



Wagner Felipe Pacheco

**Novas abordagens analíticas para a determinação de
ciclofenil por fluorimetria após derivação fotoquímica e
para as determinações voltamétricas de estrobilurinas
utilizando o eletrodo de mercúrio e de Cd (II), Cu (II) e Pb
(II) utilizando o eletrodo de filme de bismuto**

Tese de Doutorado

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-
Graduação em Química da PUC-Rio.

Orientadores: Prof. Ricardo Queiroz Aucélio
Prof. Pécio Augusto Mardini Farias

Rio de Janeiro
Agosto de 2008



Wagner Felipe Pacheco

**Novas abordagens analíticas para a determinação de
ciclofenil por fluorimetria após derivação fotoquímica e
para as determinações voltamétricas de estrobilurinas
utilizando o eletrodo de mercúrio e de Cd (II), Cu (II) e Pb
(II) utilizando o eletrodo de filme de bismuto**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof .Ricardo Queiroz Aucélio
Orientador
PUC-Rio

Dr. Josino Costa Moreira
FIOCRUZ-Rio

Prof. Ricardo Jorgensem Cassella
Departamento de Química – UFF

Profa. Isabel Maria Neto da Silva Moreira
Departamento de Química da PUC-Rio



Wagner Felipe Pacheco

**Novas abordagens analíticas para a determinação de
ciclofenil por fluorimetria após derivação fotoquímica e
para as determinações voltamétricas de estrobilurinas
utilizando o eletrodo de mercúrio e de Cd (II), Cu (II) e Pb
(II) utilizando o eletrodo de filme de bismuto**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção
do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em
Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão
Examinadora abaixo assinada.

Profa. Andréa Fernandes Arruda
Departamento de Química da PUC-Rio

Profa. Roberta Lourenço Ziulli
Departamento de Química da PUC-Rio

Dra. Katia Christina Leandro
FIOCRUZ-Rio

Prof. José Eugenio Leal
Coordenador(a) Setorial do Centro Técnico Científico - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 29 de agosto de 2008

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Wagner Felipe Pacheco

Possui graduação em química - licenciatura pela Universidade Federal do Espírito Santo (2001), graduação em química - bacharelado pela Universidade Federal do Espírito Santo (2001) e mestrado em Química (Química Analítica) pela Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (2004). Tem experiência na área de Química, com ênfase em eletroanalítica, cromatografia líquida de alta eficiência e luminescência molecular aplicados a determinação de compostos inorgânicos e compostos de interesses clínico-biológico em diversas matrizes.

Ficha Catalográfica

Pacheco, Wagner Felipe

Novas abordagens analíticas para a determinação de ciclofenil por fluorimetria após derivação fotoquímica e para as determinações voltamétricas de estrobilurinas utilizando o eletrodo de mercúrio e de Cd (II), Cu (II) e Pb (II) utilizando o eletrodo de filme de bismuto / Wagner Felipe Pacheco ; orientadores: Ricardo Queiroz Aucélio, Pércio Augusto Mardini Farias. – 2008.

145 f. : il. ; 30 cm

Tese (Doutorado em Química)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Ciclofenil. 3. Espectrofluorimetria. 4. Derivação fotoquímica. 5. HPLC. 6. Voltametria. 7. Cachaça. 8. BiFE. 9. Cobre. 10. Estrobilurinas. I. Aucélio, Ricardo Queiroz. II. Farias, Pércio Augusto Mardini. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

A minha esposa e meus pais

Agradecimentos

A minha esposa Nathália e meus Pais, Manoel e Sandra.

Aos amigos Engenheiros Químicos: Flávia, Tais, Marta, Nédio, Pedro e João

Aos amigos e colegas do LEEA. Yaneth, Carlos Eduardo, Flavia Marques, Flávia Figueiredo, Elaine Luz, Cabrini, Alessandra e Sônia Gomes.

Aos meus orientadores Ricardo e Pércio

A Anselmo Bezerra Neves

A CAPES e CNPq pelo fomento.

Resumo

Wagner Felipe Pacheco; Aucélio, Ricardo Queiroz. **Novas abordagens analíticas para a determinação de ciclofenil por fluorimetria após derivação fotoquímica e para as determinações voltamétricas de estrobilurinas utilizando o eletrodo de mercúