel.	31
Figura 15 - Reação de funcionalização de SiN com 2,4-D.	32
Figura 16 – Reação do material previamente modificado (SiNH ₂) com glutaraldeído para a obtenção do suporte SiG.	33
Figura 17 – Esquema do aparato utilizado nas medidas eletroquímicas	38
Figura 18 – Esquema do eletrodo utilizado na obtenção do EQM	40
Figura 19 - Isotermas de adsorção de nitrogênio	45
Figura 20 - Curvas de distribuição de tamanhos de poros (D _p) dos materiais.	46

Figura 21 – Espectros de infravermelho de SiOH e SiN obtidos na faixa de 4000 a 400 cm ⁻¹ .	50
Figura 22 - Espectros de infravermelho de SiN e SiD obtidos na faixa de 4000 a 400 cm ⁻¹ .	51
Figura 23 - Espectros de infravermelho de SiN e SiG obtidos na faixa de 4000 a 400 cm ⁻¹ .	52
Figura 24 - Curvas de TG e DTG da superfície (SiOH).	54
Figura 25 - Curvas de TG e DTG da superfície (SiN).	55
Figura 26 - Curvas de TG e DTG da superfície (SiD).	56
Figura 27 – Curvas de TG e DTG da superfície (SiG)	57
Figura 28 - Curvas de TG das superfícies SiOH, SiN, SiD e SiG.	58
Figura 29 – Espectros de RMN ²⁹ Si no estado sólido dos materiais (a) SiOH, (b) SiN, (c) SiD e (d) SiG.	60
Figura 30 – Espectro de RMN de ¹³ C no estado sólido de (SiN)	62
Figura 31 – Espectro de RMN de ¹³ C no estado sólido de (SiD)	63
Figura 32 – Espectro de RMN de ¹³ C no estado sólido de (SiG)	64
Figura 33 - Voltamograma cíclico do 2,4-D e do branco obtido a partir da pasta de carbono com a sílica modificada SiD.	66
Figura 34 - Voltamograma cíclico do catecol e do branco obtido a partir da pasta de carbono com a sílica	67
Figura 35 - Voltamograma cíclico do 2,4-D obtido a partir da pasta de carbono não modificada e com a sílica SiD.	68
Figura 36 – Voltamograma cíclico do catecol obtido a partir da pasta de carbono pura e contendo a sílica SiG	69
Figura 37 - DPVs de solução 0,1 mmol.L ⁻¹ de 2,4-D em tampão fosfato 0.1 mol.L ⁻¹ , pH 7,0, obtidas com EQM contendo diferentes composições de pasta	71
Figura 38 - DPVs de solução 0,1 mmol.L ⁻¹ de catecol em tampão fosfato 0.1 mol.L ⁻¹ , pH 7,0, obtidas com EQM contendo diferentes composições de pasta	72

Figura 39 - Efeito do pH nos picos de potencial e nos valores de corrente para determinação do pesticida 2,4-D utilizando o eletrodo modificado SiD em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs	74
Figura 40 - Proposta mecanística para a redução eletroquímica do 2,4-D.	75
Figura 41 - Efeito do pH nos picos de potencial e nos valores de corrente para determinação do pesticida 2,4-D utilizando o eletrodo modificado SiD em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs.	76
Figura 42 - Equação da oxidação do catecol catalisada pela lacase	77
Figura 43 – Voltametrias por diferencial de pulso do 2,4-D em solução tamponada (pH 3), construídas a partir do branco e da adição de 20, 40, 80, 100, 200, 300 e 400, 500 e 1000 µL de solução estoque ($2, 26 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹) do pesticida.	78
Figura 44 – Relação entre a corrente de pico (I_{pa}) e a concentração do 2,4-D em solução tamponada pH=3, obtidos a partir do EQM conteúdo SD1	79
Figura 45 – Voltametrias por diferencial de pulso do catecol em solução tamponada (pH 5), construídas a partir da adição de 20, 40, 60, 100, 150, 250, 300 e 500 µL de solução estoque ($5, 5 \cdot 10^{-6}$ mol.L ⁻¹) do catecol.	80
Figura 46 – Relação entre a corrente de pico (I_{pa}) e a concentração do 2,4-D em solução tamponada pH=3, obtidos a partir do EQM conteúdo SD1	81

Lista de Abreviaturas e Símbolos

Å	Angstrom
APTES	3-aminopropiltriétoxissilano
BJH	Barrett, Joyner e Halenda (Método utilizado na determinação na distribuição de tamanhos de poro)
cm	Centímetros
d	Densidade
dm	Decímetro
DMF	Dimetilformamida
D _P	Diâmetro médio dos poros
DTG	Derivada de TG
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
EAA	Espectrofotômetro de absorção atômica
EQM	Eletrodo Quimicamente Modificado
ECS	Eletrodo de calomelano saturado
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FTIR	Espectrôfotometro de Infravermelho com Transformada de Fourier
g	Gramas
HPLC	Cromatografia Líquida de alta eficiência
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
K'	Constante interfacial

I	Distância média entre as moléculas ligantes
M	Massa da superfície funcionalizada
m_a	Massa da amostra
mA	Mili ampere
mg	Mili grama
min.	Minutos
M_N	Massa molar do nitrogênio
N	Número de Avogadro
N_1	Fração molar do soluto na solução
N_1^S	Concentrações em termos de frações molares do soluto na superfície do adsorvente
N_2	Fração molar do solvente na solução
N_2^S	Concentrações em termos de frações molares do solvente na superfície do adsorvente
N_a	Número de mols do soluto adicionado
n_{Cl}	Número de mols de cloreto
N_f	Quantidade em mol do soluto adsorvido por grama da superfície
n_{Ha}	Número de mols de histamina
nm	Nanômetro
n_N	Número de mols de nitrogênio
n_{OH}	Número de grupos OH por grama de sílica
N^S	Quantidade em mol do soluto adsorvido por uma massa m da superfície adsorvente em gramas

N _s	Números de mols do íon metálico no sobrenadante
°C	Graus Celsius
- OH	Grupos silanóis
pH	Potencial hidrogeniônico
PIB	Produto interno bruto
ppm	Parte por milhão
RMN	Ressonância magnética nuclear
rpm	Rotações por minuto
S	Área ocupada por uma molécula ligante
S _{BET}	Área superficial específica
SiN	Sílica gel modificada com 3-aminopropiltriétoxissilano
SiD	Sílica gel funcionalizada com 2,4-D
SiDL	Sílica gel funcionalizada com 2,4-D e com lacase suportada
SiG	Sílica gel funcionalizada com glutaraldeído
SiGL	Sílica gel funcionalizada com glutaraldeído e com lacase suportada
SiOH	Sílica gel pura
T	Temperatura
TEA	Trietilamina
TG	Termogravimetria
V	Volts
V _P	Volume de poros

2,4 - D Ácido-2,4-diclorofenóxiacético

Δ Aquecimento

ΔC_s Variação na concentração do soluto antes e após o equilíbrio de adsorção ou concentração do sobrenadante

ΔT Variação de Temperatura

β_{HO} Número de grupos OH por nm².

μm Micrometros

λ Comprimento de onda

δ Deformação de ligações

ν Estiramento

% Cl Porcentagem de cloro

% N Porcentagem de nitrogênio

% OH Porcentagem de grupos silanóis



CAPÍTULO
1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A Revolução Industrial determinou profundas mudanças em quase todos os aspectos da humanidade. A economia mundial e a população começaram a experimentar um crescimento sem precedentes históricos. A partir daí, o volume de produção (antes manufaturada) aumentou extraordinariamente devido à maquinofatura. As populações deslocaram-se para os centros urbanos em busca de trabalho, gerando novas demandas por bens industrializados (móveis, roupas, cosméticos, medicamentos, alimentos, etc).^{1,2}

Por volta de 1850, na Inglaterra, observou-se pela primeira vez em um grande país, que a população urbana superara a população rural, e esta nova classe trabalhadora rapidamente cedia ao consumismo urbano. A cada instante, surgiam novas máquinas, produtos, novas tendências e conseqüentemente com o aumento das atividades antropogênicas, aumentaram também os problemas ambientais gerados por ela, tais como: desmatamento, poluição atmosférica, contaminação dos solos e águas de abastecimento, etc.¹⁻⁴ Já após a Segunda Guerra Mundial devido a melhoria na qualidade de vida e à evolução da medicina, a população cresceu vertiginosamente, gerando um fenômeno conhecido como “baby boom”. Esta chamada “explosão demográfica” desencadeia um outro problema que começa a ganhar proporções preocupantes e que ainda hoje bate à porta dos governantes de todo o mundo, é o aumento da demanda por alimentos por parte da crescente população mundial.^{2,4,5}

Segundo estudo feito pela ONU, a demanda atual de alimentos que é de 1,64 bilhões de toneladas de grãos/ano deve crescer até 2050 para cerca de 2,8 bilhões de toneladas, ou seja, a produção agrícola deverá aumentar cerca de 70% em relação a atual.^{6,7}

A fim de aumentar a produção para superar a crise de produção na agricultura, muitos produtos químicos tem sido aplicado nos campos agrícolas, no entanto, a aplicação indiscriminada desses, pode causar graves problemas ambientais e de saúde pública. Estes chamados micropoluentes emergentes podem chegar rapidamente a águas naturais por processos de lixiviação e escoamento superficial.

Contudo, não só os produtos agroquímicos apresentam-se como vilões da contaminação das águas, o número destas moléculas é estimada em 100.000 tipos, e a toxicidade ambiental de muitas delas ainda é desconhecida. Por definição, Micropoluentes Emergentes são espécies química (orgânicas e inorgânicas) que potencialmente levam risco para a saúde e para o meio ambiente, incluindo, entre outros: fármacos; cosméticos, produtos de limpeza; esteroides e hormônios; surfactantes; aditivos; pesticidas; e produtos de degradação dos mesmos.^{6,7}

Dentre os vários micropoluentes emergentes que tem sido encontrados em análises de águas superficiais e subterrânea, destacam-se o ácido-2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e os poluentes fenólicos (classe onipresente entre os contaminantes industriais). O primeiro, um herbicida comum, amplamente usado na agricultura brasileira. 2,4-D é normalmente aplicado no controle de ervas daninhas, em culturas como o dendê, plantações de borracha, cacau, ervas daninhas e principalmente, nas plantações de cana-de-açúcar. Já o grupo dos poluentes fenólicos são espécies químicas facilmente encontradas em efluentes de indústrias como a de alimentos e petroquímica (incluindo as indústrias que processam tintas, resinas, pesticidas, etc.). Estes compostos são bastante persistentes, resistindo aos métodos convencionais de tratamento de efluentes, além disso, apresentam toxicidade e bio-acumulação mesmo em baixas concentrações.⁸⁻¹⁰

As concentrações de vários micropoluentes presentes na superfície e em águas subterrâneas têm aumentado consideravelmente nos últimos anos, e as consequências deste aumento sobre o meio ambiente e a saúde humana tem levado a um aumento nos esforços para o desenvolvimento de tecnologias eficientes para determiná-los na água. O desenvolvimento de ensaios específicos e sensíveis para a detecção destes compostos constitui um dos alvos da química atualmente, não obstante, a maioria dos métodos utilizados para o monitoramento ambiental exige o uso de equipamentos muito caros e sem facilidade no transporte e manuseio.⁹⁻¹²

Por esta razão, o método de detecção com sensores eletroquímicos surge como uma alternativa interessante. Estes sensores são construídos a partir de eletrodos quimicamente modificados (EQMs) nos quais mediadores de reações de

oxirredução são utilizados para tornar possível a transferência de carga entre o eletrodo e do analito na solução. Neste contexto, os eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados têm sido amplamente aplicados em eletroanalítica por conta de sua versatilidade e simplicidade de construção.¹³⁻¹⁶

Um mediador eletroquímico para uso em eletrodo de pasta de carbono modificado é uma matriz eletroquímica sensível que pode ser obtida a partir da modificação química da superfície da sílica, gerando assim um matriz híbrida inorgânica-orgânica que apresenta uma alta versatilidade de aplicações.^{17,18}

Neste trabalho, dois materiais quimicamente modificados foram preparados, no primeiro, 2,4-D foi imobilizado sobre a superfície de sílica gel, no segundo, após a prévia modificação da sílica com um agente silanizante (3-aminopropiltriétoxissilano), a mesma foi funcionalizada com glutaraldeído para o posterior suporte da enzima Lacase. Em seguida, estes materiais foram usados como matrizes para desenvolver eletrodos de pasta de carbono modificados. Estes eletrodos foram então aplicado nos estudos eletroanalíticos para a determinação do pesticida 2,4-D e de fenóis em solução.

A graphic consisting of a grey rounded square containing the word 'CAPÍTULO' in white uppercase letters at the top, and a large white number '2' in the center. To the right of the square, the words 'REVISÃO' and 'BIBLIOGRÁFICA' are stacked vertically in bold black uppercase letters.

CAPÍTULO
2
REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA

2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

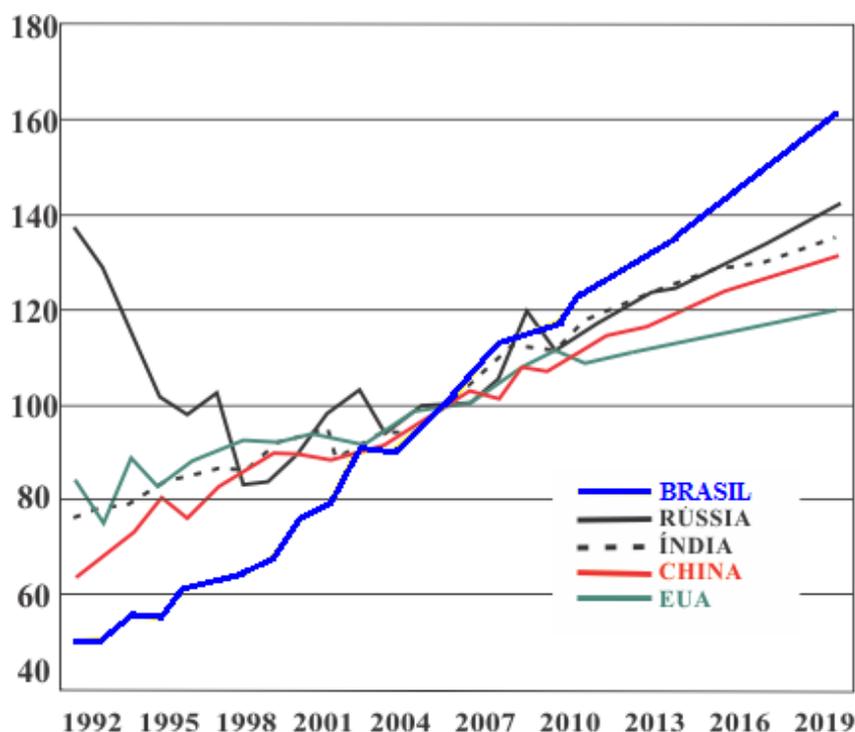
2.1 AGRICULTURA E CRESCIMENTO DEMOGRÁFICO

Após a década de 50, devido a avanços na área de saúde e saneamento básico, as taxas de crescimento demográfico aumentaram sem precedentes e as projeções de crescimento demográfico apresentadas pela ONU, preveem que a população mundial deve chegar a 8,1 bilhões de pessoas em 2025 e a 9,6 bilhões de pessoas em 2050. Assim, o grande desafio para a humanidade é a produção de alimentos para uma população em plena expansão com a preocupação em minimizar os impactos ao meio ambiente. De acordo com o recente estudo da FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), é necessário que a produção de alimentos mundial aumente mais de 40% até 2030 e 70% até 2050, em comparação com os níveis médios da última década.^{5,7}

Existe uma quantidade substancial de terras ainda disponíveis para utilização agrícola. Mais de 1,5 bilhões de hectares poderiam ser integrados aos atuais 1,4 bilhões de hectares de terra atualmente cultivados. E é na África e na América Latina que se encontra mais da metade da terra adicionalmente disponível. No entanto, historicamente, a expansão das áreas de terra arável tem se mostrado muito lenta, e tornar esta terra ainda improdutiva, própria para a produção, pode envolver um investimento alto e com baixos rendimentos, ainda que constituindo possivelmente custos sociais e ambientais. Assim, o aumento da produção agrícola hoje depende do aumento da produtividade em terras já utilizadas em plantio, o que requer desenvolvimento e adaptação das novas tecnologias.⁷

Observa-se na Figura 5, que o Brasil tem hoje o setor agrícola com maiores taxas de crescimento em todo o mundo, com projeção para uma ampliação de sua produção em 40% para 2019, quando comparado com o período-base 2005 a 2007.²

Figura 1 - Produção agrícola de 1992 a 2019 em relação à produção no período de 2005 a 2007.⁷



2.2 MICROPOLUENTES EMERGENTES

Há mais de um século, a industrialização exige que o homem desenvolva através da química, novos materiais para ajudá-lo a viver ou tornar sua vida mais confortável. Moléculas componentes de tais materiais, tais como pesticidas, medicamentos, cosméticos, flavorizantes, retardadores de chama, repelentes, impermeabilizantes, plastificantes, revestimentos, tintas, etc. são moléculas cuja degradação na natureza ocorre muito lentamente. Muitas dessas espécies químicas são encontradas no meio ambiente, e em particular em água potável pós-tratamento, porque as estações de tratamento, de modo geral não foram concebidas para eliminá-las.^{19,20}

Fontes de micropoluentes orgânicos são difusas, podendo ter origem tanto nos despejos industriais, esgotos domésticos, agricultura, etc. Alguns exemplos, são os protetores solares que contêm os filtros UV sintéticos, as drogas não

absorvidas excretadas pela urina e fezes, os agroquímicos comuns no campo, parques e jardins, etc.^{9,19}

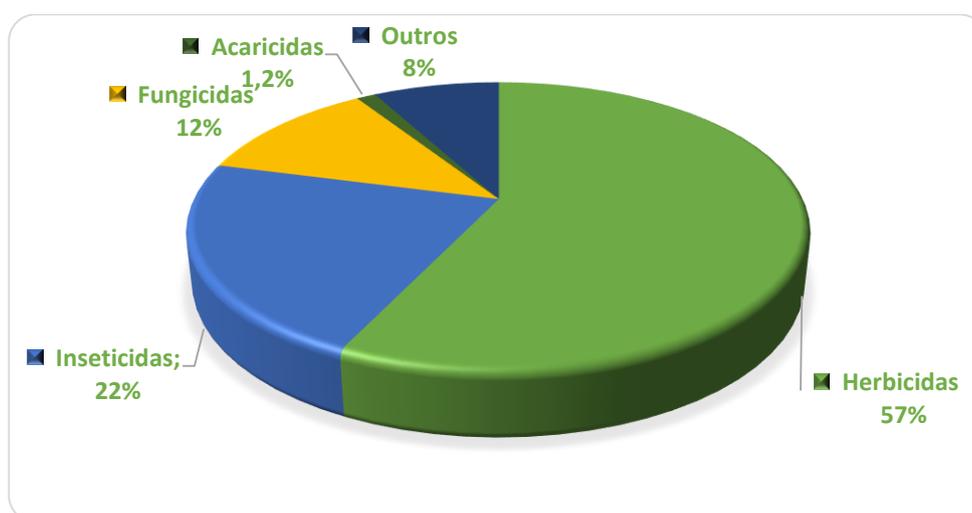
Dentre os principais micropoluentes emergentes que podem ser encontrados em amostras de água superficial e subterrânea, podem-se destacar os agroquímicos, utilizados para melhorar a produção agrícola e também os poluentes fenólicos, oriundos principalmente de atividades industriais.¹⁰

2.3 PRODUÇÃO AGRÍCOLA E O USO DE AGROQUÍMICOS

Segundo a *FAO*, os agroquímicos podem ser definidos como substâncias ou misturas químicas utilizadas para prevenir, destruir, repelir ou atenuar qualquer praga, incluindo insetos, roedores e ervas daninhas, ou seja, formas de vida vegetal ou animal indesejáveis para a produção agrícola.⁷

Certamente, o uso de fungicidas, inseticidas, herbicidas e outros agroquímicos tem um papel importante na agricultura, mantendo a viabilidade econômica e uma maior produtividade agrícola. A eficácia destes insumos na erradicação de pragas agrícolas tem relação direta com a produtividade, conseqüentemente no preço dos alimentos que chegam à mesa do consumidor.^{5,21}

Figura 2 - Participação Percentual das Classes no Valor das Vendas de Defensivos Agrícolas, Brasil 2012.²²



2.3.1 HERBICIDAS

O Brasil hoje é refiz o sexto maior mercado consumidor de defensivos agrícolas ficando atrás somente de Japão, França, Comunidade Europeia, Argentina e Estados Unidos. Dentro deste mercado, os herbicidas merecem destaque, representando 55 % do total, seguidos de 22 % de inseticidas, 15 % de fungicidas e 8 % dos outros tipos.^{22,23}

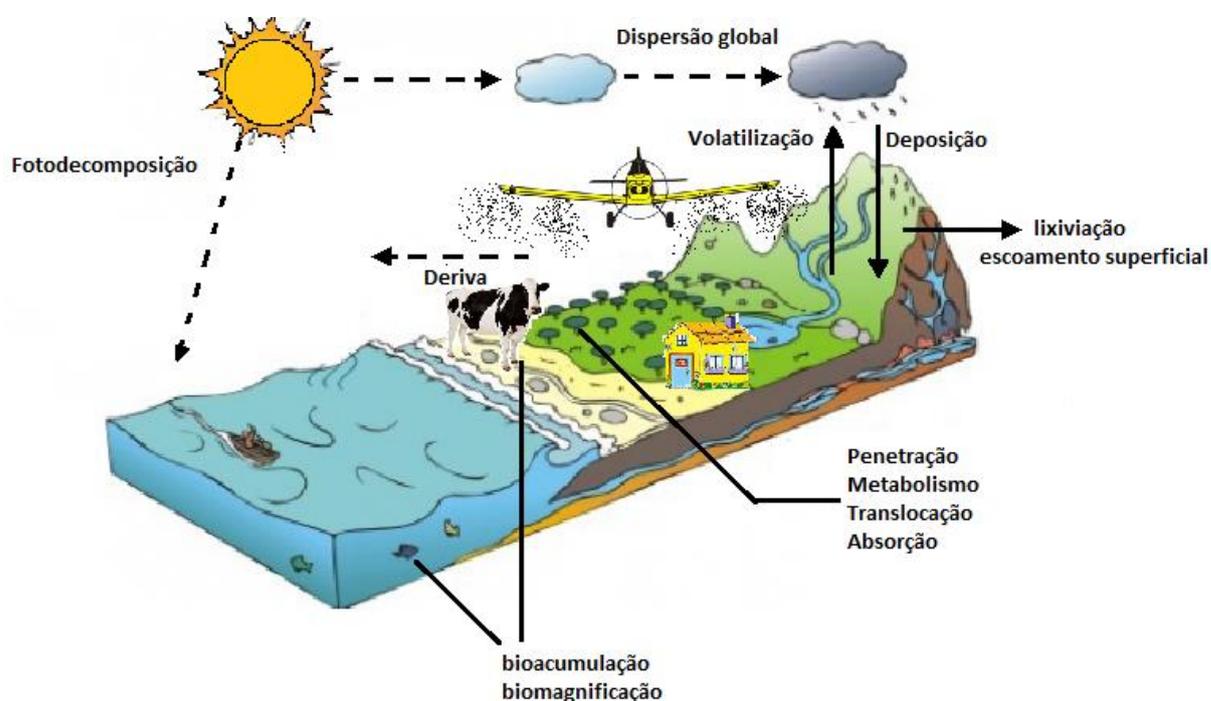
Dentre os diversos herbicidas utilizados no Brasil, o 2,4-D merece destaque pela sua larga aplicação no cultivo de alguns dos principais produtos agrícolas brasileiros, sendo atualmente o principal pesticida usado no controle de plantas daninhas na cultura da cana de açúcar.²⁴

2.4 PROBLEMAS AMBIENTAIS GERADOS PELOS AGROQUÍMICOS

Inúmeras perdas acompanham a utilização de agroquímicos, perdas estas provocadas principalmente por evaporação, lixiviação, escoamento, degradações química e biológica, absorção no solo, bem como o arraste pelo vento durante aplicações (deriva).^{24, 25}

Na Figura 7, podem ser visualizadas as diferentes rotas que um agroquímico pode tomar, após ser lançado no meio ambiente, mostrando os ecossistemas que podem ser atingidos por agroquímicos e por seus produtos de degradação.³⁹

Figura 3 - Comportamento dos pesticidas no meio ambiente.^{24,25}



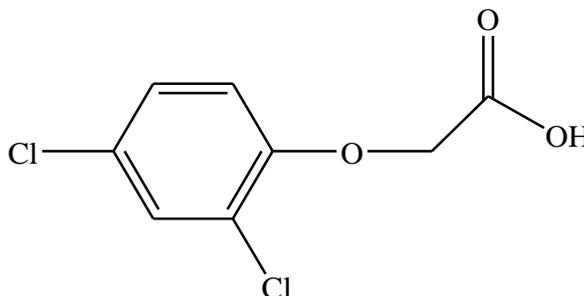
Devido a estas e outras perdas mostradas na figura acima, a aplicação de agroquímicos necessariamente tem sido feita em quantidades e concentrações maiores que as teoricamente necessárias, a fim de se alcançar o efeito desejado no plantio.²⁵ É importante que se ressalte que menos de 1% dos pesticidas aplicados alcançam realmente seu alvo, sendo que a grande maioria é perdida, gerando contaminação ambiental.

Anualmente, em todo o mundo, são aplicados aproximadamente 2,5 milhões de toneladas de agroquímicos, sendo que mais 300 mil toneladas de tem sido consumidas só no Brasil, representando um aumento no consumo de agroquímicos de 700% nos últimos quarenta anos, enquanto a área agrícola aumentou 78% nesse período.²³⁻²⁶

2.5 O HERBICIDA 2,4-D

O herbicida 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) é um ácido aromático fraco, com pKa 2,6, possui uma baixa solubilidade em água, apenas 620 ppm a 25°C em água, sendo bastante solúvel em etanol (9,5 g.100g⁻¹). Este herbicida é considerado carcinógeno e pode provocar danos ao fígado, rins, baço, pâncreas, cérebro e ao coração. Por ser lipossolúvel, concentra-se especialmente no tecido adiposo e músculos.^{8,9} Sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 8, a mesma é uma modificação da que ocorre naturalmente no hormônio vegetal ácido indol-3-il-acético, contudo, enquanto os hormônios naturais são rapidamente inativados, o 2,4-D persiste durante um longo período de tempo na planta, evitando, assim, as flutuações hormonais naturais que são necessárias para o crescimento normal e diferenciação celular.^{27,28,29}

Figura 4 - Fórmula estrutural do 2,4-D.



Sendo introduzido no mercado em 1941, o 2,4-D é um herbicida de grande interesse científico e comercial. Atua como um herbicida seletivo e sistêmico, matando plantas daninhas de folhas largas por contato ou absorção, sem prejudicar o desenvolvimento de plantas de folhas finas. É absorvido pelas raízes, sendo transportado até as folhas, inibindo o crescimento das plantas.^{30,31}

As primeiras patentes do 2,4-D foram obtidas pela Dow Chemical Co. e American Chemical Paint Company (Union Carbide) em 1947. Hoje, o 2,4-D e outros produtos da mesma família química, conhecidos como fenoxiacéticos, estão sendo usados mundialmente como ferramenta básica na agricultura moderna. A

razão para esse sucesso não é só devido a sua grande atividade como herbicida, mas também devido a um dos melhores perfis toxicológicos disponíveis a um preço muito acessível.²⁷

2.6 CONTAMINANTES FENÓLICOS

Poluentes fenólicos, são substâncias nocivas, existentes principalmente nos efluentes de diversas indústrias, tais como a de conversão do carvão, processamento de petróleo, resina e plásticos, processamento de madeira, tratamentos de superfícies metálicas, corantes, etc. Estes compostos ocorrem em concentrações que variam de 10^2 a 10^3 mg.L⁻¹.^{32,33}

Os compostos fenólicos são classificados como tóxicos e persistentes no ambiente e, portanto, rígida regulamentação em muitos países.³² A União Europeia classificou os poluentes fenólicos, em especial 2-amino-4-clorofenol, 4-cloro-3-metilfenol, 2-clorofenol, 3-clorofenol, 4-clorofenol, pentaclorofenol, triclorofenol como substâncias perigosas quando despejadas no meio aquático. A Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA) lista 11 outros compostos fenólicos incluindo 2,6-diclorofenol Fenóis sintéticos, por sua complexidade, são considerados mais tóxicos do que os naturais.^{34,35}

A preocupação pública e a legislação são hoje mais exigentes por um melhor controle ambiental, como consequência, é cada vez maior o interesse no o desenvolvimento de ferramentas rápidas e confiáveis para a detecção de poluentes em amostras ambientais.

2.7 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE MICROPOLUENTES

O desenvolvimento de métodos de detecção específicos e sensíveis para a determinação poluentes tem sido uma das pretensões da química moderna, onde atualmente, a maioria dos métodos de monitoramento utilizados para a detecção desses de poluentes orgânicos depende de instrumentos de alto custo (como a

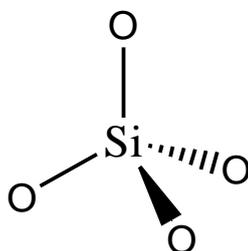
cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas), que ainda necessitam de etapas de pré-concentração para serem sensíveis as quantidades destes contaminantes em águas.^{20, 21} Neste contexto, o desenvolvimento de eletrodos seletivos pode ser um método alternativo interessante para a quantificação de diversos tipos de compostos, visto que sensores eletroquímicos podem apresentar uma sensibilidade muito maior que os métodos cromatográficos e ainda com um custo mais baixo.^{13,14}

Diversos métodos são descritos para a obtenção de eletrodos seletivos, dentre eles, a confecção de eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados merecem destaque pela sua facilidade de obtenção e manuseio.^{15,16}

2.8 A SÍLICA GEL – ESTRUTURA E REATIVIDADE

A sílica gel é um polímero inorgânico constituído internamente por unidades tetraédricas do tipo SiO_4 (Figura 1), aleatoriamente distribuídas e unidas covalentemente por ligações do tipo siloxanos (Si-O-Si), superficialmente, a sílica é constituída por grupos silanóis (SiOH). Trata-se de um material com característica amorfa, resistente, poroso, facilmente selecionável granulometricamente. Além disso, a sílica apresenta alta área superficial específica.³⁶⁻⁴⁰

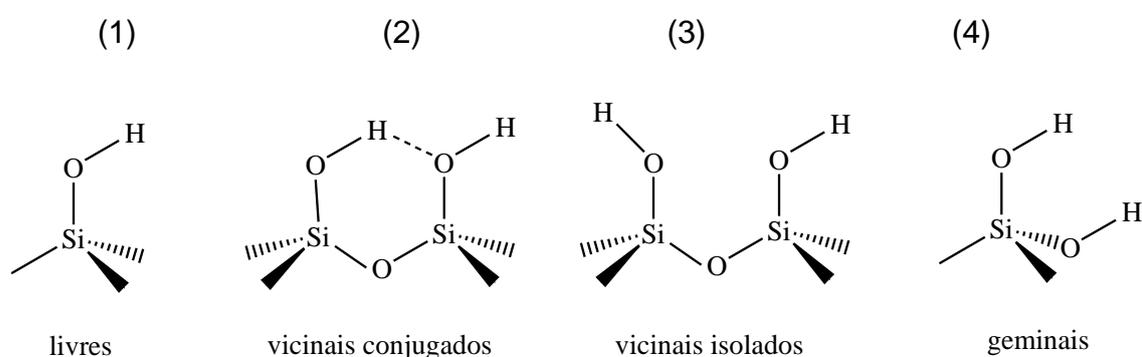
Figura 5 - Unidade tetraédrica que compõe a estrutura da sílica gel



A presença dos grupos silanóis na superfície de sílica foi detectada pela primeira vez em 1936 por Andrej V. Kiselev. Estima-se o valor de 4 a 5 grupos OH

por nanômetro quadrado de área da superfície ($\alpha_{\text{OH-OH}} \text{ nm}^{-2}$). Estes 4 a 5 grupos silanóis (OH) encontram-se distribuídos aleatoriamente na superfície de 1 nm^2 da sílica.^{38,40} Contudo, como os átomos de silício da estrutura da sílica gel possuem um arranjo geométrico irregular, os grupos silanóis presos a ele, não mantêm uma distância equivalente entre si, sendo possíveis, diferentes combinações dos mesmos na superfície da sílica, conforme pode ser observado na Figura 2.^{39,41,42}

Figura 6 - Tipos de grupos silanóis na superfície da sílica: (1) livres; (2) vicinais conjugados; (3) vicinais isolados e (4) geminais.

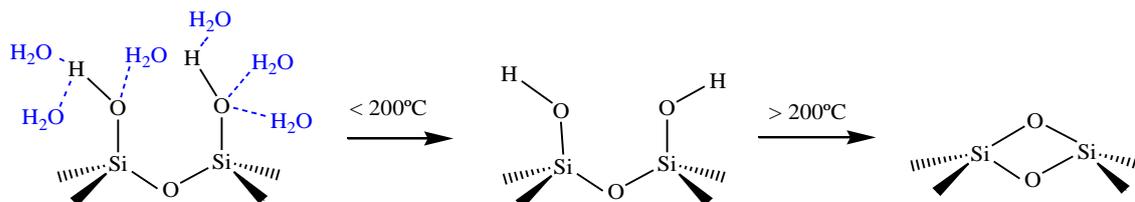


O comportamento químico da superfície da sílica é governada pela presença dos grupos silanóis superficiais (SiOH), que por se tratarem de ácidos de Brønsted fracos, com pKa em torno de 9,0, permitem não só interações superficiais, mas também reações de substituições por moléculas orgânicas complexas, modificando inteiramente suas propriedades superficiais.^{41,42}

Por conta da presença dos grupos silanóis superficiais, a sílica apresenta uma alta hidrofiliabilidade, adsorvendo moléculas de água até mesmo do ar, e por este motivo, é necessário que esta superfície deva conter um número máximo de grupos silanóis por unidade de área e que estejam livres de possíveis interações com moléculas de água fisissorvidas. Assim, pode-se empregar para esta finalidade o procedimento de ativação térmica de sua superfície, através do aquecimento a temperatura de 150 °C.⁴³ Contudo, alguns cuidados devem ser tomados porque, temperaturas acima de 200 °C acarretam a condensação dos grupos silanóis, com

a conseqüente liberação de moléculas de água, tornando-a assim pouco reativa. A Figura 3, ilustra o processo de desidratação da superfície da sílica, resultando na formação de grupo siloxano (Si-O-Si).³⁶

Figura 7 - Desidratação da superfície da sílica, na formação do grupo siloxano em temperatura menor que 200 °C e em temperatura maior que 200 °C.



2.9 REAÇÕES NA SUPERFÍCIE DA SÍLICA

2.9.1 Modificação da Superfície com agentes silanizantes

A reatividade dos grupos silanóis livres na superfície da sílica pode ser bem explorada a partir de reações desta com agentes sililantes (ou silanizantes) do tipo alcóxissilano. A fórmula geral desses agentes é $(\text{RO})_3\text{-Si-E-X}$, onde OR representa o alcóxissilano, E refere-se ao grupo espaçador (propil, butil, etc.) e X representa o grupo funcional encontrado na extremidade do alcóxissilano, tal grupo, pode ser um halogênio (Cl, Br, I) ou um grupo funcional do tipo amino (NH_2), mercapto (SH), ácido (COOH), etc. Desse modo, o grupo alcóxissilano passa a ser quimicamente ligado à superfície, conferindo à mesma uma nova característica química.⁴⁴

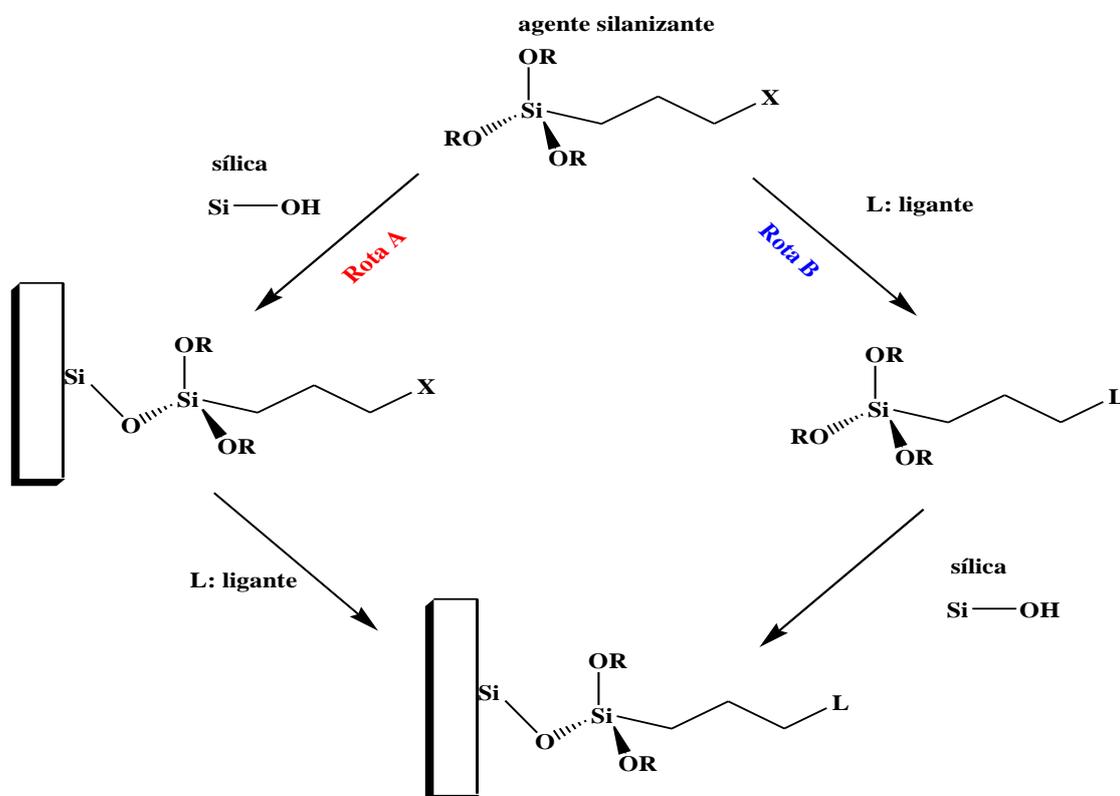
2.9.2 Funcionalização da superfície da sílica

A reação de funcionalização da superfície de sílica gel, poderá ocorrer por dois caminhos básicos: a rota heterogênea (rota A) e a rota homogênea (rota B), resultando no mesmo produto, conforme mostra a Figura 4.

Este processo, consiste no uso de um agente modificador, que contém um determinado grupo orgânico, neste caso, um alcóxissilano, que é ligado à superfície

da sílica por interação entre o radical alcóxi e as hidroxilas (silanóis) superficiais. O grupo orgânico contido na extremidade da cadeia poderá sofrer novas reações, aumentando o número de espécies imobilizadas e dotando o material de propriedades específicas, e que estão correlacionadas com o tipo de compostos imobilizados à superfície.^{45,46}

Figura 8 - Rotas utilizadas para a imobilização de um grupo organofuncional L em superfície de sílica gel SiOH: rota (A)-heterogênea e rota (B)-homogênea onde L (ligante) é um grupo funcional de interesse.



Na rota A (caminho heterogêneo), o agente modificador (alcóxissilano) reage com a sílica, obtendo-se assim a superfície modificada, que depois será funcionalizada via ligação covalente com o substituinte nucleofílico (grupo funcional de interesse). Já na rota B (caminho homogêneo), ocorre o procedimento inverso, inicialmente se faz a reação do agente modificador com o grupo funcional de interesse, seguida de reação com a superfície da sílica funcionalizada. Tem-se

observado que a rota B, produz um rendimento melhor de funcionalização e também pode apresentar facilidade adicional na caracterização dos intermediários, no entanto, a rota A, é mais utilizada devido às suas facilidades operacionais. Em ambas as rotas, utilizam-se solventes orgânicos todas as etapas.^{45,46}

2.10 – O ELETRODO DE PASTA DE CARBONO QUIMICAMENTE MODIFICADO

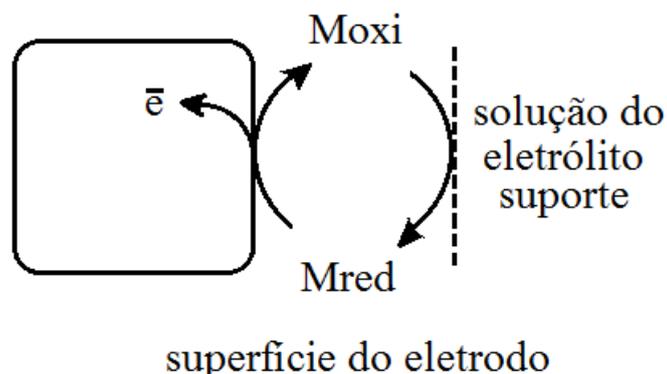
O termo Eletrodo Quimicamente Modificado EQM foi pela primeira vez introduzido em 1979 por R. W. Murray para designar eletrodos que continham espécies químicas imobilizadas sobre a superfície de eletrodos convencionais, com o objetivo de controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução.^{16,47}

Basicamente a modificação da superfície do eletrodo visa a imobilização de espécies eletroquimicamente ativas, de modo que o eletrodo passe a apresentar novas propriedades químicas e eletroquímicas, de acordo com a espécie imobilizada, obtendo-se assim uma interface eletroquímica planejada, com a reatividade e seletividade desejadas.⁴⁷

Os eletrodos quimicamente modificados são muito úteis em situações onde o analito necessita da aplicação de elevados sobrepotenciais em eletrodos convencionais, afetando dessa forma a seletividade do método, visto que não se tem como evitar a oxidação ou redução de outras espécies presentes no meio e também do próprio solvente. Os EQM oferecem a vantagem de abaixar este sobrepotencial e aumentar a velocidade de certas reações eletroquímicas, aumentando dessa forma a sua sensibilidade e seletividade.¹⁸

A interface eletrodo – solução para um EQM na presença apenas da solução de eletrólito suporte pode ser demonstrada de maneira esquemática na Figura 9, abaixo:⁴⁸

Figura 9 - Interface eletrodo –solução para um EQM na presença apenas da solução do eletrólito suporte, onde M_{oxi} e M_{red} representam a molécula mediadora nas formas oxidada e reduzida, respectivamente.



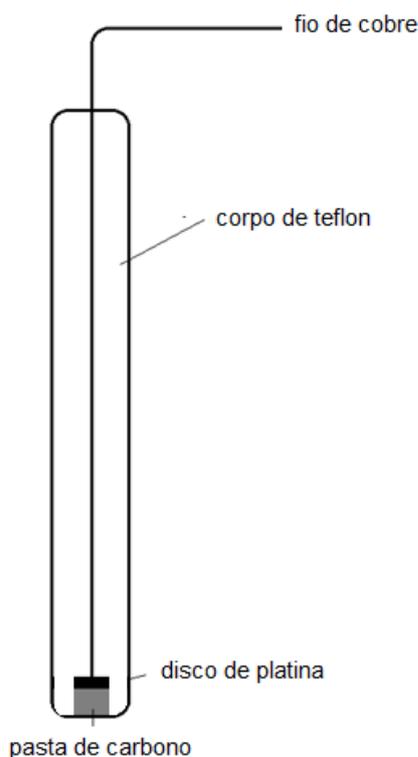
Realizando-se a varredura na direção de potenciais mais positivos, ocorre a oxidação da espécie reduzida presente na superfície do eletrodo. Quando a varredura de potencial é invertida esta pode ser então reduzida.^{48,49}

2.10.1 Métodos de Obtenção de Eletrodos Quimicamente Modificados por Oclusão com Pasta de Carbono

A construção de EQM constitui uma área em grande desenvolvimento e recentemente diferentes métodos de modificação da superfície de eletrodos tem sido descritos na literatura, desde imobilização à eletropolimerização.⁵⁰

Estes eletrodos de pasta de carbono são obtidos pela maceração de grafite em pó com o composto com as habilidades oxidativas/reduativas necessárias para a determinação dos pesticidas de desejo e um aglutinante. A pasta modificada é colocada em um eletrodo contendo um elemento condutor como é esquematizado na figura 10.⁵¹⁻⁵⁴

Figura 10 - Esquema de um eletrodo de pasta de carbono



2.11 USO DE ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS COMO SENSORES

Um sensor eletroquímico é um dispositivo que, como resultado de sua interação química com o analito, transforma uma informação físico-química num sinal analiticamente útil. Todos os sensores químicos contêm dois componentes básicos: um sistema de reconhecimento de espécies químicas (receptor) e um transdutor. O sinal proveniente do transdutor pode ser uma corrente (amperometria), uma tensão (potenciometria), ou impedância / mudanças na condutância (condutimetria).^{52,53}

Os EQMs também podem ser utilizados na análise de traços, pré-concentrando o analito no eletrodo, de modo que concentrações muito pequenas do mesmo em solução, podem se tornar detectáveis, descartando a necessidade da pré-concentração prévia da amostra (voltametria adsortiva). Os EQM podem também ser aplicados a eletroanálise devido a atividade eletrocatalítica e/ou a sua

habilidade em imobilizar reagentes eletrocatalíticos ou biocatalíticos que melhoram a sensibilidade e a seletividade de detecção.⁵⁴⁻⁵⁶

A maior parte dos eletrodos quimicamente modificados podem ser obtidos por absorção química, ligação covalente ou por deposição de filmes. Dentre os diversos tipos de modificadores de eletrodos, os materiais inorgânicos, tais como zeólitas, sílicas modificadas, e argilas, têm atraído a atenção dos eletroquímicos, por sua versatilidade e estabilidade.⁵⁷

O uso de sílicas quimicamente modificadas na obtenção de eletrodos teve início na década de 90. Esta metodologia baseia-se na introdução de uma molécula eletroativa na superfície reativa da sílica e o estudo de seu comportamento frente a variações de potencial elétrico aplicado e interação como outras espécies presentes em um eletrólito.⁵⁸

2.12 BIOSENSORES

Um problema muito comum quando se trata da detecção de espécies químicas, especialmente nas baixas concentrações de analito e na presença de substâncias interferentes é a seletividade do método. Dentre as estratégias mais interessantes para superar esses problemas destaca-se o desenvolvimento de biosensores.⁵⁶

Biosensores são dispositivos que utilizam como componentes, espécies biológicas as quais atuam como elementos de reconhecimento, ligados a um sistema de detecção, transdução e amplificação do sinal gerado na reação com um analito-alvo. Dentre as principais vantagens dos sistemas baseados em biosensores, destacam-se a sua seletividade, alta sensibilidade, confiabilidade, portabilidade, baixo custo e facilidade de operação.^{57,58}

Em princípio, os biosensores podem ser desenvolvidos para praticamente qualquer molécula alvo que interage seletivamente com um sistema biológico, sendo que as enzimas os componentes biológicos mais comumente usados. A transdução eletroquímica combinada a seletividade de enzimas, permitem uma

determinação rápida, simples e direta de vários compostos.^{59 - 62} Contudo, em aplicações reais, em que o ambiente está mudando continuamente, a confiabilidade destes sistemas ainda pode ser questionada, além disso, as moléculas proteicas quando imobilizadas estão sujeitas a perda de atividade, devido a desnaturação e / ou desativação, diminuindo assim a vida útil do sensor.^{57,58}

2.12.1. Biosensores para a análise ambiental

Os componentes biológicos dos biosensores, tais como células totais , organelas ou biomoléculas acopladas com os transdutores de sinal, têm o potencial para ultrapassar a maioria das desvantagens dos métodos convencionais de análise. Ressalta-se que tais dispositivos são promissoras ferramentas analíticas para fornecer resultados em tempo real , simplicidade no manuseio, portabilidade e baixo custo.⁵⁴

2.13 OS BIOSSENSORES BASEADOS EM ENZIMAS

Quando se faz o uso de enzimas como o elemento biológico de um biosensor, a capacidade catalítica e a seletividade da mesma são explorados na interação com o analito.⁶⁰

Os diversos tipos de enzimas e dispositivos de transdução, conferem inúmeras possibilidades para o desenvolvimento de biosensores para diferentes poluentes.⁵²

De acordo com o princípio de atuação, um biosensor pode ser classificado em:

- a) Catalítico (A enzima, catalisa uma transformação do poluente)
- b) Inibição enzimática (O analito provoca a inativação da enzima)
- c) Modificação da atividade enzimática (O analito atua como um modulador ou cofator, alterando a atividade da enzima)

A Tabela 1 Apresenta a classificação das enzimas, com base nas suas reações bioquímicas.

Tabela 1 - Classe de enzimas, baseadas em suas reações bioquímicas

Classe	Tipo de reação biocatalítica
Oxiredutases	Transferência de elétrons
Transferases	Transferência de grupos
Hidrolases	Hidrólise
Liases	Reações de quebra e adição de grupos
Isomerases	Conversão de isômeros
Ligases	Forma ligações entre moléculas

Dentre as várias classes de enzimas, aquela que apresenta maior potencial para o desenvolvimento de sensores de alta sensibilidade é a das Oxiredutases, sendo altamente aplicáveis na construção de biossensores amperométricos.⁵⁹

Devido ao impacto ambiental e também a vasta ocorrência, os compostos fenólicos, pesticidas, desreguladores endócrinos e cianotoxinas são as classes mais representativas de micropoluentes emergentes. Como consequência, fenol - oxidases e colinesterases têm sido amplamente utilizadas no desenvolvimento de biossensores para monitorização ambiental.⁵⁷⁻⁶¹

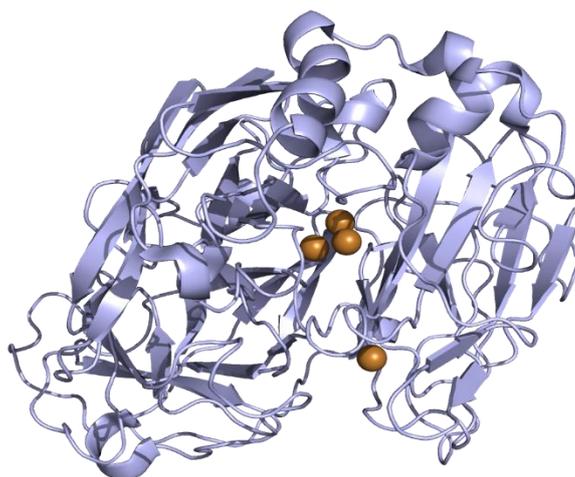
Quando o objetivo é a determinação seletiva de compostos fenólicos em matrizes ambientais, os eletrodos modificados com lacase e tirosinases, tem sido amplamente estudados.⁶⁰⁻⁶²

2.13.1 Biossensores a base de lacase

A lacase é uma cuproproteína formada por unidades diméricas ou tetraméricas de glicoproteínas, contendo em geral, quatro átomos de cobre por

monômero. Este tipo de enzima apresenta ampla distribuição na natureza, tendo mais de 60 tipos de lacases sido isoladas a partir de plantas, insetos, bactérias e fungos.^{34, 35} A Figura 11 Mostra a estrutura tridimensional de fita do monômero da lacase.

Figura 11 - Estrutura de Fita da enzima lacase



As lacases são fenol-oxidases, que catalisam a oxidação de várias substâncias aromáticas (particularmente mono, di e polifenóis) com a concomitante redução de oxigênio para água:⁵

A graphic element for Chapter 3. It consists of a grey rounded square containing the word "CAPÍTULO" in white uppercase letters at the top, and a large white number "3" in the center. To the right of this square, the word "OBJETIVOS" is written vertically in bold black uppercase letters.

CAPÍTULO
3
OBJETIVOS

3.0 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo geral, preparar eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados com sílicas funcionalizadas, com potencialidade na detecção de micropoluentes emergentes em solução.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O presente trabalho possui os seguintes objetivos específicos:

1. Sintetizar e caracterizar sílicas quimicamente modificadas com o pesticida 2,4-D (ácido 2,4- diclorofenoxiacético) e com glutaraldeído
2. Suportar a enzima lacase sobre a superfície das sílicas quimicamente modificadas;
3. Preparar EQM (Eletrodos Quimicamente Modificados) com pasta de carbono, contendo diferentes composições e proporções de sílicas e lacase.
4. Estudar a detecção do pesticida 2,4-D e de poluentes fenólicos através de técnicas voltamétricas e amperométricas.



CAPÍTULO
4

**PROCEDIMENTO
EXPERIMENTAL**

4.0 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Neste capítulo, serão apresentados os principais reagentes, solventes e equipamentos utilizados, bem como as metodologias empregadas na obtenção dos materiais, suas caracterizações e estudos eletroquímicos.

4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

4.1.1 Reagentes

1. Sílica gel 60Å (Vetec), com granulometria entre 50 a 200 µm;
2. Aminopropiltriétóxissilano APTES (Aldrich-PA);
3. Trietilamina (Dinâmica-PA);
4. Ácido nítrico (Quimex-PA);
5. Ácido 2,4-diclorofenóxiacético (2,4-D) (Aldrich 97%);
6. Solução de glutaraldeído 25% (Merck);
7. Clorofenol (Sigma-Aldrich - PA);
8. Fenol (Sigma-Aldrich - PA);
9. Catecol (Sigma-Aldrich - PA);
10. Resorcinol (Sigma-Aldrich - PA);
11. Nitrofenol (Sigma-Aldrich - PA);
12. Cresol (Sigma-Aldrich - PA);
13. Ácido clorídrico (Quimex-PA);
14. Grafite em pó (<20 micron) (Aldrich);
15. Óleo mineral (Sigma-Aldrich);
16. Hidróxido de sódio (Vetec-PA);
17. Acetato de sódio (Vetec-PA);
18. Fosfato de sódio (Merck-PA);
19. Cloreto de potássio (Vetec-PA);

Todos os reagentes foram utilizados sem tratamento prévio.

4.1.2 Solventes

1. Dimetilformamida (Dinâmica-PA);
2. Etanol (Dinâmica-PA);
3. Acetona (Dinâmica-PA);
4. Xileno seco (Vetec-PA);
5. Brometo de potássio (Merck-PA);
6. Água desionizada;
7. Todos os solventes são de grau analítico, sendo utilizados sem quaisquer purificações prévias, com a exceção da água bidestilada.

4.1.3 Equipamentos

1. Balança analítica Shimadzu, modelo Libor AEG-220G;
2. Chapa de aquecimento e agitação da marca Quimis;
3. Agitador mecânico IKA RW 20 h;
4. Bomba de vácuo Tecnal TE 058;
5. pH metro Digimed DM 20;
6. Potenciostato-Galvanostato microAutolab Type III – Metrohm;
7. Célula de vidro com tampa de Teflon de 5 furos;
8. Espectrômetro FTIR-ATR
9. Eletrodo de referência de Ag/AgCl, KCl saturado) construído em vidro com 6 mm de diâmetro x 70 mm de comprimento;
10. Eletrodo de referência de Calomelano (Hg/Hg₂Cl₂, KCl_{sat}) colocado dentro de um capilar de Luggin com ponta de titânio;
11. Eletrodo auxiliar de platina, diâmetro de 0,3 mm e 5 cm de comprimento;
12. Eletrodo para pasta de carbono com corpo de teflon;
13. Microdestilador de nitrogênio Tecnal TE 0361;
14. Banho ultratermostatizado Marconi MA 184;
15. Analisador termogravimétrico Shimadzu DTG – 60 H;
16. Espectrofotômetro de absorção atômica (EAA) - modelo CG AA 7000 BC - Instrumentos Científicos CG LTDA.
17. Cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de UV (HPLC-UVD) Varian 920 LC;

18. Coluna cromatográfica Varian RP-18;
19. Espectrômetro Varian Mercury Plus 300;

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Preparação de soluções

As soluções foram preparadas conforme procedimentos descritos por Assumpção; Morita (2000), como visto a seguir: ⁶³

Solução Tampão pH 1, 2; 3; 4; 5 e 6 (Biftalato de sódio/HNO₃/NH₄OH 0,1 mol.L⁻¹) – foi preparada uma solução de Biftalato de sódio a 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ e ajustada com solução de HNO₃ 1,0 10⁻¹ mol L⁻¹ para o pH 1, 2 e 3 e com solução de NH₄OH para o pH 4; 5 e 6, respectivamente.

Solução Tampão pH 7 (HNO₃/NH₄OH 0,1 mol.L⁻¹) – foi preparada uma solução de NH₄OH 1,0 10⁻¹ mol L⁻¹ e ajustada com solução de HNO₃ 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ até pH 7.

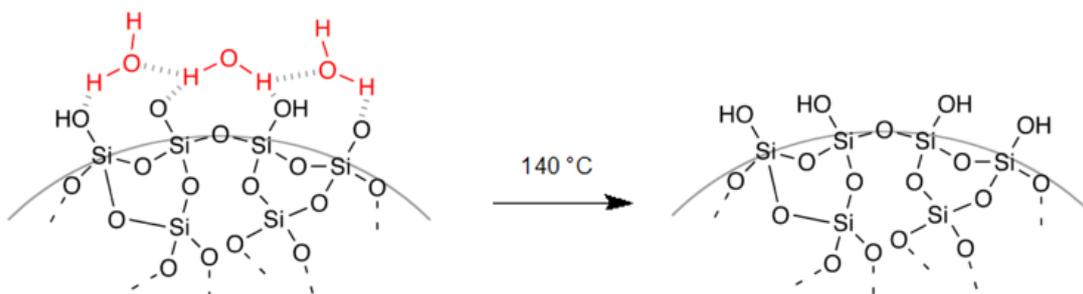
Solução Tampão pH 6, 7 e 8 (NaH₂PO₄/Na₂HPO₄ 0,1 mol L⁻¹) – Duas soluções estoque de 1000 mL foram preparadas separadamente pela dissolução de 27,6 g NaH₂PO₄ e 28,4 g de Na₂HPO₄. Para a obtenção dos pHs 6, 7 e 8, foram utilizadas diferentes proporções de cada uma das soluções estoque, com posterior diluição até 200 mL.

4.2.2 Ativação da Sílica Gel

O processo de ativação térmica da superfície da sílica gel (SiOH) se faz necessário para remover moléculas de água adsorvidas fisicamente e/ou por ligação de hidrogênio, tornando assim, os grupos silanóis livres e acessíveis para reagir com o agente modificador adequado^{36, 37}. Para isso, cerca de 30 g de sílica gel 60, foram inicialmente peneiradas numa faixa granulométrica de 40-90 µm. em seguida submetida a uma secagem em linha de vácuo a 140°C durante 24 h. Após esse tratamento, passou-se nitrogênio gasoso sobre o material e guardou-se em

frasco vedado dentro de um dessecador, contendo sílica-gel secante. A Figura 12, mostra o esquema de eliminação de água dos grupos silanóis da superfície da sílica gel.

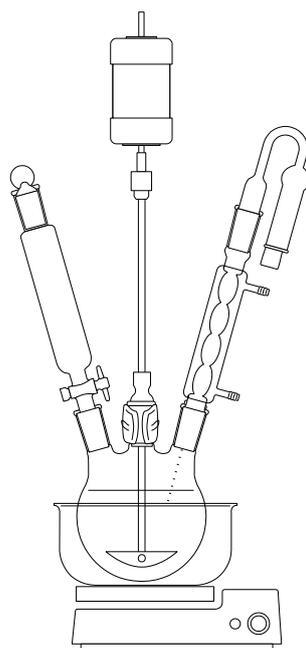
Figura 12 - Eliminação de água dos grupos silanóis na superfície da sílica.



4.2.3 – Organofuncionalização da sílica aminopropiltriétoxissilano

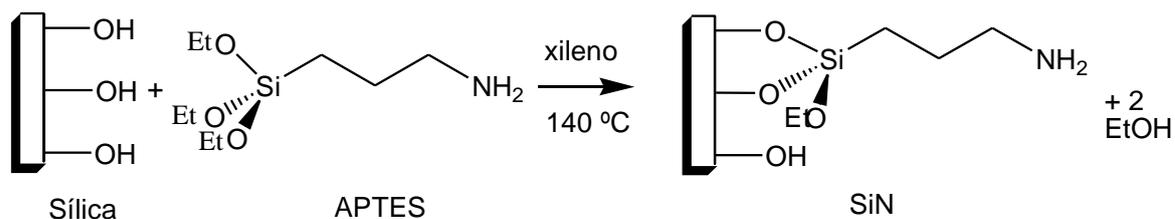
Nesta preparação, cerca de 30 g de sílica gel (SiOH) previamente ativada foram suspensos em 100 mL de xileno seco num balão de fundo redondo de três bocas de 250 mL, acoplado a um condensador de refluxo, contendo tubo secante, um funil de adição e um agitador mecânico como mostra a figura 13. Esta suspensão foi aquecida em banho de glicerina a 110 °C, sob agitação, seguida de lenta adição de 15 mL (0,0543 mol) do agente modificador 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES).^{38,64,65}

Figura 13 - Sistema reacional utilizado na obtenção de (SiN).



A reação foi mantida sob refluxo a 140 °C durante 72 horas. Após resfriamento do sistema, o material foi separado da mistura reacional por filtração e lavado inicialmente com xileno, seguida de lavagens sucessivas com água destilada, etanol, acetona e éter etílico. O produto SiN, foi seco em linha de vácuo em temperatura ambiente por 24 h. A Figura 14, ilustra para esta reação química entre a sílica gel (SiOH) e o agente sililante (APTES) na obtenção do material modificado (SiN).^{65, 66}

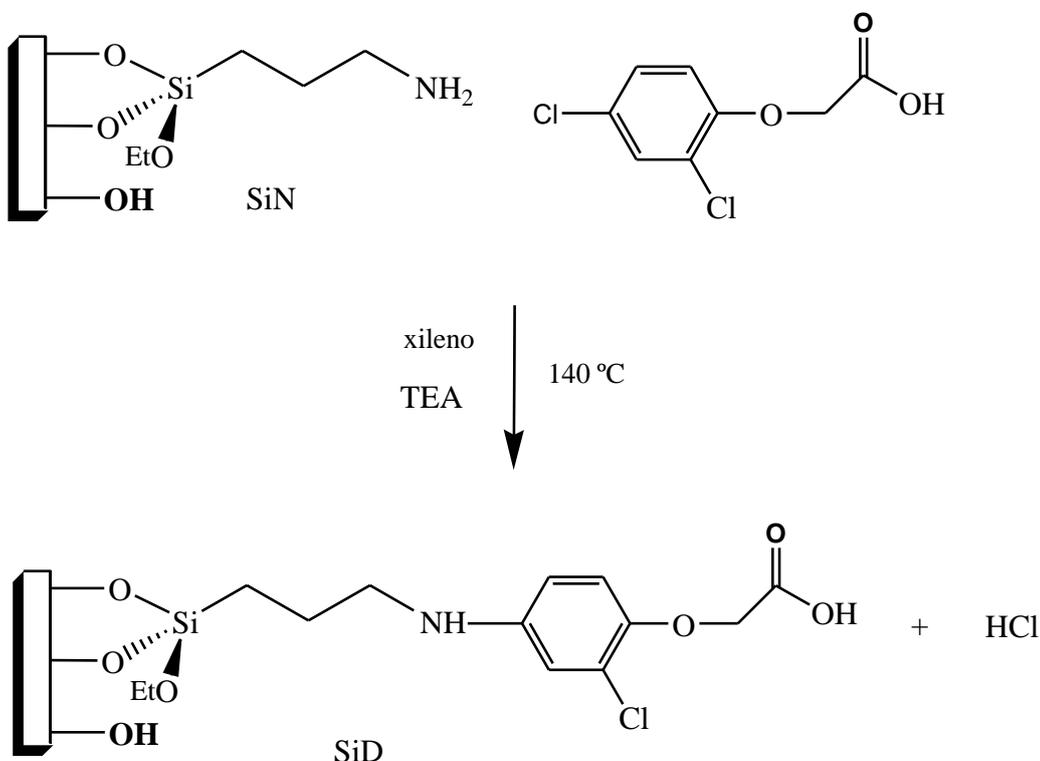
Figura 14 - Reação de modificação da superfície da sílica gel (SiOH) com 3-aminopropiltrióxissilano (APTES).



4.2.4 - Funcionalização de SiN com 2,4-D

Nesta preparação, cerca de 5 g de sílica modificada (SiN) e 2,0 g de 2,4-D e 5 mL de trietilamina (TEA) foram suspensos em 100 mL de xileno seco num balão de fundo redondo de 250 mL de três vias, acoplado a um condensador de refluxo (com tubo secante), a um funil de adição e um agitador mecânico. Essa mistura foi aquecida em banho de glicerina a 140 °C, sob agitação por 72 horas em atmosfera de nitrogênio. O material obtido chamado de SiD, foi separado da mistura reacional por filtração e o excesso de 2,4-D e o cloreto de trietilamina, formado pela neutralização do HCl pela trietilamina foram retirados através de sucessivas lavagens com água e etanol. O mesmo foi seco em linha de vácuo em temperatura ambiente por 24 horas e posteriormente, guardado em dessecador contendo agente secante. A Figura 15, ilustra esta reação.^{36 – 40}

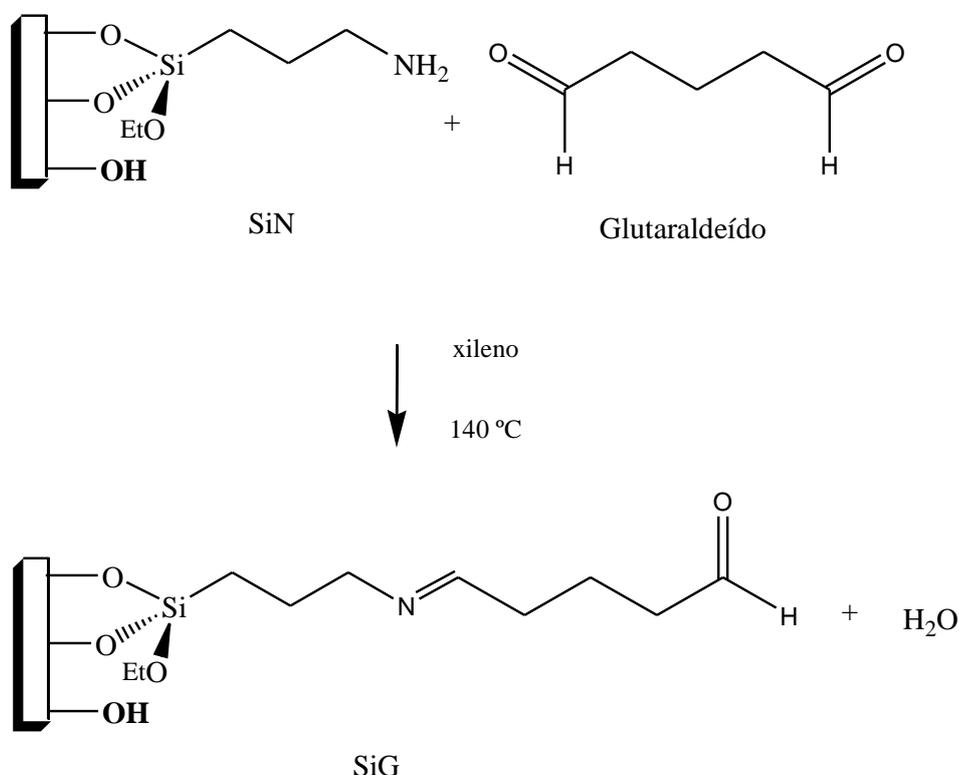
Figura 15 - Reação de funcionalização de SiN com a 2,4-D (SiN).



4.2.5 - Imobilização do glutaraldeído na superfície de SiN

A ativação de suportes com glutaraldeído é uma das técnicas mais populares para a imobilização de enzimas. Trata-se de uma metodologia simples e eficiente e, em alguns casos, até mesmo permite melhorar a estabilidade da enzima. Para tal imobilização, 10,0 g da sílica previamente modificada com APTES (SiN), foram suspensos em 60,0 mL de xileno e 10,0 mL de solução de glutaraldeído a 25%. O sistema foi mantido sob agitação constante e em refluxo de xileno a 140 °C. O material obtido, chamado de SiG, foi separado da mistura reacional por filtração e o excesso de reagentes foi retirado através de sucessivas lavagens com água, etanol, acetona e éter etílico. Em seguida, o mesmo foi seco em linha de vácuo a 90 °C por 24 horas e posteriormente, guardado em dessecador contendo agente secante. A Figura 16, ilustra esta reação.^{67 - 70}

Figura 16 - Reação do material previamente modificado (SiN) com glutaraldeído para a obtenção do suporte SiG.



4.2.6 Produção de lacase

Para a obtenção do extrato de lacase purificado, frascos erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL do meio de cultivo contendo 1,25 % (p/v) de extrato de Malte e 0,0005% (p/v) de sulfato de cobre, foram inoculados com 5 discos (6 mm) de micélio do fungo *Pycnosporus sanguineus* (CCT– 4518) e incubados a 28°C, sob agitação constante de 150 rpm. Após 24 horas, foram adicionados 2 µL de 2,5-xilidina em cada erlenmeyer e os frascos foram novamente colocados sob agitação (150 rpm a 28°C). Após 48 horas, o conteúdo dos erlenmeyers foi filtrado a vácuo com papel de filtro e congelado.^{71, 72}

4.2.7 Imobilização da Lacase

Para a obtenção do suporte contendo a enzima lacase imobilizada sobre a sílica, duas amostras de 1,0 g de cada um dos materiais (SiD e SiG) foram colocadas separadamente em vidros de relógio, onde alíquotas de 250 e 500 µL de extrato de lacase purificado foram adicionadas, sobre as amostras sólidas. Cada um dos materiais foi então misturado por cerca de 15 minutos e posteriormente deixados secar em temperatura ambiente por cerca de 24 horas.

4.2.8 Caracterização dos Materiais Preparados

Os materiais de partida (SiOH), modificado (SiN) e funcionalizados (SiD) e (SiG) foram caracterizados por espectroscopia na região de infravermelho, por medidas de porosidade (BET), termogravimétrica (TG e DTG) e ressonância magnética de carbono 13 e silício 29 (RMN C¹³ e Si²⁹). O teor de grupos organofuncionais na superfície dos materiais derivados de sílica foi determinado mediante análises elementares de carbono, hidrogênio e nitrogênio.

4.2.8.1 Análises Elementares de C, H e N

Para as análises elementares de C, H e N, foi utilizado um equipamento Perkin Elmer com temperatura de combustão de 965 °C e de redução de 640 °C. Foram pesadas massas de aproximadamente 4,0 mg de cada amostra e 2,5 mg do padrão de acetanilida. Em seguida colocou-se a amostra no equipamento para leitura e aferição da massa pesada. Após a calibração do equipamento, foi iniciada a queima da amostra, fornecendo assim os valores percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes nas mesmas.

4.2.8.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho (FTIR)

A análise por espectroscopia de absorção na região do infravermelho dos materiais tem como finalidade identificar as principais bandas vibracionais dos grupos organofuncionais ligados. Os espectros de infravermelho da sílica (pura, modificada e funcionalizada com glurataldeído e 2,4-D) foram obtidos através de um Espectrofotômetro de Infravermelho. As amostras foram previamente secas a 80 °C em linha de vácuo por 24 h, posteriormente, trituradas até completa pulverização em almofariz de ágata. Em seguida, cerca de 1,0 mg de cada amostra foi prensada com cerca de 99,0 mg de brometo de potássio (previamente seco em linha de vácuo a 120 °C por 24 horas), em forma de pastilha sob uma pressão de 6,5 toneladas métricas durante cerca de 3 minutos. Assim, os espectros foram registrados no modo transmitância, na região de 4000 a 400 cm^{-1} .

4.2.8.3 Análises Termogravimétricas (TG e DTG)

As curvas termogravimétricas da sílicas pura (SiOH), modificada (SiN) e funcionalizadas (SiD e SiG) foram obtidas num analisador termogravimétrico Shimadzu modelo DTG-60.

A técnica consiste no registro contínuo de perda de massa da amostra em função da temperatura. Desse modo, amostras de cada material pesando cerca de

6 mg, foram colocadas num cadinho de platina e submetidas a um aquecimento contínuo de 25 a 900 °C, numa velocidade programada de 10 °C min⁻¹, sob atmosfera ar sintético a um fluxo de 20 mL min⁻¹.

4.2.8.4 Determinação da porosidade dos materiais

Para se fazer as medidas de porosidade dos materiais, fez-se inicialmente um aquecimento prévio de cada amostra sob vácuo a 120 °C, com a finalidade de eliminar possíveis gases adsorvidos em cada superfície e de água adsorvida fisissorvida. Assim, a determinação da área superficial específica (S_{BET}), volume de poros (V_P), diâmetro médio (D) e distribuição dos poros (BJH) das superfícies dos materiais foram obtidas no analisador automático de adsorção física Micromeritics - modelo ASAP 2010. Neste método, um volume de gás nitrogênio é adsorvido, formando a -196 °C multicamadas na superfície da amostra.

O modelo de isotermas mais utilizado atualmente para o cálculo da área superficial de um material foi deduzido por Stephen Brunauer, Paul Emmett e Edward Teller, conhecido como BET (*Brunauer, Emmett e Teller*).¹³⁵ De acordo com este modelo, uma monocamada adsorvível opera como substrato para adsorção de outras camadas do gás, levando a uma saturação à altas pressões, acarretando num aumento da adsorção por área do material.⁷³

As isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio do material são obtidas em função da pressão relativa (P/P_0) (onde: P_0 é a pressão de saturação do gás). A isoterma obtida mostra a relação entre o número de mols de gás adsorvido ou dessorvido por um sólido, a uma temperatura constante em função da pressão do gás.^{73, 74}

4.2.8.5 Espectroscopia de RMN de ²⁹Si no estado sólido

A análise de Ressonância Magnética Nuclear de ²⁹Si para SiOH, SiN, SiD e SiG foram obtidas em um espectrômetro Varian Mercury Plus 300 Hertz à

temperatura ambiente. Para cada análise, aproximadamente 1,50 g de material foi compactado dentro de um rotor de nitreto de silício de 7 mm. As medidas foram obtidas em uma frequência de 59,61 MHz para silício, com a velocidade do ângulo mágico de spin de 3 KHz. Foi utilizado no processo a técnica CP/MAS, para aumentar o sinal da taxa de ruído dos espectros de ^{29}Si no estado sólido. Os espectros foram obtidos com repetição de pulso de 1 s e tempo de contato de 1 ms.

4.2.8.6 Espectroscopia de RMN de ^{13}C no estado sólido

As Ressonâncias Magnéticas Nucleares das amostras sólidas foram obtidas em um espectrômetro Bruker Avance 500 III, operado a 11,75 Tesla (125,76 MHz para ^{13}C). Para cada análise, aproximadamente 1,0 g de sílica modificada foi compactada dentro de um rotor de nitreto de silício. As medidas foram obtidas numa frequência de 75,47 MHz, com a velocidade do ângulo mágico de spin de 4 KHz. Neste processo, utilizou-se a técnica CP/MAS para aumentar o sinal da taxa de ruído dos espectros de ^{13}C no estado sólido. Os espectros de ^{13}C CP/MAS foram obtidos com repetição de pulso de 1 s e 3 s, e tempo de contato de 1 e 5 ms, respectivamente.

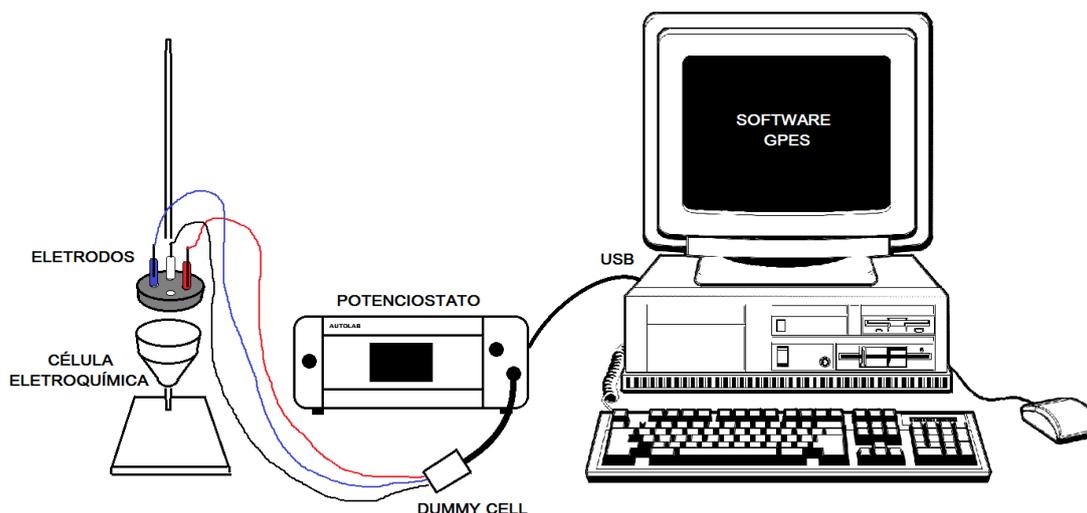
4.2.9 Estudos eletroquímicos

Os ensaios voltamétricos foram realizados em um Potenciostato/Galvanostato μ Autolab III[®] integrado ao software GPES 4.9[®]. A cela eletroquímica utilizada apresenta volume de 10 mL e um sistema de três eletrodos. O eletrodo saturado de calomelano Dropsens[®] (Oviedo, Espanha) usado como eletrodo referência e o eletrodo de Platina como contra-eletrodo ou auxiliar. O eletrodo de trabalho utilizado neste trabalho foi um eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado, preparado a partir da homogeneização de grafite em pó e quantidades apropriadas dos materiais SiD e SiG + Lacase e óleo mineral Nujol em diferentes proporções (como mostra a tabela 2). A figura 17 mostra o esquema de montagem do equipamento para as medidas eletroquímicas.

Os parâmetros eletroanalíticos utilizados para Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) foram: tempo de equilíbrio 60 s; tempo de modulação 0,05 s;

tempo de intervalo 0,5 s; medida do potencial 4,95 mV; amplitude de modulação 50 mV; potencial inicial 0,35 V e potencial final -0,1 V. Todas as medidas foram realizadas à temperatura ambiente.

Figura 17 – Esquema do aparato utilizado nas medidas eletroquímicas



4.2.9.1 Preparação dos Eletrodos Quimicamente Modificados (EQMs)

Os eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados com os diferentes materiais, foram preparados pela maceração das sílicas com grafite em pó e óleo mineral (Nujol®).

Com o objetivo de se determinar a melhor composição da pasta de carbono para se obter uma melhor resposta, foram preparadas diferentes composições da mesma, variando-se a proporção entre a sílica modificada, o grafite em pó e também a quantidade de extrato de lacase de acordo com a Tabela 2.

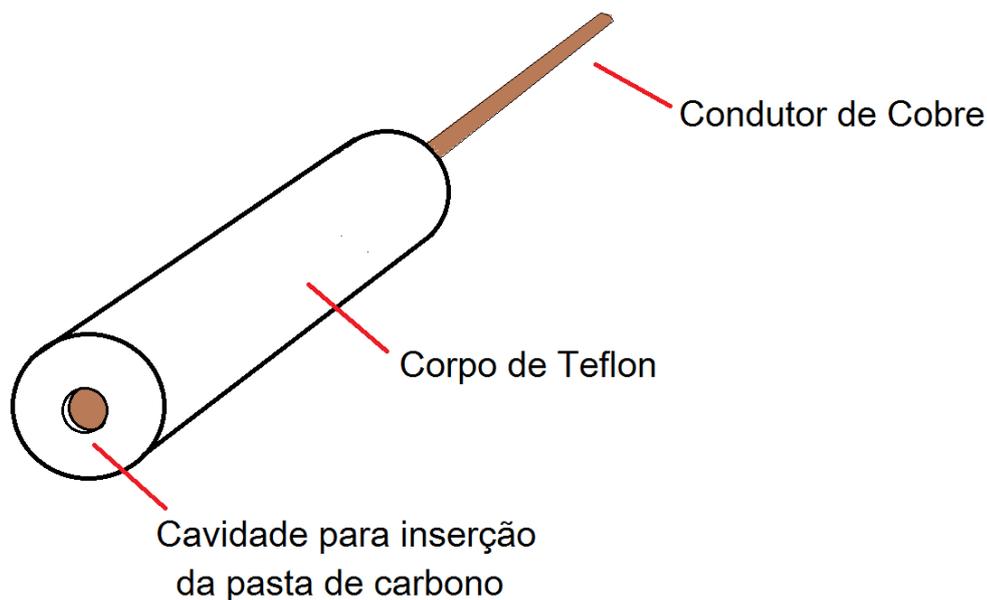
Tabela 2 – Composição das pastas de carbono preparadas com as sílicas SiD e SiG.

Amostra*	Teor de sílica modificada (%)	Volume lacase ($\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$)
SiD ₁	5	-
SiD ₂	15	-
SiD ₁ L ₁	5	250
SiD ₁ L ₂	5	500
SiD ₂ L ₁	15	250
SiD ₂ L ₂	15	500
SiG ₁	5	-
SiG ₂	15	-
SiG ₁ L ₁	5	250
SiG ₁ L ₂	5	500
SiG ₂ L ₁	15	250
SiG ₂ L ₂	15	500

* L1 e L2 representam o uso de 250 e 500 μL de extrato de lacase respectivamente.

Cada uma das pastas foi então depositada na superfície da base do eletrodo de trabalho, como demonstra a Figura 18. Após cada ensaio, o material depositado no eletrodo foi então retirado com o auxílio de uma escova odontológica, lavado cuidadosamente com água destilada e seco com papel absorvente.

Figura 18 – Esquema do eletrodo utilizado na obtenção do EQM



4.2.9.2 Estudo do efeito do pH sobre os materiais

A voltametria de pulso diferencial é uma das técnicas de pulso mais importantes em eletroanalítica. Nela, a corrente é medida imediatamente antes e imediatamente depois da aplicação de um pulso de potencial. A altura correspondente à corrente de pico é proporcional à concentração da espécie oxidada/reduzida. A voltametria de pulso diferencial fornece picos bem definidos e apresenta uma sensibilidade significativamente maior que os métodos voltamétricos clássicos com um limite de detecção na faixa de 10^{-7} a 10^{-8} mol L⁻¹

Foram efetuadas diversas medidas eletroquímicas em soluções $9,05 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ de 2,4-D e $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ de catecol, utilizando a técnica de diferencial de pulso, fazendo variar o pH da solução entre 1,0 e 7,0 no caso da solução de 2,4-D e de 3,0 a 9,0 no caso das soluções de catecol com o uso de tampões. As medidas foram efetuadas num intervalo de -1.0 a $+1.0$ V em solução aquosa $0,1$ mol L⁻¹ do tampão (eletrólito) a uma velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹.

4.2.9.3 Determinação do limite de quantificação dos analitos

Para se conhecer os limites de detecção de cada um dos micropoluentes (2,4-D e catecol e solução), foram feitos experimentos de voltametria por diferencial de pulso nas condições de potencial e pH otimizados, utilizando como eletrodo de trabalho, o eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado, contendo a combinação de melhores resultados. Os estudos de Voltametria por diferencial de pulso (DPV) foram efetuados sempre em soluções aquosas tamponadas ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em temperatura ambiente (em torno de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Foram feitas leituras após a adição de alíquotas de 20, 40, 60, 80, 150, 200, 250, 300 e $400 \text{ }\mu\text{L}$ de cada analito na célula eletroquímica contendo o eletrólito (tampão). Os limites de detecção e de quantificação foram determinados como sendo o sinal correspondente a 3 (três) e 10 (dez) vezes o ruído.

4.2.9.4 Reprodutibilidade e Estabilidade dos sensores

A capacidade de reprodução e das respostas dos sensores e biossensores entre ensaios foi testada, determinando-se as respostas das correntes de pico da DPV obtidas para soluções de $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de 2,4-D e $5,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de catecol em 3 EQMs diferentes, substituindo-se a pasta após cada ensaio. A estabilidade dos eletrodos foi avaliada após um período de armazenamento da pasta de carbono de 21 dias a temperatura de aproximadamente de $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

A graphic for Chapter 5. It features a grey rounded square containing the word 'CAPÍTULO' in white uppercase letters at the top, and a large white number '5' in the center. To the right of the square, the words 'RESULTADOS E DISCUSSÃO' are written vertically in bold black uppercase letters.

CAPÍTULO
5
**RESULTADOS E
DISCUSSÃO**

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO

O procedimento sintético para produzir os sensores SiG e SiD foi baseado na modificação das sílicas com 3-aminopropiltriethoxisilano (APTES) para obter a superfície precursor (SiN), como de acordo com a equação representada pela Figura 14. A sílica assim modificada adquiriu uma coloração amarelo-pálido, diferente da sílica gel (SiOH) que era totalmente branca.

O precursor SiN reagiu com o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) para formar o produto SiD, como de acordo com a equação química mostrada na Figura 15. O precursor SiN também foi utilizado para a obtenção do produto SiG, a partir da reação com glurataldeído, de acordo com a equação química mostrada na Figura 16. A sílica modificada (SiG) adquiriu uma coloração vermelha.

Para confirmar a efetiva modificação das superfícies das sílicas, foram feitas diversas caracterizações do precursor (SiOH) e dos produtos (SiN, SiD e SiG).

5.2 – ANÁLISES ELEMENTARES DE C, H e N

As Análises Elementares de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos materiais de partida e quimicamente modificados, são de grande importância pois ajudam a estimar o grau de modificação da superfície da sílica e também são base para o cálculo do grau de funcionalização das mesmas.

A Tabela 3 mostra o resultado das análises elementares de carbono, hidrogênio e nitrogênio, obtidas com um analisador PE-2400 elemental analisador (Perkin-Elmer, EUA)

Tabela 3 – Resultado das análises elementares de CHN dos materiais

Amostra	% C	% H	% N
SiOH	-----	0,63	0,01
SiN	6,92	1,69	1,78
SiG	15,14	2,32	1,82
SiD	14,18	1,66	1,44

Evidencia-se que houve um expressivo aumento nos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio das sílicas modificadas em relação ao material de partida (SiOH), o que evidencia a efetiva modificação química da superfície da sílica gel, com a inserção dos grupos orgânicos.

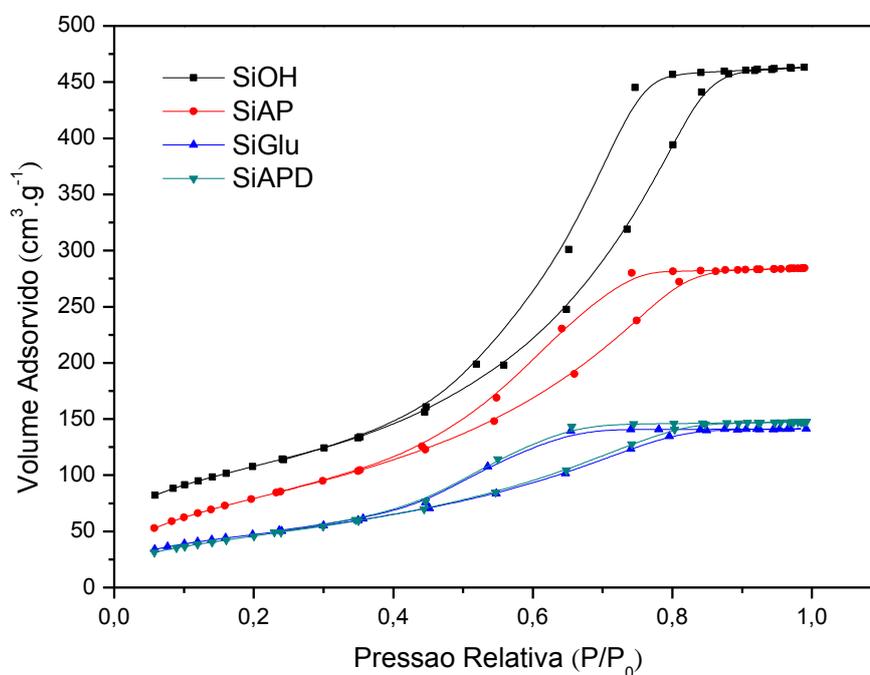
O grau de funcionalização das sílicas foi determinado a partir dos percentuais de carbono das análises elementares e os valores obtidos foram de $1,92 \cdot 10^{-3}$ mol de APTES por grama de SiN, $1,57 \cdot 10^{-3}$ mol de Glutaraldeído por grama de SiG e $1,15 \cdot 10^{-3}$ mol 2,4-D por grama de SiD.

5.3 ANÁLISES DE SUPERFÍCIE

As isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio da sílica gel (SiOH) e das sílicas modificadas (SiN, SiD e SiG) são apresentadas na Figura 19. Observa-se que as mesmas apresentam um gradativo aumento de volume de N_2 adsorvido até a pressão relativa de 0,43. A partir da pressão relativa de 0,80, observa o aparecimento de uma histerese, fenômeno associado principalmente à materiais mesoporosos. Verifica-se ainda que o perfil das isotermas não foi alterado, indicando que as características estruturais da matriz mesoporosa foram preservadas. Contudo, observa-se uma redução do volume adsorvido/dessorvido do material SiN em relação à sílica gel e também dos materiais SiD e SiG em relação ao seu precursor (SiN) para todos os valores de pressão relativa,

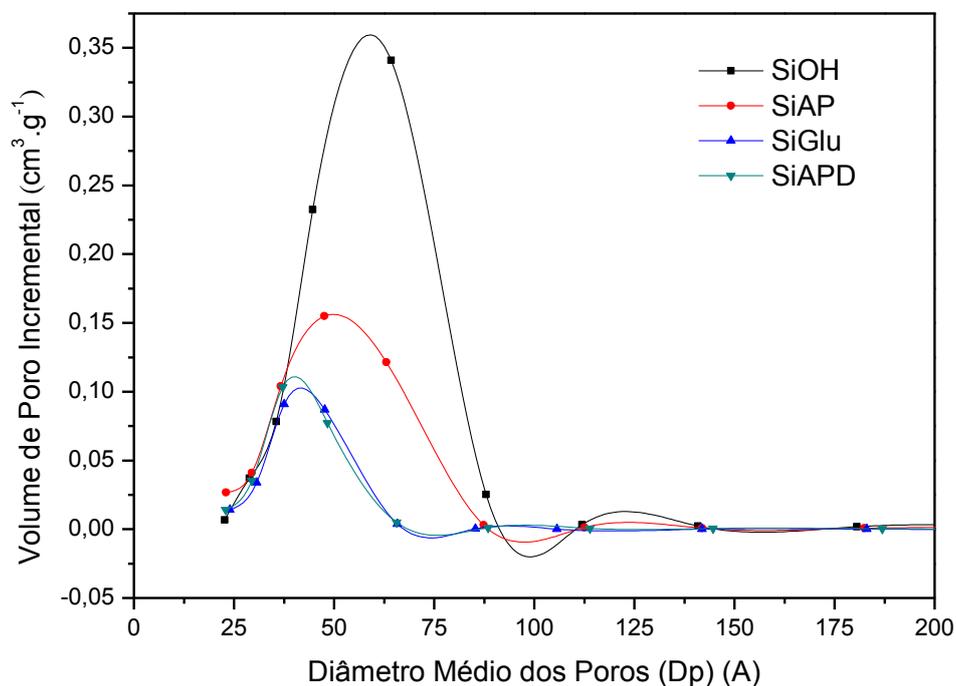
provavelmente devido ao preenchimento dos poros da sílica pelas moléculas orgânicas imobilizadas na superfície destes materiais.^{73 – 76}

Figura 19 - Isotermas de adsorção de nitrogênio



A determinação da área superficial específica S_{BET} dos materiais foi feita pela determinação do volume de nitrogênio gasoso, adsorvido em diversas pressões a 77 K. Esta medida de tamanho de poros possibilita a obtenção do diâmetro médio dos poros (D_p). Na Figura 20, são mostradas as curvas de distribuição do tamanho dos poros em função da quantidade de nitrogênio gasoso, adsorvido nos materiais SiOH, SiN e SiD e SiG.

Figura 20 - Curvas de distribuição de tamanhos de poros (D_P) dos materiais.



As características físicas dos materiais, tais como: área superficial (S_{BET}), volume dos poros (V_P), diâmetro médio dos poros (D_P) e distribuição de tamanho dos poros das sílicas são mostradas na Tabela 4.

Tabela 4 - Área superficial (S_{BET}), variação da área superficial (ΔS), volume de poro (V_P) e diâmetro médio de poros (D_P) dos materiais.

Materiais	S_{BET} ($m^2.g^{-1}$)	ΔS_{BET} ($m^2.g^{-1}$)	V_P ($cm^3.g^{-1}$)	D_P (Å)
SiOH	391	-	0,71	58
SiN	303	87	0,43	49
SiG	174	129	0,21	41
SID	173	130	0,22	40

Observa-se uma diminuição da área superficial dos materiais modificados em relação aos seus precursores, tal diminuição indica haver um recobrimento de parte da superfície dos poros pelos grupos orgânicos, impedindo, dessa forma, o acesso de moléculas de nitrogênio gasoso à superfície interna da matriz. O fluxograma abaixo, ajuda a ilustrar como os valores de D_p (diâmetro médio de poros) e S_{BET} (área superficial específica) diminuem coordenadamente com a sequência de reações de modificação da superfície da sílica. Observa-se uma boa proximidade nas características de porosidade dos materiais SiD e SiG, ambos derivados do material SiN.^{73, 76}

5.4 CÁLCULO DA DISTÂNCIA MÉDIA ENTRE OS GRUPOS LIGANTES (D) EM SiD e (Glu) em SiG

O grau de funcionalização da sílica gel pode ser expresso em termos da densidade superficial de moléculas imobilizadas na superfície da sílica (d), definida como uma quantidade em mol de moléculas do grupo funcional ligadas à superfície por unidade de área, que pode ser estimada através da Equação 1. Levando-se em consideração os dados de grau de funcionalização e os parâmetros de superfície contidos na Tabela 4, pode-se estimar o valor da distância média (l) de ligantes (L) nos materiais modificados.^{77, 78, 79}

$$(Equação 1) \quad d = \frac{nL \cdot N}{S_{BET}}$$

Onde: d = densidade superficial de moléculas ligantes (moléculas m^{-2}); nL = quantidade em mol de grupo funcional ligado por grama de sílica gel (mol g^{-1}); N = número de Avogadro ($6,023 \cdot 10^{23}$ moléculas mol^{-1}) e S_{BET} = área superficial específica do material funcionalizado ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$).⁷⁹

Sabendo-se então, que a densidade superficial de moléculas ligantes (d) é inversamente proporcional a área ocupada por uma molécula do grupo funcionalizado, pode-se estimar a distância média (l) entre elas na superfície da sílica através da Equação 2.⁷⁹

$$(Equação 2) \quad S = \frac{1}{d}$$

Onde: S = área ocupada por uma molécula ligante (nm²) e d = densidade superficial de moléculas ligantes (moléculas m⁻²).

Para calcular esta distância, delimita-se arbitrariamente sobre a superfície um quadrado de lado l e com área (S) dada por (l²). Portanto, a distância média (l) entre as moléculas ligantes é igual ao lado deste quadrado (considerando que as mesmas sejam ligadas perpendicularmente à superfície), expresso pela Equação 3.

$$(Equação 3) \quad l = \sqrt{S}$$

Onde: l = distância média entre as moléculas ligantes (nm) e S = área ocupada por uma molécula ligante (nm²).

Conhecendo-se os valores de área superficial específica das superfícies SiD e SiG (Tabela 4) e também a quantidade em mol de grupos organofuncionalizados por grama da superfície (Tabela 3), determina-se, portanto, a densidade superficial de moléculas ligantes (d) (Eq. 1), a área ocupada por uma molécula ligante (S) (Eq. 2) e a distância média entre as moléculas ligantes (l) (Eq. 3).

Sabendo-se que as superfícies SiD e SiG tem respectivamente 1,15 10⁻³ mol e 1,57 10⁻³ mol de ligantes imobilizados por grama de sílica e a área superficial específica de SiD e SiG são respectivamente 174,00 e 173,23 m² g⁻¹, substituindo-se estes valores na Equação 1, pode-se calcular a densidade (d) de moléculas de 2,4-D e de glutraldeído funcionalizadas nas superfícies de SiD e SiG respectivamente, determinando-se os valores de 3,98 10¹⁸ moléculas de 2,4-D por m² da superfície de SiD (ou 3,98 moléculas por nm²) e 5,45 10¹⁸ moléculas de glutraldeído por m² de SiG (ou 5,45 moléculas por nm²).

Utilizando-se a Equação 2, pode-se calcular a área (S) ocupada por cada molécula em ambas as superfícies, sendo então determinado os valores de 0,251 nm² para a molécula do 2,4-D e 0,183 nm² para a molécula de glutraldeído.

Substituindo-se o valor de (S) na Equação 3, pode-se calcular a distância média (l) entre as moléculas ligantes em ambas as superfícies, que é de 0,50 nm para o 2,4-D em SiD e 0,42 nm para o glutaraldeído em SiG.

A Tabela 5, resume os valores calculados de (d), (S) e (l) para as superfícies de SiD e SiG

Tabela 5 - Densidade superficial de moléculas ligantes (d), área ocupada por uma molécula ligante (Ha) e distância média entre as moléculas (l) em SiD e SiG

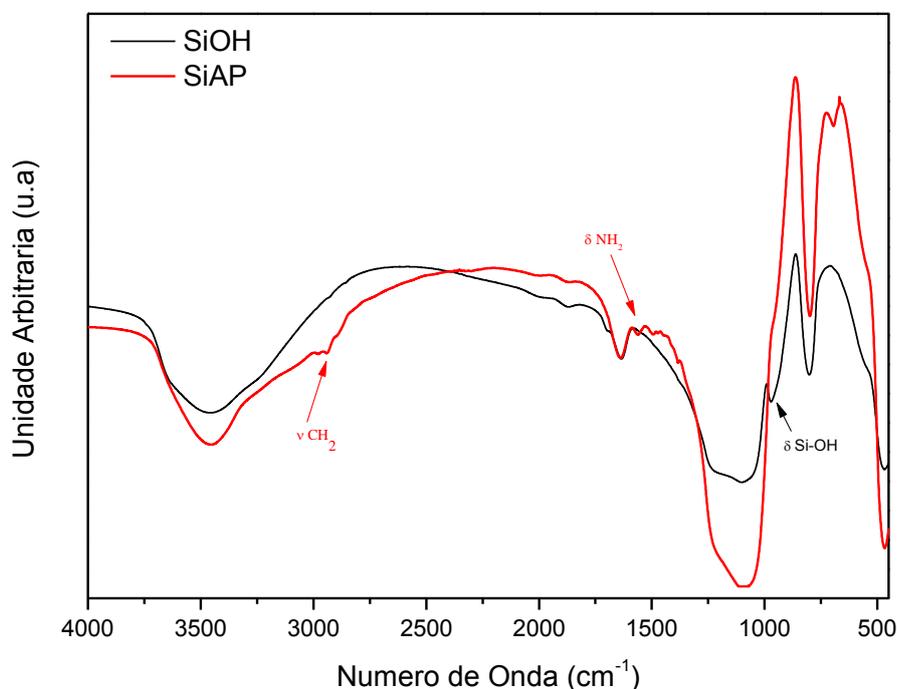
Material	d (moléculas nm⁻²)	S (nm²)	l (nm)
SiD	3,98	0,251	0,50
SiG	5,45	0,183	0,42

De acordo com a Tabela 5, pode-se concluir que as reações de modificação da superfície da sílica gel com grupamentos orgânicos apresentou uma grande eficiência, havendo assim uma boa distribuição dos grupamentos orgânicos de interesse ao longo da superfície dos materiais funcionalizados.

5.5 ANÁLISE DOS MATERIAIS POR ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR)

Os espectros de FTIR da sílica pura (SiOH), modificada (SiN) e funcionalizada com 2,4-D (SiD) e com glutaraldeído (SiG), foram obtidos na região de 4000 a 400 cm^{-1} . Para comparação e melhor visualização, estes espectros estão apresentados dois a dois nas figuras 21, 22 e 23 a seguir.

Figura 21 - Espectros de infravermelho de SiOH e SiN obtidos na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} .

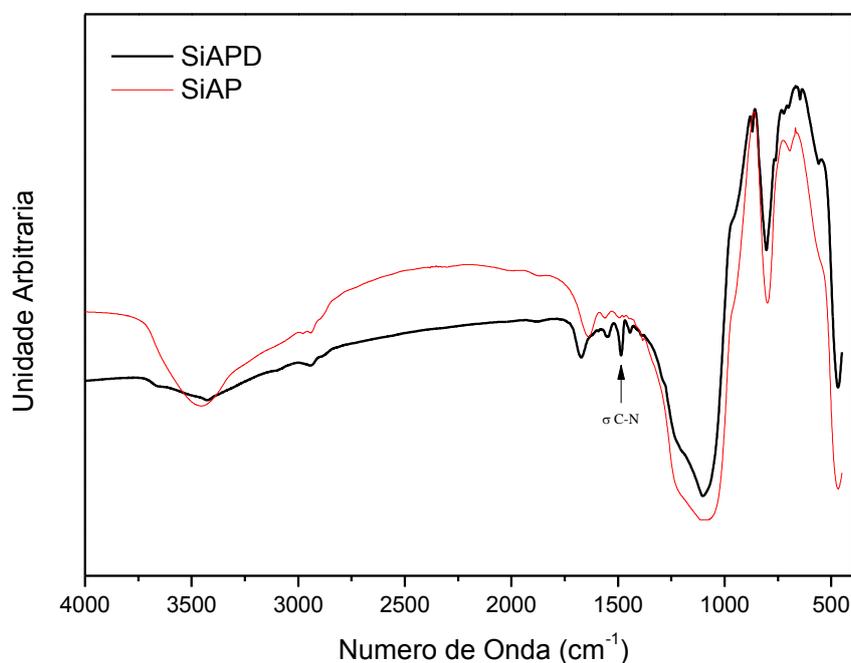


Na Figura 21, pode-se observar os espectros de FTIR da sílica gel (SiOH) e do produto de modificação da mesma com 3-aminopropiltriétoxissilano (SiN), de onde podem ser observadas algumas bandas principais, como segue: (a) uma banda grande e larga na região de 3500 cm^{-1} atribuída à frequência do estiramento de O-H dos grupos silanóis e também à presença de água fisissorvida, (b) na região de 2000 a 1800 cm^{-1} as bandas que aparecem são características de vibração de combinação do esqueleto da sílica (Si-OH) (c) uma banda intensa em 1100 cm^{-1} relacionada com o estiramento (Si-O-Si)_n do siloxano e (d) bandas em 750 cm^{-1} e

960 cm^{-1} atribuídas à frequência de estiramento Si-OH de grupos silanóis.⁵⁰ e) uma banda em torno de 1650 cm^{-1} , atribuída à vibração angular de moléculas de água, (f) uma banda fraca em 1560 cm^{-1} atribuída à deformação angular simétrica no plano N-H do grupamento APTES. A banda em 1069 cm^{-1} , referente à deformação axial da ligação C-N não pode ser visualizada, pois provavelmente foi encoberta pela banda dos grupos siloxanos (Si-O-Si), que aparece na mesma região (g) bandas nas regiões de 2900 atribuídas ao carbono sp^3 do fragmento propílico do ligante APTES (h) e em 1460 cm^{-1} atribuídas a deformação angular assimétrica do carbono sp^3 da metila presente nos fragmentos alcóxi (-OCH₂CH₃) que não reagem do APTES.^{38, 80, 81}

Na Figura 22, pode-se observar os espectros de FTIR da sílica modificada com 3-aminopropiltrietóxisilano (SiN) e do produto da reação da mesma com o pesticida 2,4-D (SiD).

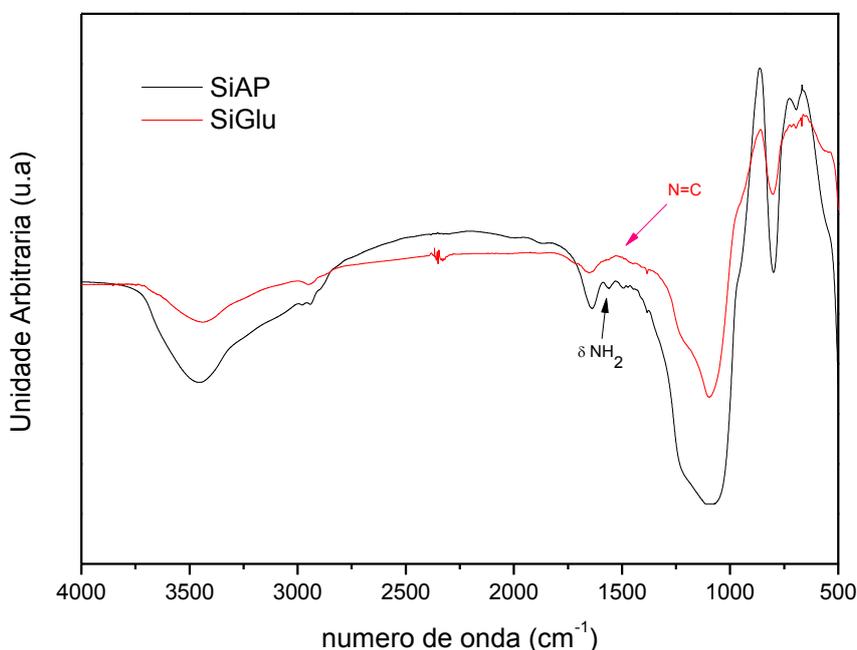
Figura 22 - Espectros de infravermelho de SiN e SiD obtidos na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} .



De modo geral, observa-se que as bandas referentes à presença de água fisissorvida e as bandas relacionadas à estrutura da sílica, praticamente não apresentaram mudanças após a inserção da molécula de 2,4-D na superfície da sílica, contudo, pode-se observar no espectro da sílica SiD a presença de uma banda intensa, localizada por volta de 1460 cm^{-1} , que deve estar relacionada com a formação da ligação C-N entre o grupamento -NH_2 do APTES e o grupo cloreto do 2,4-D. As demais bandas do pesticida não puderam ser visualizadas por estarem encobertas pelas bandas do esqueleto da sílica.^{36, 81}

Na Figura 23, pode-se observar os espectros de FTIR da sílica modificada com 3-aminopropiltrietóxisilano (SiN) e do produto da reação da mesma com o glutaraldeído (SiG).

Figura 23 - Espectros de infravermelho de SiN e SiG obtidos na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} .



Após a imobilização da molécula do glutaraldeído na superfície da sílica SiN, poucas mudanças nas absorções no IV puderam ser observadas, havendo apenas ligeiras mudanças na intensidade das bandas. Não obstante, observa-se o

desaparecimento da banda na região de 1560 cm^{-1} (visível em SiN) atribuída à deformação angular simétrica no plano N-H, devido a formação da ligação (C=N) entre o glutaraldeído e o $-\text{NH}_2$ do SiN. Uma banda por volta de 1650 cm^{-1} é esperada para o glutaraldeído, porém, a mesma está encoberta pela banda da deformação angular dos grupos OH da água que ocorre na mesma região.^{67, 68, 69,}
81

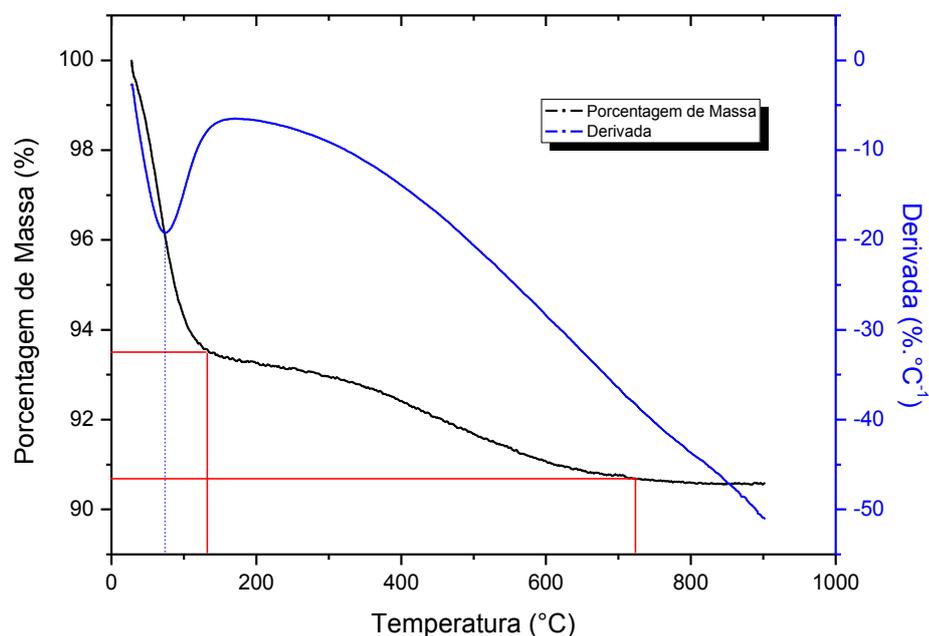
5.6 ANÁLISES TÉRMICAS DOS MATERIAIS

Após as análises térmicas dos materiais, foram construídas curvas termogravimétricas dos materiais, com a finalidade de se avaliar a estabilidade térmica e a perda de massa relacionada à decomposição dos grupos orgânicos ligados, através de um processo de aquecimento contínuo de temperatura.

As curvas de TG e DTG de todos os materiais são mostradas nas Figuras 24, 25, 26 e 27, as quais expressam a perda de massa (%) em função da temperatura ($^{\circ}\text{C}$). As curvas de TG e DTG da sílica pura (SiOH) são mostradas na Figura 26.

A sílica gel apresenta mudança em sua superfície quando sofre um tratamento térmico progressivo. Essas mudanças podem ser observadas na faixa de temperatura de 50 a $720\text{ }^{\circ}\text{C}$.

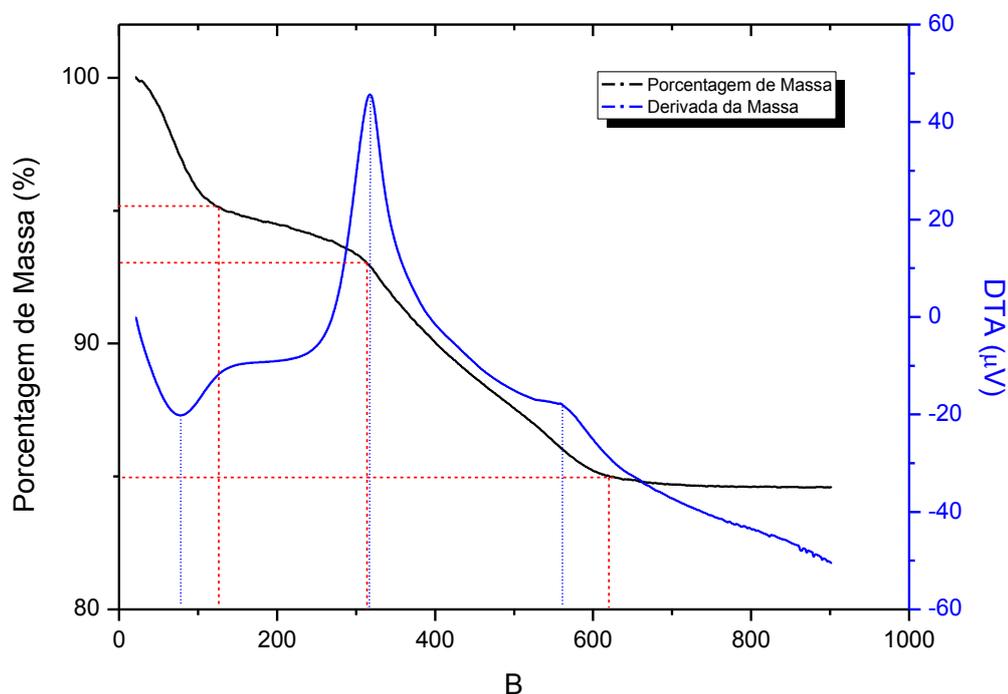
Figura 24 - Curvas de TG e DTG da superfície (SiOH).



Nas curvas de TG e DTG da sílica (SiOH), observa-se uma grande perda de massa (aproximadamente 7 %) no intervalo de temperaturas de 25 a 130 °C, com pico máximo em 75 °C, tal perda é atribuída à dessorção de água fisissorvida, presente na superfície, observa-se que trata-se de um pico negativo, confirmando o processo endotérmico envolvido na evaporação da água. Uma segunda perda de massa de 3 % é observada entre 140 a 720 °C, tal perda pode ser atribuída à condensação dos grupos silanóis vicinais (-Si-OH) com a consequente desidratação da superfície e a formação de grupos siloxanos (Si-O-Si). Esta característica térmica da sílica justifica o cuidado de se proceder a ativação de sua superfície em temperaturas inferiores a 140°, garantindo assim a perda somente das moléculas de água fisissorvidas na superfície da mesma.^{82, 83}

A Figura 25 traz as curvas de TG e DTG da sílica modificada com APTES (SiN)

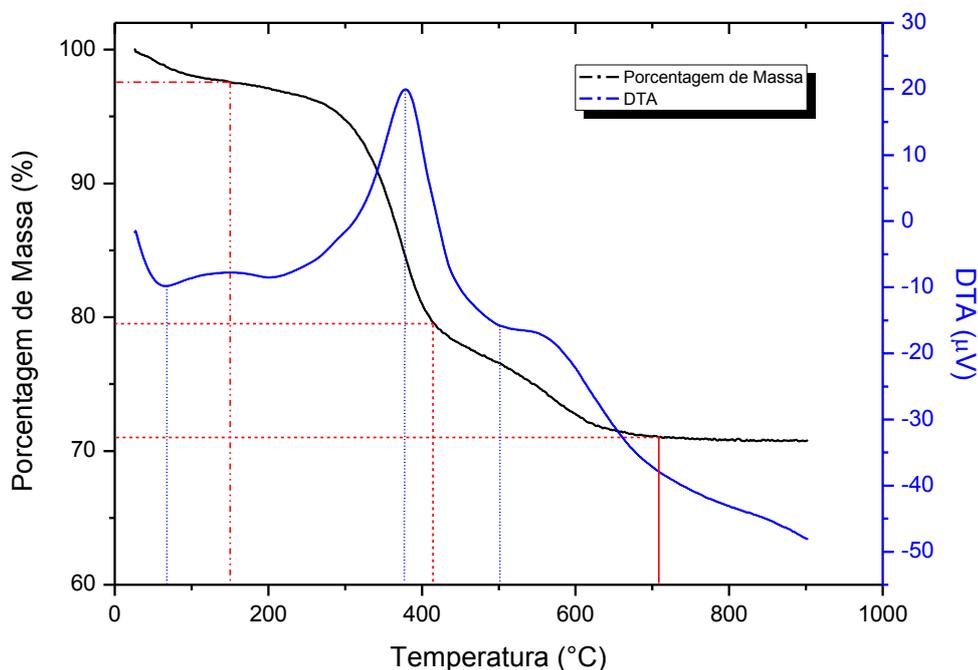
Figura 25 - Curvas de TG e DTG da superfície (SiN).



Nas curvas de TG e DTA da sílica modificada (SiN) observa-se três faixas de temperatura nas quais são observadas perdas de massa, uma primeira perda de massa de cerca de 5 % que ocorre na faixa de temperatura de 25 a 130 °C, com máximo de perda em 80 °C, tal perda de massa é atribuída à perda de água superficialmente fisissorvida. Um pico positivo (exotérmico) com perda de 2 % de massa, que ocorre no intervalo de 130 a 320 °C, referente a queima de matéria orgânica (referentes ao agente sililante APTES) ligada covalentemente na superfície do material (SiN). Observa-se também uma terceira faixa de temperatura onde ocorre perda de massa, compreendida entre 320 e 700 °C com pico em 560 °C, referente à condensação dos grupos silanóis na formação dos grupos siloxanos.^{82 - 84}

As curvas de TG e DTA da sílica funcionalizada com o pesticida 2,4-D (SiD) são mostradas na figura 26.

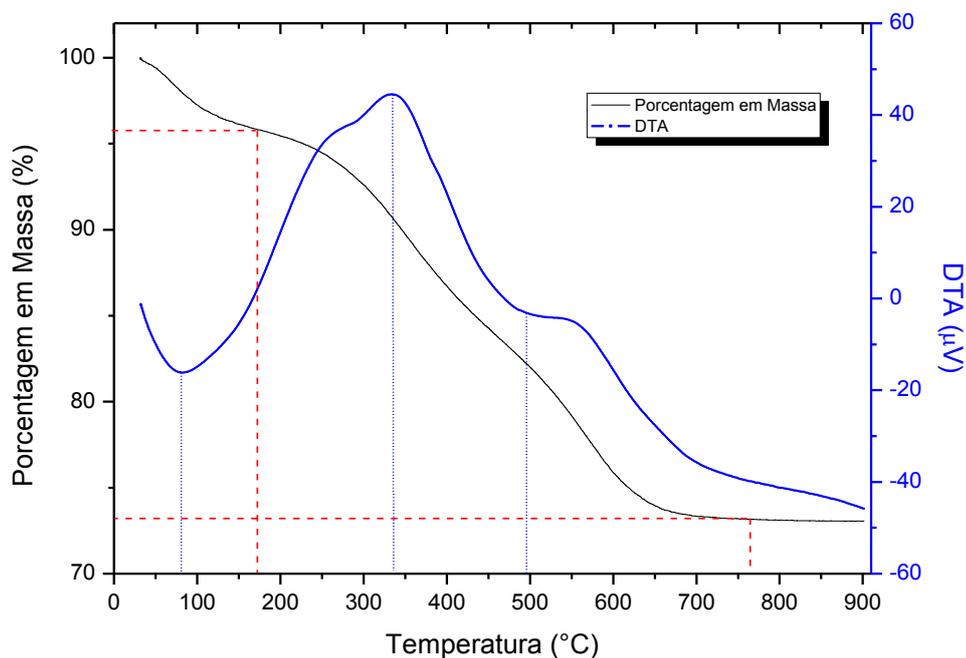
Figura 26 - Curvas de TG e DTA da superfície (SiD).



A Figura 26 mostra a curva de termogravimetria de SiD. A curva Tg exhibe três regiões de perda de massa. A primeira região referente a perda de água fisicamente adsorvida (25 a 150 °C), com perda de aproximadamente 2,5 %, com pico em 75 °C. A segunda região, que está situada entre 150 e 410 °C, com pico em 380 °C e é atribuída à decomposição térmica dos compostos orgânicos imobilizados na superfície da sílica e corresponde a uma perda de 18 %, tal perda pode ser atribuída a condensação dos grupos silanóis com a consequente desidratação da superfície e a formação de grupos siloxanos (Si–O–Si) e a terceira faixa de decomposição térmica situada entre 410 e 700 °C.^{84,85}

A Figura 27 traz as curvas de TG e DTA da sílica funcionalizada com o glutaraldeído (SiG).

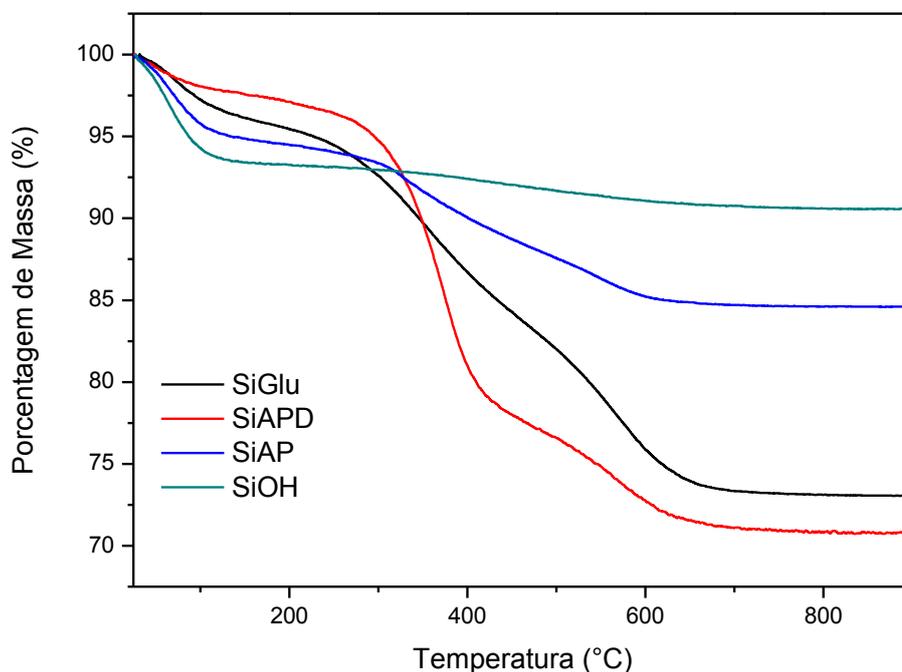
Figura 27 – Curva de TG e DTG da superfície (SiG).



Nas curvas de termogravimétricas da sílica modificada com o glutaraldeído (SiG) podem ser observadas duas faixas distintas de temperatura, nas quais são observadas perdas de massas, uma primeira perda de massa de cerca de 4 % ocorre na faixa de temperatura de 25 a 160 °C, com máximo em 80 °C, que é atribuída à perda da água adsorvida fisicamente presente na superfície do material. Uma segunda perda de massa de cerca de 25 % ocorre no intervalo de 160 a 750 °C, relacionada à queima de matéria orgânica.^{86, 87}

A Figura 28 mostra a comparação entre as curvas de TG dos materiais.

Figura 28 - Curvas de TG das superfícies SiOH, SiN, SiD e SiG.



Com base na Figura 28, pode observar a diferença entre os perfis das curvas termogravimétricas das sílicas SiOH, SiN, SiD e SiG, que corroboram as evidências que as reações na superfície da sílica foram efetivas e que os ligantes são termicamente estáveis nas faixas de temperaturas em que cada material foi submetido durante as reações e também durante os processos de secagem e ativação.⁸⁷

A Tabela 6 mostra as perdas de massa (% e mg), os intervalos de temperatura e os picos máximos para cada um dos materiais (SiOH, SiN, SiD e SiG).

Tabela 6 - Dados da perda de massa das curvas termogravimétricas nos intervalos de temperatura para os materiais SiOH, SiN, SiD e SiG.

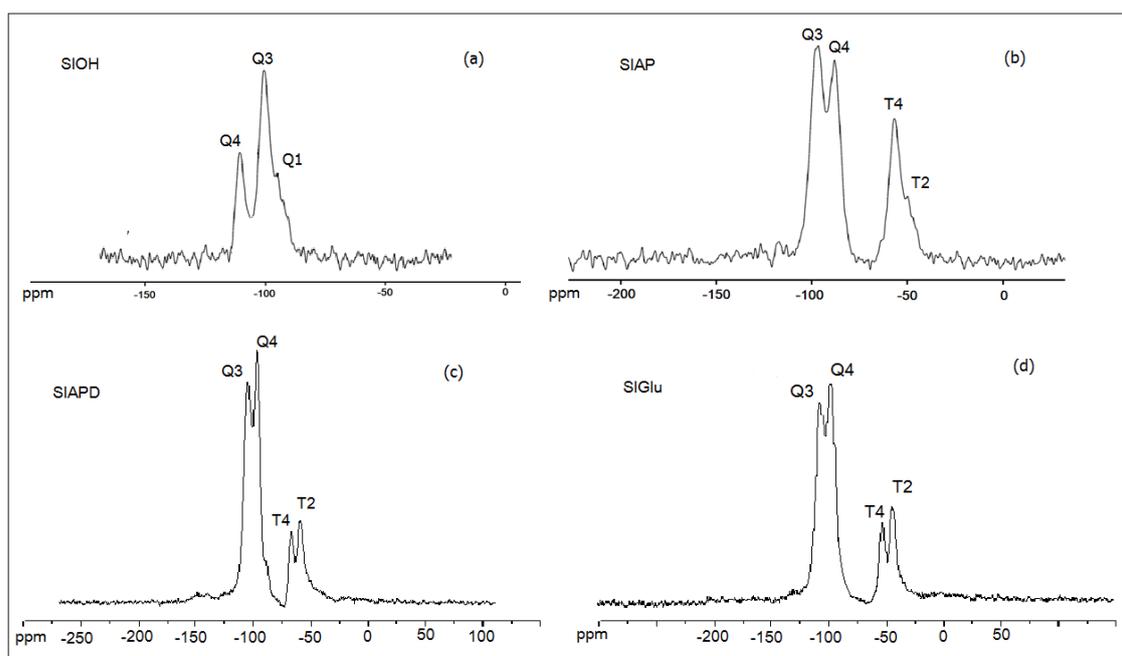
Amostra	Perda de massa (%)	ΔT (°C)	Pico Máximo (°C)
SiOH	7,0	25 – 130	75
	3,0	140 - 750	-
SiN	5,0	25 – 130	80
	2,0	130 – 320	320
	8,0	320 - 700	560
SiD	2,5	25 – 150	80
	18,0	150 – 410	380
	8,0	410 – 700	500
SiG	4,0	25 - 160	75
	25,0	160 - 700	500

A partir das curvas termogravimétricas mostradas na Figura 30 e de posse dos dados contidos na Tabela 6, pode-se dizer que as características térmicas para os materiais estão de acordo as expectativas iniciais de estabilidade térmica, sendo os mesmos termicamente estáveis até uma temperatura próximas de 150 °C.

5.7 ESPECTROSCOPIA DE RMN DE ^{29}Si NO ESTADO SÓLIDO

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^{29}Si da sílica gel (SiOH), sílica modificada com APTES (SiN), sílica funcionalizada com o pesticida 2,4-D (SiD) e sílica funcionalizada com glutaraldeído (SiG), apresentados na Figura 29 confirmam a efetiva formação da ligação covalente entre o alcóxisilano e grupos silanóis distribuídos pela superfície da sílica gel e indicam também ligeiras mudanças na característica da superfície após a inserção dos grupos ligantes do 2,4-D e do glutaraldeído.^{36, 38, 88, 89}

Figura 29 – Espectros de RMN ^{29}Si no estado sólido dos materiais (a) SiOH, (b) SiN, (c) SiD e (d) SiG.



No espectro de RMN ^{29}Si da sílica gel (SiOH) (Figura 31 (a)), observa-se a presença de três picos típicos deste material, referentes as diferentes combinações que o átomo de silício pode apresentar na estrutura da sílica, como segue: um pico (Q4) em aproximadamente -112 ppm, referente ao silício covalentemente ligado a quatro grupos siloxanos Si-O-Si, um pico (Q3) em aproximadamente -100 ppm, referente ao silício covalentemente ligado a uma hidroxila (Si – OH) e a outros três

grupos siloxanos e finalmente, um pico (Q1) em aproximadamente -95 ppm referente a presença de átomos de silício covalentemente ligados a duas hidroxilas e a dois grupos siloxanos.^{36, 38, 80, 88, 89}

O espectro de RMN ²⁹Si de SiN apresentou quatro picos típicos, como mostrado na Figura 29 (b). O primeiro (T2) em -51 ppm foi atribuído ao átomo de silício do agente sililante que encontra-se ligado a um grupo hidroxila [RSi(OSi)₂(OH)]. Um segundo pico (T4) em -58 ppm está relacionado com ao átomo de silício da cadeia orgânica do alcóxissilano. Os sinais T2 e T4 confirmam que os grupos orgânicos foram ligados covalentemente à matriz sílica. Os outros dois picos, Q4 em -90 e Q3 em -100 ppm, estão relacionados com sinais do silício covalentemente ligado a quatro grupos siloxanos Si-O-Si e ao silício covalentemente ligado a uma hidroxila (Si – OH) e a outros três grupos siloxanos respectivamente, como visto na estrutura da sílica pura.^{38 - 40}

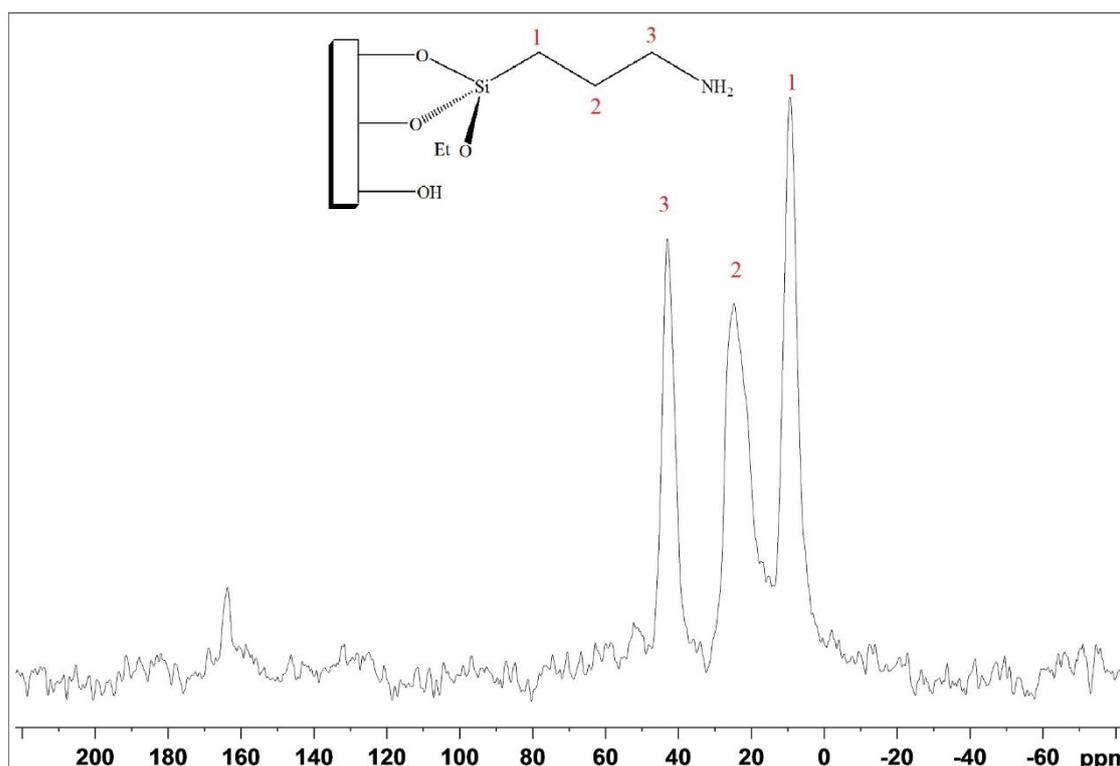
Na Figura 29 (c) e (d) são observados os espectros RMN ²⁹Si de SiD e SiG respectivamente. Observa-se que os perfis destes espectros são muito parecidos entre si, além de não diferirem grandemente do espectro do seu precursor, o material SiN, contudo, observa-se aumento na intensidade do picos Q4 (referente a presença dos grupos siloxanos) este aumento, provavelmente deve-se a maior presença de grupos siloxanos em relação aos grupos silanóis nos materiais funcionalizados. Pode ser observada também uma ligeira diminuição da intensidade dos picos T4, o que provavelmente tem relação com a perda de alguns grupos do alcóxissilano no processo de obtenção dos materiais SiD e SiG.^{38, 39, 89}

5.8 ESPECTROSCOPIA DE RMN DE ¹³C NO ESTADO SÓLIDO

Importantes informações sobre a estrutura das sílicas quimicamente modificadas podem ser obtidas a partir dos espectros de RMN de ¹³C no estado sólido, dados estes que ajudam a confirmar a eficiência das reações de modificação na superfície da sílica. A Figura 32 mostra o espectro de RMN de ¹³C no estado sólido da sílica modificada com APTES (SiN), de onde pode-se observar a presença dos picos relativos aos carbonos presentes na estrutura do 3-

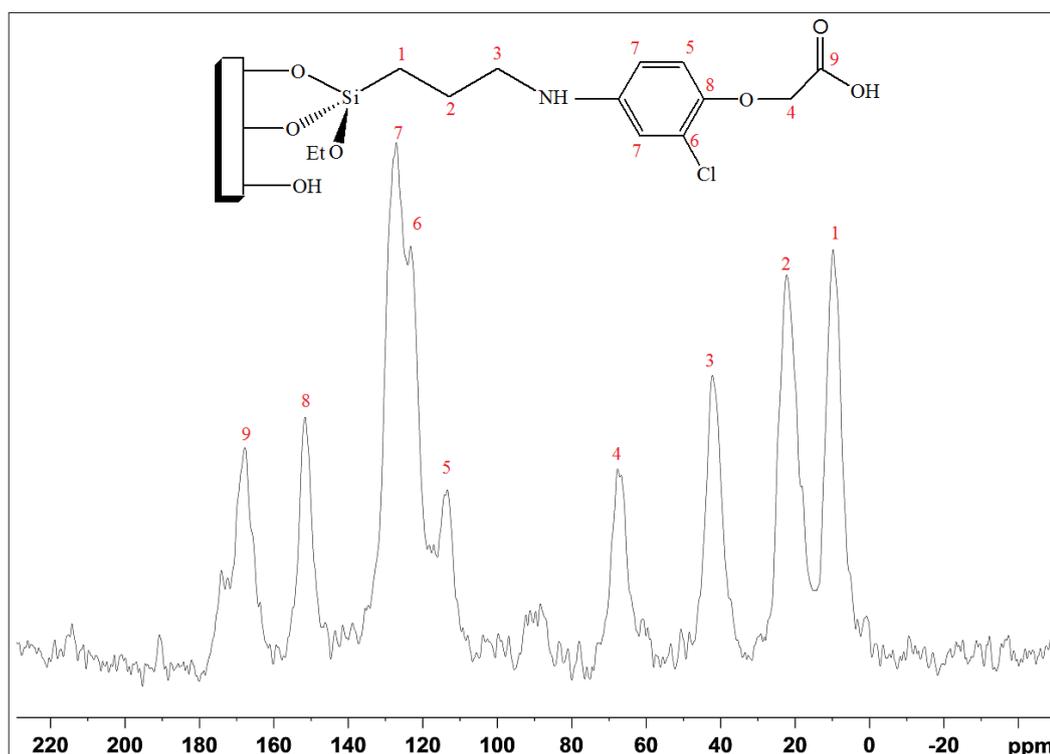
aminopropiltriétoxissilano, covalentemente ligado à superfície da sílica. Os picos em 9, 23 e 42 ppm referem-se aos carbonos (-CH₂-) do fragmento propílico do APTES.^{80, 90}

Figura 30 – Espectro de RMN de ¹³C no estado sólido de (SiN)



A Figura 31 traz o espectro de RMN de ¹³C no estado sólido do produto da reação da sílica SiN com o pesticida 2,4-D (SiD), onde observa-se um maior número de picos, devido a inserção da molécula do 2,4-D na estrutura.

Figura 31 – Espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido de (SiD)

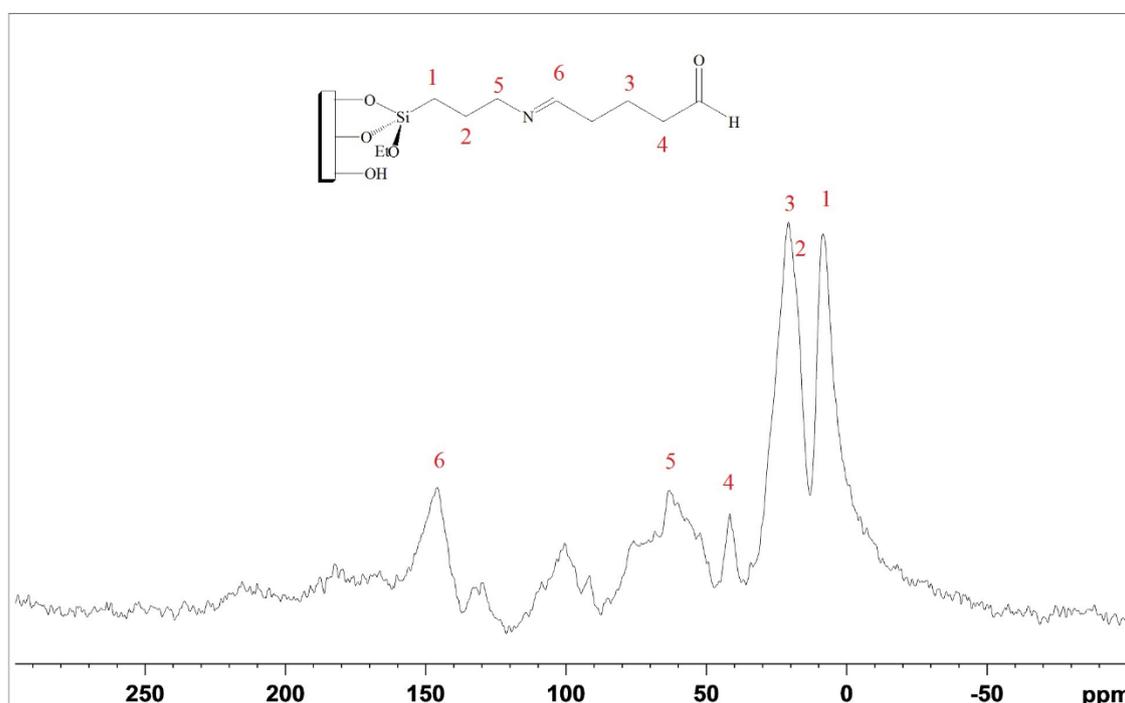


Assim como no espectro de RMN da sílica SiN, observa-se no espectro de seu sucessor (SiD) a presença dos picos (1, 2 e 3) em 9, 23 e 42 ppm, oriundas dos carbonos (-CH₂-) do grupamento propil do APTES, não obstante, observa-se o aparecimento de novos picos: (4) um pico em 69 ppm referente ao carbono α -carboxílico do 2,4-D, (5) um pico em 112 ppm atribuído ao carbono não substituído presente na posição orto do anel aromático, (6) um pico em 122 ppm atribuído ao carbono ligado ao cloro no anel aromático, (7) um pico intenso em 130 ppm referente aos carbonos presentes nas posições meta do anel aromático, (8) um pico em 150 ppm atribuído ao carbono com função éter do anel aromático e por fim, um pico (9) em 168 ppm da carboxila do 2,4-D. Alguns picos não puderam ser observados devido a sobreposições de sinais.^{80, 90}

A Figura 32 traz o espectro de RMN de ^{13}C no estado sólido do produto da reação da sílica SiN com o glutaraldeído (SiG). Devido ao fato de estarem no mesmo ambiente químico, alguns dos picos do espectro deste material não puderam ser visualizados, contudo é possível observar com clareza a presença de alguns picos característicos: (1 e 2) em 9 e 23 ppm, oriundos dos carbonos (-CH₂-

) do grupamento propil do APTES, sendo que o pico 2 ficou praticamente encoberto por um pico (3) na mesma região, atribuído ao CH₂ do fragmento do glutaraldeído, ligado quimicamente ao suporte, (4) um pico em 41 ppm referente ao carbono α -carbonílico, (5) um pico de baixa intensidade em 65 ppm do carbono (-CH₂-) ligado ao nitrogênio da imina e finalmente, um pico (6) em 148 ppm atribuído ao carbono insaturado (-CH=) ligado ao nitrogênio da imina. Devido a mudança nos ambientes químicos, que provoca a sobreposição e o deslocamento de picos, alguns grupos e picos não puderam ser caracterizados.^{89 – 92}

Figura 32 – Espectro de RMN de ¹³C no estado sólido de (SiG)



De um modo geral, pode-se afirmar que os espectros de RMN de ¹³C no estado sólido dos materiais ajudam a confirmar as estruturas previstas para cada um dos produtos das reações com a sílica, apresentando ainda uma boa correlação com os picos previstos para estes materiais com o auxílio do software de simulação.

5.9 ESTUDOS ELETROQUÍMICOS

As condições instrumentais, tais como amplitude de pulso aplicado e velocidade de varredura foram avaliados previamente e confirmados durante a otimização dos ensaios. De modo geral trabalha-se com amplitudes de pulso da ordem de 20 a 60 mV. Valores maiores conferem maior sensibilidade, porém provocam perda de resolução. Assim, o valor de 50 mV foi adotado, mostrando-se bastante satisfatório.

Por sua vez, a velocidade de varredura usualmente varia de 5 a 15 mV/s para DPV e 50 e 500 mV/s para CV. Outrossim, as mais empregadas são respectivamente de 10 e 100 mV/s.

Com relação às condições eletrolíticas, concentrações entre 0,1 e 0,5 mmol.L⁻¹ são as mais aplicadas, sendo que concentrações menores podem levar a queda ohmica e requererem maiores sobrepotenciais para efetivação do processo redox. Deste modo, adotou-se a concentração de 0.1 mmol.L⁻¹ do eletrólito.

5.9.1 – Estudos de Voltametria Cíclica

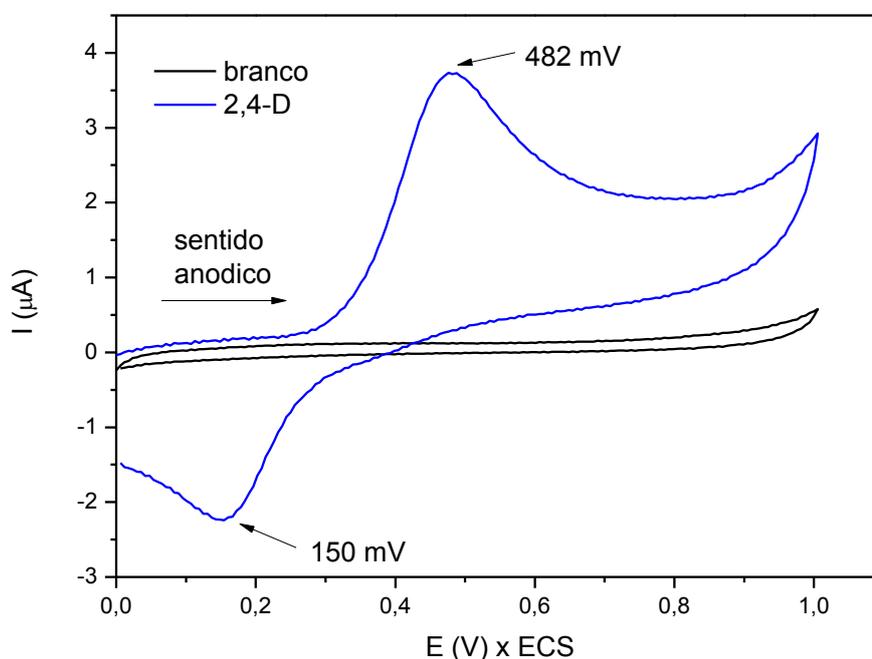
A técnica de Voltametria Cíclica fornece um grande número de informações sobre o comportamento redox do sistema, incluindo dados sobre reversibilidade, número de elétrons envolvidos na(s) etapa(s) de transferência eletrônica, dados sobre aspecto difusionais e cinética.^{47 - 50}

Voltamogramas cíclicos para cada um dos sistemas (eletrodos/analitos), foram obtidos após varredura anódica na faixa de potenciais entre 0 e 1,0 V, para soluções tamponadas em pH 7, a fim de se determinar o mecanismo de oxidação de cada analito.

A Figura 33 mostra o voltamograma cíclico do 2,4-D em solução tampão pH 7 e da mesma solução sem a adição do 2,4-D (branco), obtidos utilizando-se como eletrodo de trabalho, o eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com 15% m/m de SiD. Observa-se que a solução sem a presença do 2,4-D não

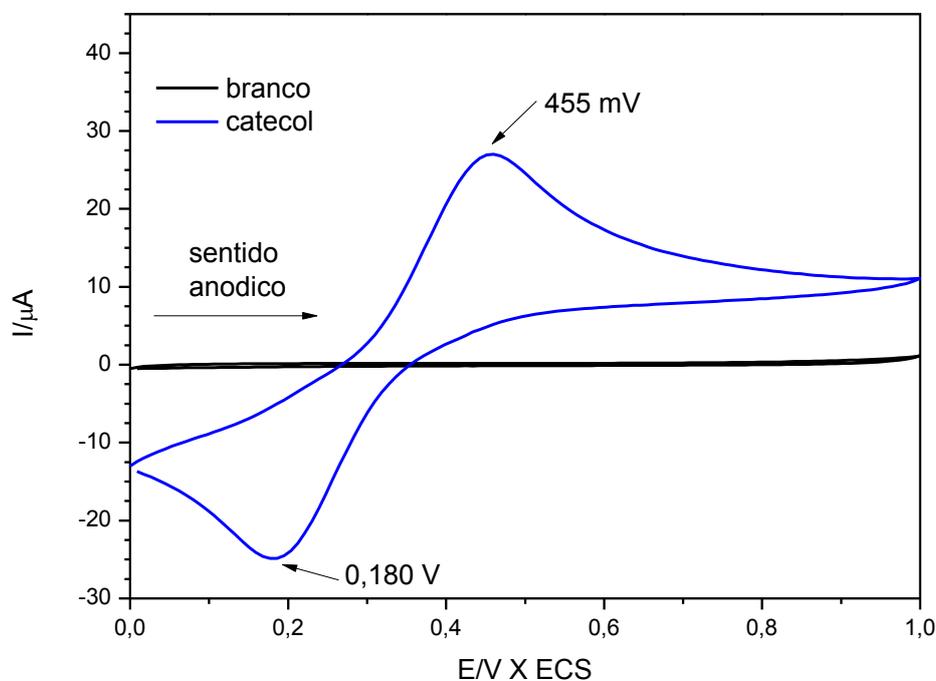
apresentou picos de oxidação/redução, enquanto a solução contendo o 2,4-D apresentou um pico anódico-em 482 mV e um pico de redução eletroquímica em 150 mV. Este dado mostra que o pesticida 2,4-D é eletroativo, sendo o processo redox quasi reversível ($\Delta E > 60$ mV e $I_{pa}/I_{pc} \neq 1$). Podendo assim, ser detectada através das técnicas eletroanalíticas.

Figura 33 - Voltamograma cíclico obtido para solução 5.10^{-3} mol.L⁻¹ de 2,4-D e do branco em Tampão Fosfato pH 7.0 com eletrodo de pasta de carbono modificado com a sílica modificada SiD.



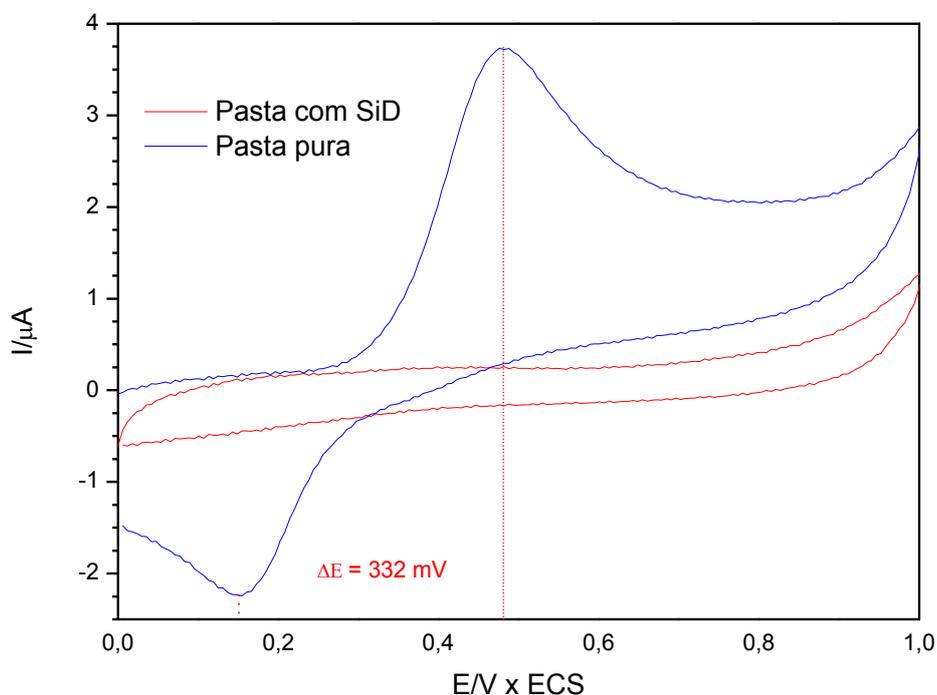
Por sua vez, a Figura 34 apresenta a performance deste eletrodo modificado para o catecol, um composto fenólico cujo comportamento eletroquímico já é conhecido, em condições similares ao ensaio realizado para 2,4 D. Observa-se para a solução contendo do catecol a presença de um par redox, sendo que a oxidação e redução eletroquímica ocorreram em 455 mV e 180 mV, respectivamente. Não obstante, este estudo demonstra que nas condições eletródicas e eletrolíticas há acentuado comprometimento da reversibilidade do processo redox para catecol do catecol, ou seja $\Delta E \gg 60$ mV, porém $I_{pa}/I_{pc} \cong 1$.

Figura 34 - Voltamograma cíclico obtido para solução 5.10^{-6} mol.L⁻¹ de catecol e do branco em Tampão Fosfato pH 7.0 com eletrodo de pasta de carbono modificado com a sílica modificada SiG.



Com a finalidade de se melhorar a eficiência dos eletrodos quimicamente modificados frente a estes poluentes, outras composições foram avaliadas em promover a oxidação/redução dos analitos, também foram feitas voltametrias cíclicas das soluções contendo os analitos 2,4-D e catecol com eletrodos contendo a pasta de carbono com as sílicas e sem as sílicas (i.e. contendo somente grafite em pó e óleo mineral).

Figura 35 - Voltamograma cíclico do 2,4-D obtido a partir da pasta de carbono não modificada e com a sílica SiD.

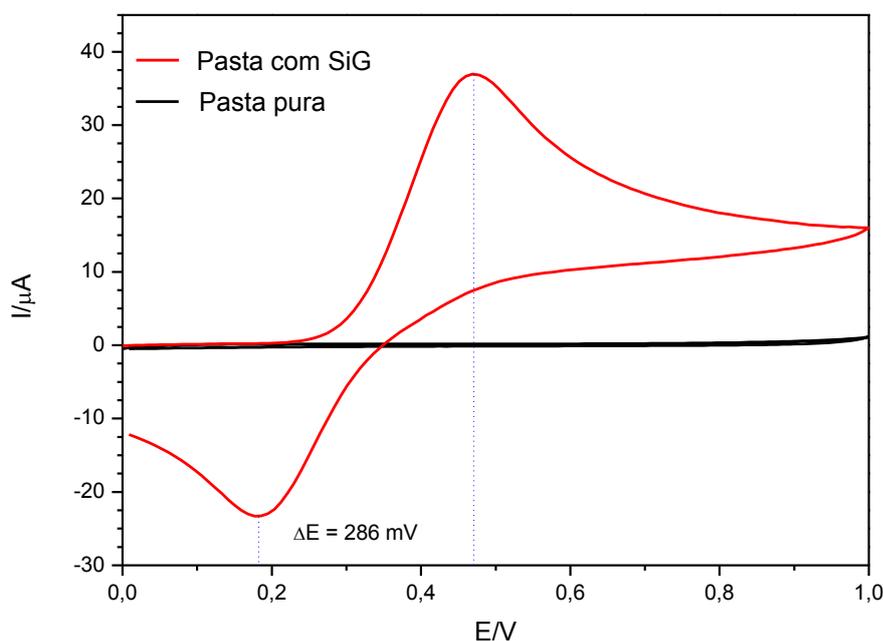


Observa-se que a os picos de corrente catódica e anódica (I_{pc} e I_{pa}) para o voltamograma obtido com o eletrodo contendo a sílica SiD apresentam valores maiores do que os obtidos com o eletrodo sem a sílica (pasta pura), demonstrando a potencialidade do uso do material SiD na construção de um sensor eletroquímico.^{92 - 97} Pode-se também observar que o eletrodo construído sem o uso da sílica SiD também apresenta um par redox, contudo, este par apresenta-se em 492 e 137 mV ($\Delta E = 355$ mV), evidenciando menor reversibilidade da reação, provavelmente associada baixa condutividade do sistema contendo sílica.

Por sua vez, várias modificações foram realizadas na sílica, a fim de avaliar suas aplicações para modificação de eletrodos de pasta de carbono e imobilização de enzimas ou mediadores.

A Figura 36 mostra o resultado das voltametrias cíclicas para uma solução contendo o catecol, feitas com o eletrodo contendo a pasta de carbono sem a sílica e com a sílica SiG.

Figura 36 - Voltamograma cíclico do catecol obtido a partir da pasta de carbono pura e contendo a sílica SiG.



Observa-se que os picos de corrente catódica e anódica (I_{pc} e I_{pa}) para o voltamograma obtido com o eletrodo contendo a sílica SiG apresentam valores muito superiores aos obtidos com o eletrodo sem a sílica (pasta pura), demonstrando a potencialidade do uso do material SiG na construção de um sensor eletroquímico para o catecol, além disso, foi observado que o par redox determinado utilizando-se o eletrodo sem a sílica SiG apresentou-se nos valores de potencial de 510 e 185 mV ($\Delta E = 325$ mV) evidenciando que o eletrodo com a sílica SiG proporciona ao sistema maior reversibilidade que o sistema sem a sílica (pasta pura).^{92 - 97}

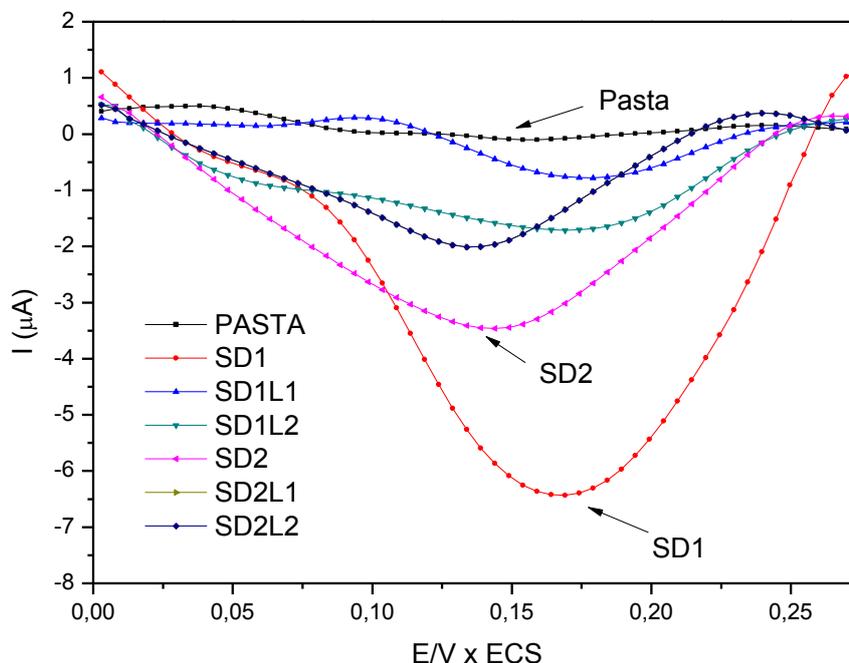
Os eletrodos modificados com SiD e SiGL apresentaram uma relação I_{pa}/I_{pc} de 1,66 e 1,58 μA respectivamente, para os pares redox 2,4-D_{oxidado} /2,4-D_{reduzido} e hidroquinona / catecol, comparados com os eletrodos contendo apenas a pasta de carbono na minicavidade, $I_{pa}/I_{pc} = 1,33$ e 1,63 respectivamente. Isso sugere que essencialmente não houve modificação nos mecanismos das reações eletroquímicas. Observa-se que a inserção das sílicas funcionalizadas em ambos os eletrodos melhorou definição dos picos, com o aumento da intensidade de corrente dos picos, o que sugere que estes materiais auxiliam no processo de transferência de carga.

5.9.2 Estudo da composição da pasta de carbono

Os eletrodos de pasta de carbono produzidos a partir de diferentes composições e teores de sílica e de lacase (Tabela 2) foram avaliados por voltametria de pulso diferencial no intervalo de potenciais entre -0,10 e 0,35 V (vs ECS) com velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} . mVs^{-1} .

A Figura 37 mostra os resultados dos ensaios de voltametria de pulso diferencial (DPV), para uma solução 0,1 mmol.L^{-1} de 2,4-D em tampão fosfato 0.1 mol.L^{-1} , pH 7,0. Para efeitos de comparação um biossensor de pasta de carbono preparado em proporções similares, porém sem a incorporação de SiD e da enzima lacase, aqui designado “Pasta” foi também avaliado nestes estudos.

Figura 37 - DPVs de solução 0,1 mmol.L⁻¹ de 2,4-D em tampão fosfato 0.1 mol.L⁻¹, pH 7,0, obtidas com EQM contendo diferentes composições de pasta.

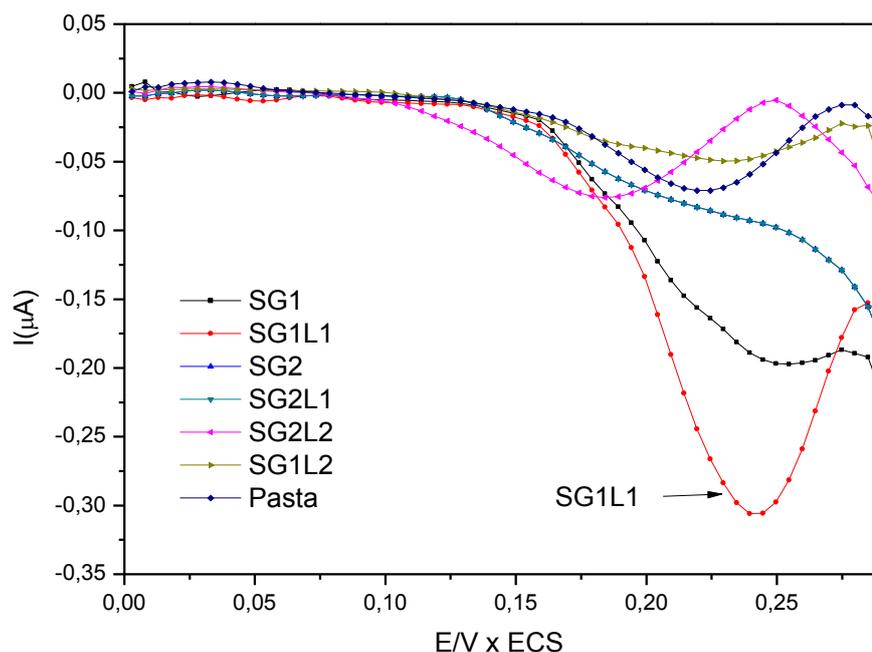


Observa-se que dentre as diversas composições de pasta de carbono testadas, a que apresentou melhor sinal (maior Δi) foi o eletrodo SD1, que foi obtido pela incorporação da pasta de carbono preparada com 5% m/m da sílica SiD, 95% m/m de grafite em pó e cerca de 3 gotas de óleo mineral. Pode-se concluir também que a inserção da enzima lacase (L) nesta composição de eletrodos, não representou melhora no sinal obtido, confirmando a seletividade da mesma na oxidação catalítica de compostos fenólicos (que não é o caso do 2,4-D). A ausência de um sinal expressivo para a pasta de carbono sem a sílica SiD, pode estar relacionado a afinidade do 2,4D pela sílica modificada ou melhorias das propriedades eletródicas do sistema.

A Figura 38 mostra os resultados dos ensaios de voltametria de pulso diferencial (DPV), para uma solução 0,1 mmol.L⁻¹ de catecol em tampão fosfato 0.1 mol.L⁻¹, pH 7,0. Para efeitos de comparação um biossensor de pasta de carbono preparado em proporções similares, porém sem a incorporação de SiG e da enzima lacase, aqui designado “Pasta” foi também avaliado nestes estudos. A opção de

uso do catecol para estes estudos deve-se ao fato do mesmo se tratar de um fenol de ocorrência natural, de fácil obtenção e que representa de modo geral o comportamento de diversos poluentes fenólicos.

Figura 38 - DPVs de solução $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$ de catecol em tampão fosfato 0.1 mol.L^{-1} , pH 7,0, obtidas com EQM contendo diferentes composições de pasta



Pode-se observar na Figura 38, que dentre as diversas composições de pasta de carbono testadas, a que apresentou melhor sinal (maior I_{pa}) foi o eletrodo SG1L1 (i.e.: o eletrodo que foi obtido pela inserção da pasta de carbono preparada com 5% m/m da sílica SiG, 95% m/m de grafite em pó, 250 μL de extrato bruto de lacase e cerca de 3 gotas de óleo mineral).^{98, 99}

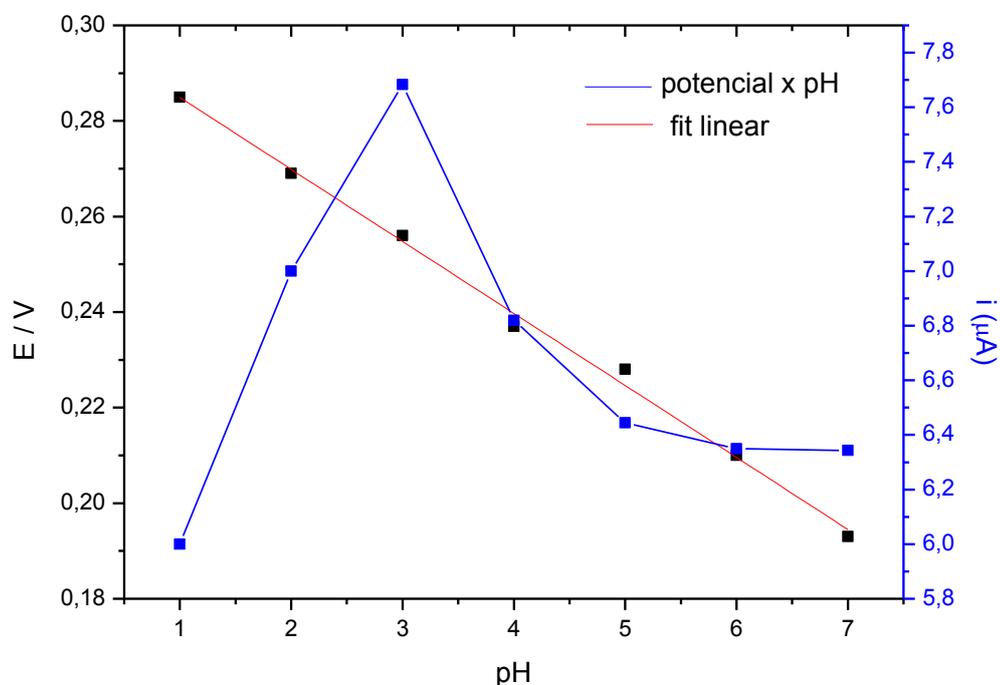
Por se tratar de uma enzima do tipo polifenoloxidase, a inserção da enzima lacase (L) nesta composição de eletrodos, provocou uma considerável melhora no sinal obtido para o analito catecol. Já a curva obtida a partir do eletrodo contendo a pasta de carbono sem sílica e/ou lacase apresentou um sinal no mesmo potencial, mas com uma amplitude muito inferior ao obtido para a composição SG1L1.^{98 - 101}

Observa-se que a sensibilidade ao analito, varia consideravelmente em função da proporção de SiD, SiG e lacase na pasta de carbono utilizada na confecção do eletrodo, como pode ser observado pelos valores de corrente. Ressalta-se que as alterações na composição do material eletródico podem resultar não apenas na alteração dos níveis de corrente faradaica, em decorrência do aumento da eficiência de transferência eletrônica, como também da corrente capacitiva, sendo o melhor perfil, aquele que favorece a corrente faradáica e reduz a corrente capacitiva. Assim, as melhores composições de eletrodos com base no ganho de sensibilidade, definido pela diferença observada entre níveis de corrente em presença de cada analito e corrente residual (Δi) foram: SD1 para a detecção eletroquímica do 2,4-D e SG1L1 para a detecção eletroquímica do catecol (tabela 2) ou seja, os eletrodos que apresentaram melhor relação sinal/ruído e maior variação da intensidade de corrente (Δi) foram justamente os eletrodos com menores proporções de sílica, isto se deve ao bloqueio do eletrodo, provocado pela sílica e que se torna mais pronunciado quanto maior for proporção da mesma em relação ao grafite na pasta de carbono. A partir destas definições de proporção, os eletrodos com tais composições foram estudados frente a variação do pH do meio.⁹⁸⁻¹⁰¹

5.9.3 O Efeito do pH sobre as medidas eletroquímicas

O comportamento eletroquímico de 2,4-D foi estudado em uma faixa de pH entre 1,0 e 7,0 utilizando-se voltametria de pulso diferencial, com varredura variando de -1,0 a +1,0 V, a Figura 41 mostra a curva obtida a partir dos valores de corrente de pico anódica (I_{pa}) em função dos pHs estudados e a linearização da mesma. Estes resultados mostram que o processo anódico é dependente do pH.

Figura 39 - Efeito do pH nos picos de potencial e nos valores de corrente para determinação do pesticida 2,4-D utilizando o eletrodo modificado SiD em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs.



Para um valor pH igual a 1, a corrente de pico (I_{pa}) é mínimo. Além disso, acima deste valor de pH, os valores de I_p aumentam até pH 3, diminuindo suavemente acima deste valor, conforme apresentado na Figura 39. Assim, o valor máximo de corrente de pico é obtida em pH 3, que é próximo do valor do pK_a do 2,4-D ($pK_a = 2,73$), corroborando com o equilíbrio de protonação anterior à reação de transferência de elétrons.^{102 - 104}

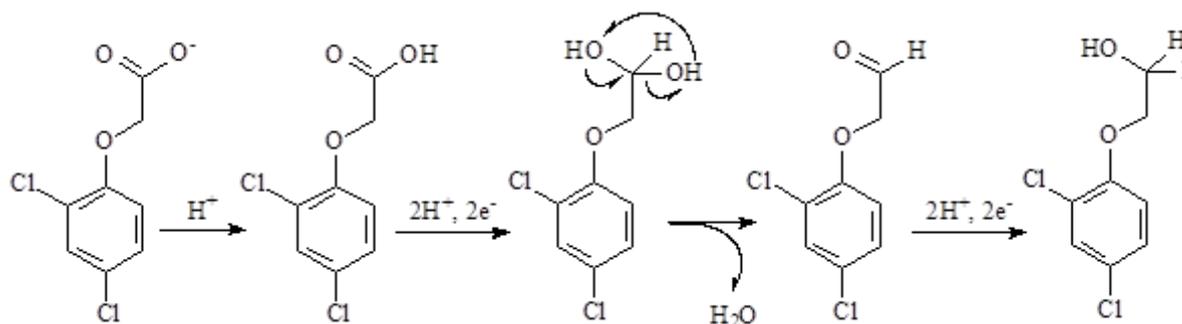
Esta figura também mostra que o potencial de pico (E_{pa}) do 2,4-D diminui com o aumento do pH. O efeito das mudanças de pH no potencial elétrico pode ser representado pela equação 3:

$$E = 0,3 - 0,01507 pH \quad \text{Equação (4)}$$

Esta equação foi obtida a partir da linearização da curva da Figura 39 e relaciona-se com a Equação de Nernst a partir de um mecanismo envolvendo a transferência de 4 elétrons. O mecanismo proposto para a redução do pesticida

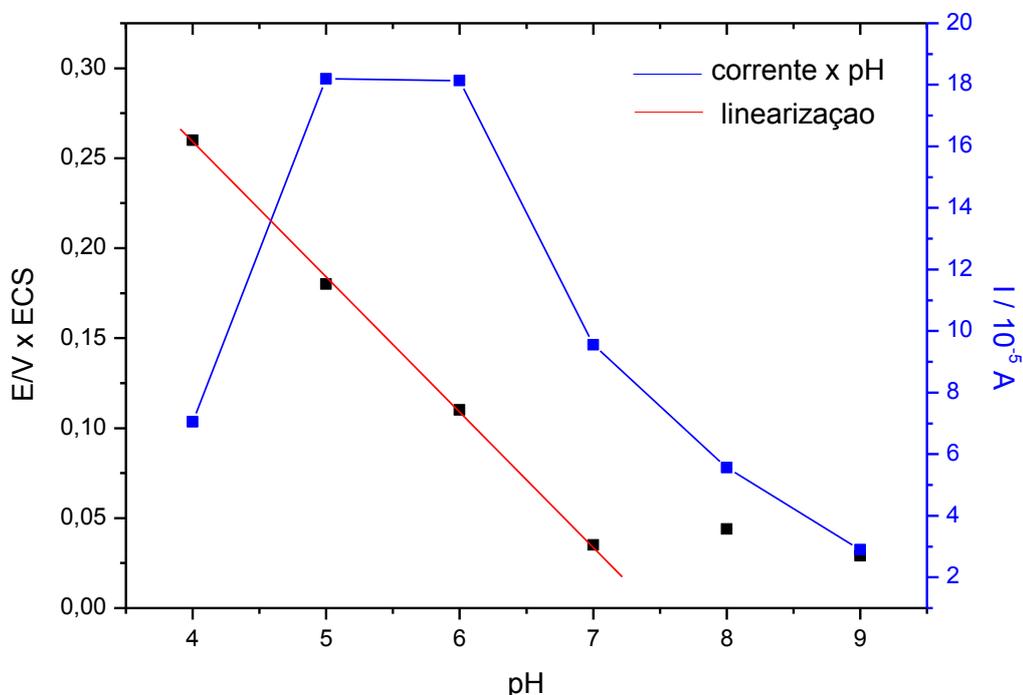
2,4-D, envolvendo a redução do grupo de ácido carboxílico à função álcool por protonação e reação de transferência de quatro elétrons é apresentado na Figura 40. Este mecanismo é suportado pela literatura.^{105, 106}

Figura 40 - Proposta mecanística para a redução eletroquímica do 2,4-D.



A influência do pH sobre a resposta voltamétrica de SG1L1 foi investigada em valores de pH variando de 4 a 9, através da utilização da solução tampão de fosfato 0,1 mol L⁻¹ utilizando a técnica de pulso diferencial. com varredura variando de 0 a +0,35 V. A Figura 41 mostra a curva obtida a partir dos valores de corrente de pico anódica (I_{pa}) em função dos pHs estudados e a linearização da mesma. Estes resultados mostram que o processo anódico é dependente do pH.

Figura 41 - Efeito do pH nos picos de potencial e nos valores de corrente para determinação do catecol em solução utilizando o eletrodo modificado SiD em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs.



Observa-se que os valores de I_p aumentam até pH 5, apresentando um diminuição discreta em pH 6, diminuindo suavemente acima deste valor, conforme apresentado na Figura 41. Assim, o valor máximo de corrente de pico é obtida em pH próximo de 5, valor este que não parece estar fortemente ligado ao pKa do catecol ($pK_a = 9,5$) e sim as condições ótimas de atividade da enzima lacase (em torno de 4,8).^{104, 107, 108}

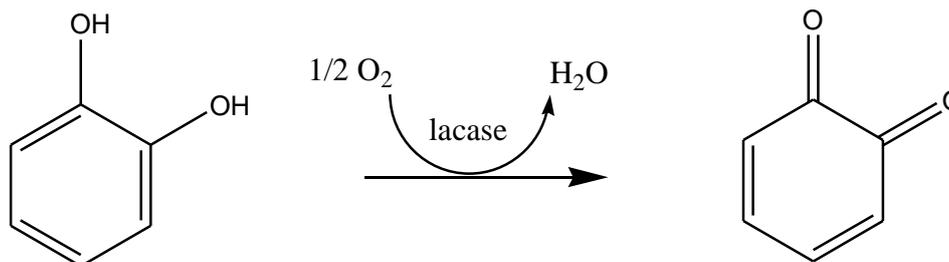
A partir da linearização da curva de I_{pa} vs pH mostrada na Figura 41, obtém-se a equação que representa a relação dos potenciais do sistema eletroquímico envolvendo SG1L1 e o catecol e o pH.

$$\text{Equação (5)} \quad E = 0,4138 - 0,0468 \text{ pH}$$

O mecanismo de oxidação do catecol envolve meio mol de oxigênio e a oxidação das duas hidroxilas do fenol, com a transferência de dois elétrons. A

equação que representa a reação de oxidação do catecol é apresentada na Figura 42.^{108, 109, 112}

Figura 42 - Reação de oxidação do catecol catalisada pela lacase



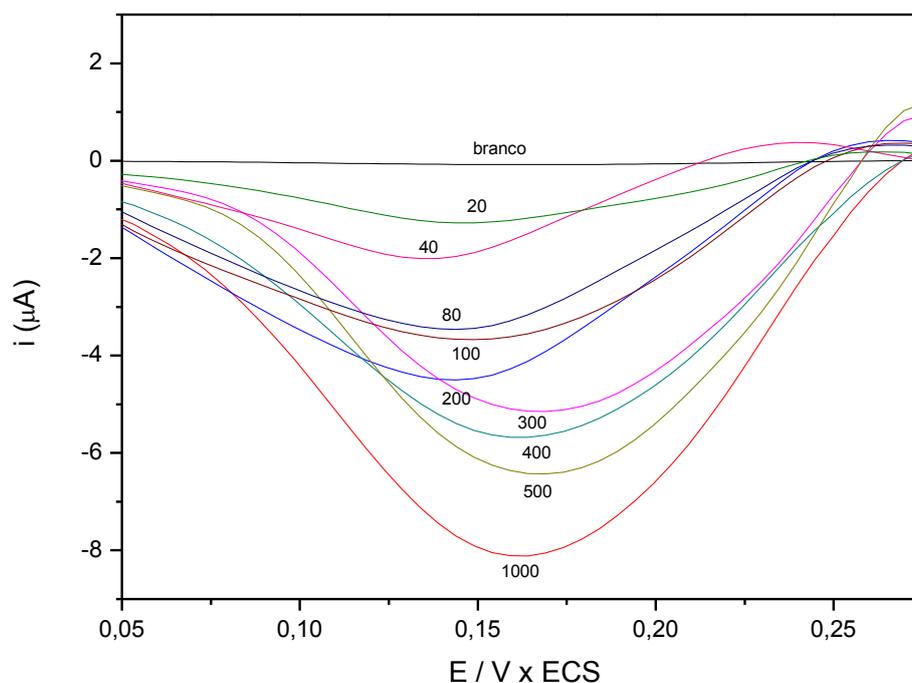
Após os ensaios realizados, determinaram-se as melhores condições para a análise de sulfeto:

5.9.4 Determinação dos micropoluentes 2,4-D e catecol por DPV

Conhecendo-se os valores ótimos de pH para a determinação dos micropoluentes 2,4-D e catecol em solução aquosa, é possível se determinar o limite de detecção destes analitos, para isso, foram feitas medidas de voltametria por diferencial de pulso (DPV) nas faixas de potenciais pré-estabelecidas, utilizando para tanto, as combinações de eletrodos que mostraram melhores resultados (SD1 para determinação do 2,4-D e SG1L1 para a determinação do catecol).

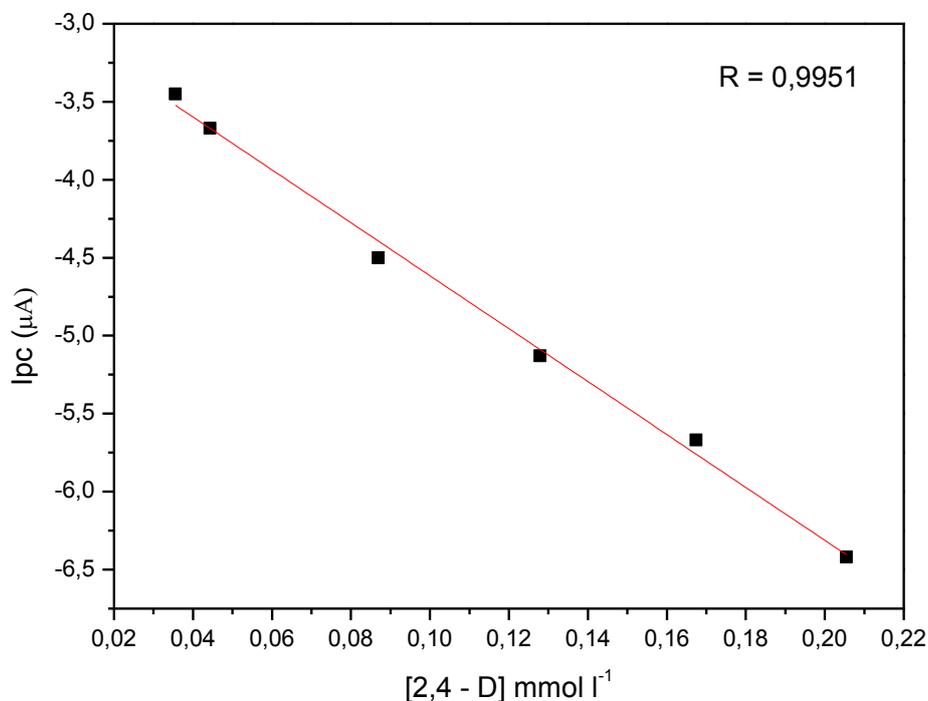
A Figura 43 mostra as curvas de DPV do 2,4-D em solução tamponada (pH 3), construídas a partir da adição de 20, 40, 60, 80, 150, 250, 300 e 400 μL de solução estoque ($5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) do pesticida 2,4-D, registradas com o auxílio do eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado, contendo a 5% m/m da sílica SiD (SD1).

Figura 43– Voltametrias por diferencial de pulso do 2,4-D em solução tamponada (pH 3), construídas a partir do branco e da adição de 20, 40, 80, 100, 200, 300 e 400, 500 e 1000 μL de solução estoque ($2, 26.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) do pesticida.



A partir dos valores de corrente de pico (I_{pa}) obtidos para cada uma das curvas apresentadas na Figura 43, foi construído um gráfico de corrente de pico (I_{pa}) em função da concentração do analito (2,4-D) e a partir deste gráfico, obteve-se a linearização do mesmo, como pode ser visto na Figura 46.

Figura 44 – Relação entre a corrente de pico (I_{pa}) e a concentração do 2,4-D em solução tamponada pH=3, obtidos a partir do EQM conteúdo SD1.



Quando são realizadas medidas em amostras com baixos níveis do analito, é importante saber qual o menor valor de concentração do mesmo que pode ser detectado pelo método, o limite de detecção do 2,4-D (LD) é definido como a concentração do analito que produz um sinal de três vezes a razão ruído/sinal do equipamento. Determinou-se o valor do ruído a partir o desvio padrão (SD) das médias das leituras do “branco”, no valor de $1,11 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, assim, o limite de detecção foi determinado pela Equação 6.⁹⁴

$$\text{Equação 6:} \quad LD = \frac{3 \times SD}{b}$$

Onde SD é o desvio padrão da média das leituras do branco e b é o coeficiente angular da curva.

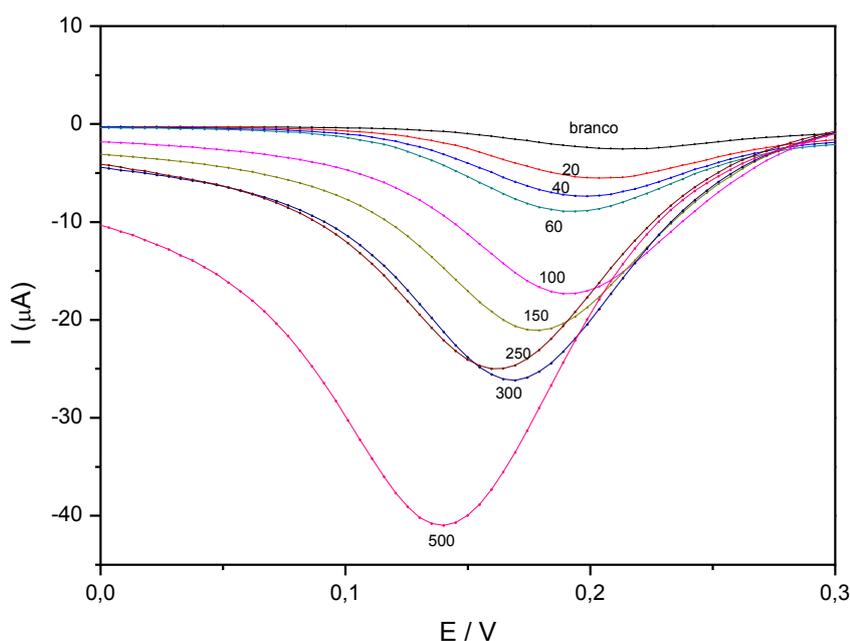
O valor calculado do limite de detecção do 2,4-D em solução tamponada (pH=3) utilizando como eletrodo de trabalho o EQM modificado com a sílica SD₁ é de $3,35 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$. Já o Limite de Quantificação, que é a menor concentração na qual o analito pode ser determinado com um nível aceitável de exatidão, pode ser calculado com base na equação 7: ^{71, 94}

$$\text{Equação 7} \quad LQ = \frac{10 \times SD}{b}$$

Com base na Equação 7, o limite de quantificação do 2,4 por esta metodologia foi calculado como $1,12 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$

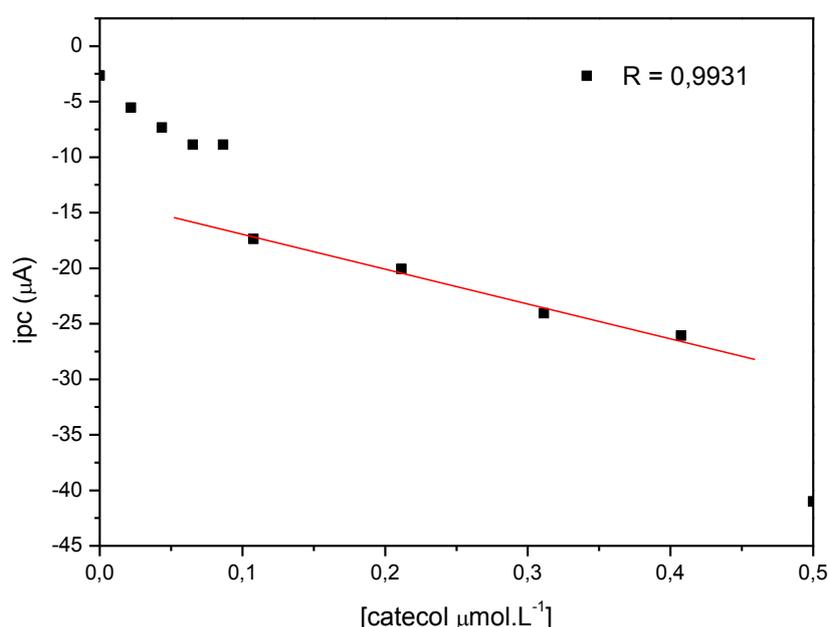
A Figura 45 mostra as curvas de DPV do catecol em solução tamponada (pH 5), construídas a partir do branco e da adição de 20, 40, 60, 80, 100, 150, 250, 300, 400 e μL de solução estoque ($2,26 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) do 2,4-D, registradas com o auxílio do eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado, contendo a 5% m/m da sílica Si e 250 μL de lacase (SG1L1).

Figura 45 – Voltametrias por diferencial de pulso do catecol em solução tamponada (pH 5), construídas a partir da adição de 20, 40, 60, 100, 150, 250, 300 e 500 μL de solução estoque ($5,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$) do catecol.



partir dos valores de corrente, obtidos para cada uma das curvas apresentadas na Figura 45, foi construído um gráfico de corrente de pico (I_{pa}) em função da concentração do analito (catecol) e a partir deste gráfico, obteve-se a linearização do mesmo, como pode ser visto na Figura 46.

Figura 46 – Relação entre a corrente de pico (I_{pa}) e a concentração do 2,4-D em solução tamponada pH=3, obtidos a partir do EQM conteúdo SD1.



Determinou-se o valor do ruído a partir o desvio padrão (SD) das médias das leituras do “branco”, no valor de $3 \cdot 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. O valor do limite de detecção do catecol em solução tamponada (pH=5), utilizando como eletrodo de trabalho o EQM modificado com a sílica SG₁L₁ calculado pela equação 6 é de $9,06 \cdot 10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$. Já o Limite de Quantificação, determinado com base na Equação 7 é de $3,02 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$.

Observa-se que ambas as composições de eletrodos apresentaram limites de detecção em nível de traços (7,57 ppb para o 2,4-D e 0,300 ppb para o catecol), e também apresentaram boa linearização ($R=0,9951$ e $R=0,9931$ respectivamente).

5.9.5 Reprodutibilidade e Estabilidade dos Sensores

A fim de se avaliar a precisão das respostas dos sensores entre ensaios, foram feitas médias das respostas das correntes de pico da DPV obtidas para soluções de $5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de 2,4-D e $5,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de catecol em 3 EQMs diferentes, retirando-se a pasta e recolocando uma nova após cada ensaio. O coeficiente de variação foi calculado como sendo de 2,43 % para o eletrodo com a pasta SD1 e 3,21 % para o eletrodo com a pasta SG1L1, indicando uma reprodutibilidade aceitável na obtenção do eletrodo.⁷¹

A estabilidade dos eletrodos pôde ser avaliada após um período de armazenamento da pasta de carbono de 21 dias a temperatura de aproximadamente 5 °C. Observou-se que o sensor contendo SD1 praticamente não teve suas propriedades alteradas, sendo obtidas respostas na ordem de 98 % da corrente inicialmente determinada, já o sensor contendo SG1L1 apresentou uma diminuição significativa nas respostas obtidas, apresentando respostas na ordem de 89% das correntes inicialmente determinadas, contudo, esperava-se uma perda ainda maior na sensibilidade destes eletrodos, o que pode ser justificada principalmente pela estabilidade da matriz na qual estes materiais estão ancorados.

A graphic for Chapter 6, 'CONCLUSÃO'. It features a grey rounded square containing the word 'CAPÍTULO' in white uppercase letters at the top, a large white number '6' in the center, and the word 'CONCLUSÃO' in white uppercase letters oriented vertically on the right side.

CAPÍTULO
6
CONCLUSÃO

6.0 CONCLUSÃO

A sílica gel foi modificada com 3-aminopropiltrietóxisilano APTES, seguida de duas tipos funcionalização por rota heterogênea, uma utilizando o pesticida 2,4-D e outra utilizando-se o glutaraldeído. Como consequência das sucessivas reações na superfície da sílica, sua área superficial, volume de poros e diâmetro médio de poros foram reduzidos em relação ao material SiOH.

O grau de funcionalização das sílicas foi determinado a partir dos percentuais de carbono das análises elementares e os valor obtidos foram de $1,92 \cdot 10^{-3}$ mol de APTES por grama de SiN, $1,57 \cdot 10^{-3}$ mol de Glutaraldeído por grama de SiG e $1,15 \cdot 10^{-3}$ mol 2,4-D por grama de SiD, respectivamente evidenciando reações com estequiometrias próximas a 1:1, com bons rendimentos proporcionais.

Os espectros de infravermelho dos materiais evidenciaram a ocorrência das reações de modificação e de funcionalização da superfície da sílica, através de bandas características do agente silanizante (APTES), do glutaraldeído e o 2,4-D, ligados à superfície da sílica. Além disso, as curvas termogravimétricas indicam que os materiais funcionalizados mostraram perdas de massa características da queima dos grupamentos orgânicos imobilizados sobre a superfície da sílica e também referentes à dessorção de água da superfície. Os materiais parecem ser termicamente estável a uma temperatura próxima de 250 °C.

Tanto os estudos de RMN ^{29}Si no estado sólido quanto os estudos de RMN ^{13}C apresentaram evidências das efetivas modificações da superfície da sílica, apresentando os picos previstos para os materiais.

O estudos eletroquímicos efetuados com o eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com as sílicas SiD e SiG, demonstraram que estes materiais tem potencialidade de aplicação na detecção de traços do pesticida 2,4-D e de fenóis (aqui representados pelo catecol) em soluções aquosas de interesse ambiental.

Foi observado que as melhores composições de eletrodos para a detecção do 2,4-D e do catecol foram de SD₁ e SG₁L₁ respectivamente, atestando que proporções menores das sílicas misturadas à pasta de carbono apresentam melhores sinais de corrente de pico e ainda, pôde-se observar que a enzima lacase na proporção de 250 µL por grama da sílica contendo o glutaraldeído (SiG) apresentou melhor resultado.

Os estudos de pH de ambos os eletrodos quimicamente modificados mostraram valores de pH ótimos próximos dos previstos com base nos pKas dos eletrólitos (pH 3 para o 2,4-D e pH 5 – 6 para o catecol).

O comportamento voltamétrico apresentado pelos analitos 2,4-D e catecol sobre os eletrodos SiD e SiG mostrou uma boa reprodutibilidade. No entanto, principalmente no caso da solução contendo o 2,4-D, os baixos valores de corrente (i) observados podem resultar em uma baixa sensibilidade, contudo, os limites de detecção de ambos analitos (7,57 ppb para o 2,4-D e 0,300 ppb para o catecol) ficaram bem abaixo dos valores exigidos pela legislação.

CAPÍTULO
7

**PERSPECTIVAS
FUTURAS**

7.0 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os materiais preparados apresentaram resultados que direcionam a novos estudos e a preparação de outros materiais. Numa próxima etapa de desenvolvimento deste trabalho, poderiam ser feitos planejamentos fatoriais afim de se aprimorar os resultados obtidos em relação às proporções e condições de operação dos eletrodos, além disso, seguindo a mesma linha de modificação da superfície da sílica, utilizada neste trabalho, poderiam ser produzidos eletrodos para detecção seletiva de outros importantes poluentes, tais como os pesticidas picloram, atrazina e diuron.

Outro ponto bastante importante que pode ser abordado em futuros trabalhos e aplicação dos sensores contendo SiD e SiG na detecção dos micropoluentes 2,4-D e fenóis em matrizes ambientais, comparando os resultados obtidos com outras técnicas como a cromatografia líquida de alta eficiência.



**REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barber, L. B.; *Comprehensive Water Quality and Purification*, **2014**, 245, 1.
2. Murnyak, G.; Vanderberg, J.; Yaroschak, P.J.; Williams, L.; Prabhakaran, K.; Hinz, J.; *Toxicol. And Applied Pharm.*; **2011**, 167, 254.
3. Leal, G. C. S. G.; Farias, M. S. S.; Araujo, A. F.; *Qualitas Rev. Eletro.*; **2008**, 7.
4. Freeman, C.; Louca, F.; *As time goes by: from the industrial revolutions to the information revolution*; Oxford University Press (**2001**).
5. Ecobichon, D. .J.; *Toxicology*. **2001**, 160, 27.
6. Mankiw, N. G.; Weil, D. N; *Regional Science and Urban Economics*; **1989**, 235, 19.
7. Annual Agricultural Outlook, Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) and the Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations; **2013**.
8. Pal, A.; Gin, K. Y. H; Lin, A. Y. C; Reinhard, M.; *Sci. of the Total Enviroment*; **2010**, 6062, 15;
9. Matamoros, V.; Salvadó, V.; *Chemosphere*, **2012**, 111, 86.
10. Shah, B.; Chen, A.; *Elect. Communications*, **2012**, 79, 25.
11. Cavalcanti, C.; *DESENVOLVIMENTO E NATUREZA: Estudos para uma sociedade sustentável*. INPSO/FUNDAJ, Recife, Brasil, **1994**, 262.
12. Lourencetti, C.; Marchi, M.R.R.; Ribeiro, M.L.; *Talanta* **2008**, 77, 701.
13. SPADOTTO, C. A. Monitoramento e avaliação de impacto ambiental. Comitê de Meio Ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. **2002c**.
36. Dey, R. K.; Aidoldi, C.; *J. Hazard. Mat.* **2008**, 156, 95.
14. Beceiro-González, E.; Concha-Graña, E.; Guimaraes, A.; Gonçalves, C.; Muniategui-Lorenzo, S.;Alpendurada, M.F.;*J. Chromatogr., A*, **2007**, 1141, 165.
15. Moses,R.P.;Wier,P.;Murray,R.W.;*Anal. Chem.***1975**, 47, 1882.
16. Murray, R.W.;Bard, A. J.; “Electroanalytical Chemistry”, vol.13, New York **1984**, p.191.

17. Kulys J.; Hansen, H. E.; Buch-Rasmussen, T.; Wang, J.; Ozsoz, M.; *Anal. Chim. Acta*, **1994**, 288, 193.
18. Schlereth, D.D.; Schmidt, H-L.; *J. Electroanal. Chem.* **1995**, 380, 117.
19. Pomiès, M.; Choubert J.M.; Wisniewski, C.; Coquery, M.; *Science of the Total Environment*; **2013**, 443, 15.
20. Maeng, S. K.; Ameda, E.; Sharma, S. K.; Grutzmacher, G.; Amy, G. A; **2010**, 4003, 14
21. Grisolia, C.K.; *Agrotóxicos - Mutações, câncer e reprodução: riscos ao homem e ao meio ambiente, pela avaliação de genotoxicidade, carcinogenicidade e efeitos sobre a reprodução*; Editora Universidade de Brasília; Brasília, **2005**, capítulo
22. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (Sindag). Disponível em: <http://www.sindag.com.br/> (acessado em agosto de 2013).
23. Soares, W. L.; Porto, M.F.S.; *Ecological Economics*; **2009**, 68, 2721.
24. de Moraes S.L.; Rezende M.O.O.; *Pesticidas Ecotoxicologia e Meio Ambiente*; **1998**, 157, 8.
25. Dores, E.F.G.C.; DeLamonica Freire, E.M.; *Quimica Nova*; **2001**, 27, 24.
26. Dubus, I.G.; Hollis, J.M.; Brown, C.D.; *Environmental Pollution*; **2000**, 331, 110.
27. Raberg, S.; Nystrom, M.; Eros, M.; Plantman, P.; *Marine Env. Reseearch*, **2003**, 503, 56.
28. Balague, C. E.; De Ruiz, C.S.; Rey, R.; De Duffard, A.M.E.; Nader-Macias, M.E.; *Toxicologia*, **2002**, 143, 177.
29. Rimmer, D. A.; Johnson, P. D; Brown, R. H.; *J. of Chromatography A*, **1996**, 245, 755.
30. The Merck Index. 13th ed. Whitehouse Station, New Jersey, **2006**.
31. Prado, A. G. S.; Airoldi, C.; *Thermochim. Acta* **2000**, 349, 17.
32. Kim, K. H; Tsao, R.; Yang, R; Cui, S. T.; *Food Chemistry*, **2006**, 466, 95.
33. Davì, M.L.; Gnudi, F.; *Water Res.*, **1999**, 3213, 33.
34. Freire, R.S.; Dúran, N.; Kubota, L.T.; *Talanta*, **2001**, 681, 54.

35. Rosato, S.S.; Freire, R.S.; Durán, N.; Kubota, L.T.; *Quim. Nova*, **2001**, 77, 24.
36. Airoidi, C.; Prado, A. G. S.; *J Colloid Interface Sci.***2001**, 236, 161.
37. Arakaki, L. N. H.; Airoidi, C.; *Quím. Nova*, **1999**, 22, 246-253.
38. Prado, A.G.S.;Sales,J.A.A.;Carvalho,R.M.;Rubim,J.C.;Airoidi,C.;*J. Non-Cryst. Solids*, **2004**, 333, 61.
39. Prado,A.G.S.;Tosta,A.H.; Airoidi,C.;*J. Colloid Interface Sci.* **2004**,269, 259.
40. Prado,A.G. S.; DeOliviera,E.;*J. Colloid Interface Sci.*,**2004**, 291, 53.
41. Unger, k. k.; Porous silica: Its properties and use as support in column liquid chromatography, Elsevier, Amsterdam, **1979**.
42. Unger, K. K.; Becker, N.; Roumeliots, P.; *Journal of Chromatography*, **1976**, 125, 125.
43. Aidoldi, C.; Farias, R. F.; *Química Nova*, **2000**, 88, 23.
44. Liu, Z.; Lindner, E.; Mayer, H. A.; *Chemistry Reviews*, **2002**, 3543, 102.
45. Alcântara, E. F. C.; Airoidi, C.; *Journal Chemistry Thermodynamic*. **1995**, 623, 27.
46. Fonseca, M. G.; Airoidi, C.; *Química Nova*; **2003**, 699, 23.
47. F. M. Matsumoto, “Eletrodos Quimicamente Modificados com Filmes Finos de Pentacianoferratos”, Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP, **1995**.
48. Milagres,B.G.;Kubota,L.T.;Oliveira Neto,G.;*Electroanalysis*, **1996**, 8, 489.
49. DeOliveira,E.;Prado,A.G.S.;*J. Mol. Catal. A*, **2007**, 271, 63.
50. Faria,E.A.;Ramalho,H.F.; Marques,J.S.; Suarez,P.A.Z.; Prado,A.G.S.; *Appl. Catal.*, **2008**, 338, 72.
51. DeOliveira,E.;Neri,C.R.;Serra,O.A.;Prado,A.G.S.;*Chem. Mater.* **2007**, 19, 5437.
52. Amine, A.; Mohammadi, H.; Bourais, I.; Palleschi, G.; *Biosens. Bioelectron*; **2006**, 1405, 21.
53. Souza, S.F.; *Biosens. Bioelectron*; **2001**, 337, 16.
54. Batzias, F.; Siontorou, C.G; *J. Environm. Manag*; **2007**, 221, 82.
55. Rogers, K.R.; *Biosens. Bioelectron*; **1995**, 533, 10.

56. Rogers, K.R., Williams, L.R; Trends Anal. Chem., **1995**, 289, 14.
57. Sayen, S.; Walcarius, A.; *J. Electroanal. Chem.*; **2005**, 581, 70.
58. Gushikem, Y.; Benvenuti, E.V.; Kholin, Y.V.; *Pure Appl. Chem.*; **2008**, 80, 1593.
59. Taitt, C.R.; Anderson, G.P.; Ligler, F.S.; *Biosens. Bioelectron*; **2005**, 2470, 20.
60. Tschmelak, J., Proll, G., Gauglitz, G.; *Talanta*; **2005**, 313, 65.
61. Wang, J.; *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 1, 347.
62. Wang, J.; Chen, Q.; *Anal. Chim. Acta*; **1995**, 39, 312.
63. Assumpção, R. M. V.; Morita, T.; *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes*, Edgard Blucher, São Paulo, **2000**.
64. Golub, A. A.; Zubenko, A. I.; Zhmun, B.V.; *Journal of Colloid and Interface Science*; **1996**, 482, 179.
65. Rahman, I. A.; Jafarzadeh, M.; Sipaut, C. S.; **2009**, 1883, 35;
66. Lazghab, M.; Saleh. K.; Guigon, P.; *Chemical Engineering Reserch and Design*; **2010**, 686, 88.
67. Yang, G.; Wu, J.; Xu, G.; Yang, L.; *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*; **2010**, 351, 78.
68. Betancor, L.; López-Gallego, F.; Hidalgo, A.; Alonso-Morales, N.; Mateo, G. D. C.; Lafuente, R. F. Guisán, J. M.; *Enzyme and Microbial Technology*; **2006**, 877, 39.
69. López-Gallego, F.; Betancor, L.; Mateo, C.; Hidalgo, A.; Alonso-Morales, N.; Mateo, G. D. C.; Lafuente, R. F. Guisán, J. M; *Journal of Biotechnology*; **2005**, 70, 119.
70. Ozmen, M.; Can, K.; Akin, I.; Arlan, g.; Tor, A.; Cengeloglu, Y.; Ersoz, M.; *Journal of Hazardous Materials*, **2009**, 594, 171.
71. Gil, E.S.; Muller, L.; Santiago, M.F.; Garcia, T.A.; *Port. Electrochim. Acta*; **2009**, 215, 27(3).
72. Enayatzamir, K.; Alikhani, H.A.; Couto, S.R.; *J. Hazard. Mat.*, **2009**, 296, 164(1).
73. Pauly, T.R.; Pinnavaia, T.J.; *Chem. Mater.*, **2001**, 13, 987.
74. Shah, J.; Kim, S.S.; Pinnavaia, T.J.; *Chem. Commun.* , **2004**, 6, 572.

75. Prado, A. G. S.; Miranda, B. S.; Jacintho, G. V. M.; *Surf. Sci.* **2003**, *542*, 276.
76. Tanev, P.T.; Pinnavaia, T.J.; *Chem. Mater.* **1996**, *8*, 2068.
77. Pavan, F. A.; Franken, L.; Moreira, C. A.; Costa, T. M. H.; Benvenuti, E. V.; Gushiken, Y; **2001**, 413, 241.
78. Unger, k. k.; Porous silica: Its properties and use as support in column liquid chromatography; **1979**, Elsevier, Amsterdam.
79. Moreira, J. C.; Pavan, L. C.; Gushiken, Y.; *Microc. Acta*; **1990**, 107, 3.
80. Pavia, D L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S. Introduction to Spectroscopy, Saunders College Publishing, **1999**.
81. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos, 6° ed. Rio de Janeiro, Ed. Livros Técnicos e Científicos S. A., **2000**.
82. Iler, R. K.; The Chemistry of Silica. New York. Jonh Wiley & Sons Inc., **1979** p. 30.
83. Gubbuk, I. H.; Ramazan, G, Kara. H, Ersoz, M.; *Desalination*; **2009**, 1243, 249.
84. Zhuravlev, L. T.; *Langmuir*, **1987**, 316, 3.
85. Sales, J. A. A.; Airoidi, C.; *Thermochimica Acta*; **2005**, 77, 427.
86. Thu, K.; Chakraborty, A.; Saha, B. B.; Choon Ng, K.; *Applied Thermal Engineering*, **2013**, 1596, 50.
87. González, M.D.; Salagre, P.; Taboada, E.; Llorca, J.; Molins, E.; Cestero, Y.; *Applied Catalysis B: Environmental*, **2013**, 287, 136.
88. Coelho, C.; Azaïs, T.; Bonhomme-Coury, L.; Maquet, J.; Bonhomme, C. *Comptes Rendus Chimie*; **2006**, 472, 9.
89. Brunet, F.; Charpentier, T.; Le Caër, S.; Renaul, J.P.; *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, **2008**, 1, 33.
90. Evangelista, S.M.; DeOliveira,E.; Castro, G.R.; Zara,L.F.; Prado, A.G.S.; *Surface Science*, **2007**, 601 2194.

91. Xiu, T.; Liu, Q.; Wang, J.; *J. Mater. Chem.*, **2006**, 16, 4022.
92. Cassano, R.; Trombino, S.; Ferrarelli, T.; Bilia, A.R.; Bergonzi, M.C; Russo, A.; Amicis, F.D.; Picci, N.; *Reactive & Functional Polymers*, **2012**, 72, 446.
93. Svancara, I.; Schachl, K.; *Chem. Listy*; **1999**, 490, 93.
94. SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. *Fundamentos de química analítica*. 8. ed. São Paulo: Thomson, **2006**. p 653-657.
95. WANG, J.; *Analytical Electro.. Canadá: Wiley-vch*, **1998**. p. 27-29.
96. BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. S.; *Química anal. Quant. Elem.. São Paulo: Edgard Blücher*, **2001**. p. 215-235
97. JOHNSTON, D.; CARDOSI, M.; VAUGHAN, D.; *Electroanalysis*; **1995**, 520, 7.
98. Mousty, C.; *Applied Clay Science*, **2004**, 159, 27.
99. El Ichi, S.; Marzouki, M. N.; Korri-Youssoufi, H.; **2009**, 3084, 24.
100. Mayer, A.M.; Staples, R. C.; *Phytochemistry*; **2002**, 551, 60.
101. Riva. S.; *Trends in Biotechnology*; **2006**, 219, 24.
102. Yosypchuk; Novotny, L.; *Electroanalysis*, **2003**, 15, 121.
103. De Souza, D.; Toledo, R. A. ; Suffredini, H. B.; Mazo, L. H.; Machado, S.A.S.; *Electroanalysis*, **2006**, 18, 605.
104. Codognoto, L.; Tanimoto, S.T.; Pedrosa, V.A.; Suffredini, H.B.; Machado, S.A.S.; Avaca, L.A.; *Electroanalysis*, **2006**, 18, 253.
105. Corredor, M.C.; Mellado, J.M.R.; *J. Electroanal. Chem.* **2006**, 586, 98.
106. Poindexter, M.; McKay, B.; *J. Org. Chem.* **1972**, 37, 167.
107. Shimomura, T.; Itoh, T.; Sumiya, T.; Hanaoka, T.A.; Mizukam, F.; Ono, M.; *Sensors and Actuators B: Chemical*; **2011**, 361, 153.
108. Wang, B.; Zhang, J.; Dong S.; *Biosensors and Bioelectronics*; **2000**, 397, 15
109. Li, J.; Chia, L.S. ; Goh, N. K.; Tan, S. N.; *Analytica Chimica Acta*; **1998**, 203, 36.
110. Dzyadevych, S.V.; Arkhypova, V. N.; Soldatkin, A.V.; El'skaya, C.; Martelet; Jaffrezic-Renault, N.; *IRBM*, **2008**, 171, 29

111. Du, D.; Ding, J.; Cai, J.; Zhang, A.; *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*; **2007**, 145, 58.
112. López-Piñeiro, L.; Cabrera, D.; Albarrán, A.; Peña, D.; *Chemosphere*, **2010**, 78, 139.
113. Chen, L.; Zeng, G.; Zhang, Y.; Tang, L.; Huang, D.; Liu, C.; Pang, Y.; Luo, J.; *Anal. Biochem.* **2010**, 407, 172.
114. Abramović, B; Šojić, D.; Despotović, V. Vione, D. Pazzi, M. Csanádi, J. *Applied Catalysis B: Environmental* **2011**, 105, 191;
115. Silva, F. A.; Lourencetti, C.; Dores, E. F. G. C.; *Quim. Nova* **2010**, 33, 1457.

CAPÍTULO
9

ANEXOS

Anexo 1

(Hernane T. Barcelos, Luclecia D. Nunes, Guilherme W. Tavares, Edesio F.C. Alcantara, Alexandre G.S. Prado. **Interaction of divalent cations with silica with histimine evaluated adsorption and thermochemical data.** *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Novembro de 2011, Volume 106, Issue 2, pp 421-425)

Interaction of divalent cations with silica modified with histamine evaluated by adsorption and thermochemical data

Hernane T. Barcelos · Luclecia D. Nunes ·
Guilherme W. Tavares · Edesio F. C. Alcantara ·
Alexandre G. S. Prado

CBRATEC7 Conference Special Issue
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2011

Abstract Silica gel was modified by silanization reaction followed by functionalization of histamine in a heterogeneous route. These materials were characterized by elementary nitrogen and chloride analyses, porosity, thermogravimetry, and infrared. The functionalized surface adsorbed Cu(II), Co(II), Ni(II), and Zn(II) ions in an aqueous solution at 25 °C. The isotherms of adsorption are in accordance with Langmuir model and the surface presented a great potential to form complexes metal-surface in the chemical reason of 1:1.

Keywords Silica · Histidine · Adsorption

Introduction

The disposal of metal ions by several industrial activities including chemical manufacturing, painting and coating, mining, extractive metallurgy, nuclear, and other industries have resulted in serious environmental problems [1–3]. Metal ions are not biodegradable and tend to accumulate in living organisms. The pollution caused by metals

represents common and serious diseases for human beings and may be harmful to wild life due to the excessive release of metallic species into the aquatic and soil systems leading to the increasing contamination of urban and industrial wastewaters by toxic metal ions [4–6].

Many methods and processes have been extensively used to remove toxic metal ions from water such as: liquid-liquid extraction, ion exchange, electrochemical treatment, redox reaction, reverse osmosis, and others [4–6]. On the other hand, these methods have been usually presenting several disadvantages including low efficiency, high energy demand as well as time, and chemical consumption [3–6]. In order to solve these problems, metal ion extraction has been extensively applied to modified surfaces. In this way, solid modified silica with organofunctional groups is the immobilization of the desired reactive atomic group, which causes a great versatility of this surface in developing various functions [7, 8]. Thus, functional groups containing nitrogen, sulfur, oxygen, and phosphorus, disposed in the chains of cellulose, enable the surface to act in a number of academic or industrial applications.

This article reports the synthesis and characterization of silica gel modified with histamine aiming to find an efficient material for the removal of Cu, Cd, Ni, and Zn ions from water.

Experimental

Chemicals

All reagents used such as *N,N*-dimethylformamide (DMF); ethanol and acetone (Dynamic); pyridine, triethylamine, 3-chloropropyltrimetoxysilane (Aldrich); histamine (Merck); CuCl₂, CoCl₂, NiCl₂, and ZnCl₂ (Vetec) were all reagent grade.

H. T. Barcelos (✉)
Science and Technology of Goiás, Federal Institute
of Education, Goiânia, CP 74055-110, Brazil
e-mail: hernanebarcelos@gmail.com

L. D. Nunes · E. F. C. Alcantara
UFG, University of Goiás, CP 131, Goiânia,
GO 74001-970, Brazil

G. W. Tavares · A. G. S. Prado (✉)
QuiCSI Team, Institute of Chemistry, University of Brasília,
CP 4478, Brasília, DC 70904-970, Brazil
e-mail: agspradus@gmail.com

Published online: 21 April 2011

 Springer

Anexo 2

(Alexandre G.S. Prado, Hernane T. Barcelos, Aline O. Moura, Alecio R. Nunes, Eric S. Gil,. **Dichlorophenoxyacetic acid anchored on silica-gel modified carbon paste for determination of pesticide 2,4-D.** *International Journal of Electrochemical Science*, **7 (2012) 8929 - 8939**)

Dichlorophenoxyacetic Acid Anchored on Silica-Gel Modified Carbon Paste for the Determination of Pesticide 2,4-D

Alexandre G. S. Prado^{1,*}, Hernane T. Barcelos^{1,2}, Alime O. Moura¹, Alecio R. Nunes¹, Eric S. Gil³

¹ QuiCSI Team, Institute of Chemistry, University of Brasilia, C.P. 4478, 70904-970 Brasilia D.C., Brazil

² Federal Institute of Technologic Education of Goias, Rua 75 n46, 74055-110 Goiania G.O., Brazil

³ Faculty of Pharmacy, Federal University of Goias, 74605-220 Goiania G.O., Brazil

*E-mail: agscixus@gmail.com

Received: 23 February 2011 / Accepted: 31 July 2012 / Published: 1 September 2012

2,4-dichlorophenoxyacetic acid was attached onto silica gel. For this immobilization, in the first step, 3-aminopropyltrimethoxysilane was attached onto silica gel surface in order to produce the precursor silica. The 2,4-dichlorophenoxyacetic acid was incorporated onto precursor silica by reaction between chloride of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and amine group precursor silica, forming a covalent bond between 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the inorganic surface, resulting in the production of SiD material. Then, 1.02 mmol of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid per gram of silica exhibited a surface area of 250 m²/g. Infrared and ²⁹Si NMR spectra were in agreement with the proposed structure of the modified silica. This modified silica was applied to develop a chemical carbon paste electrode to determine pesticide 2,4-D in water. Voltammetric studies showed that the 2,4-D electrochemical reduction involved 4 electrons for each 2,4-D molecule reduction. Detection and quantification limits of 2,4-D in water were 0.45 µmol/L.

Keywords: Dichlorophenoxyacetic Acid , Pesticide 2,4-D, carbon paste electrode , Cyclic voltammetry, Chronoamperometry

1. INTRODUCTION

Food shortage is caused not only by malnutrition and starvation, but also by economical, social and political instability. The main alternative to surpass the production crisis in agriculture is to increase the crop yield per acre [1]. In order to increase the production, many agrochemicals have been applied in agricultural fields [2]. However, indiscriminate application of these agrochemicals can cause serious, perhaps grave, environmental problems [3,4]. The excess of agrochemicals can quickly reach natural waters by leaching and runoff processes [5,6].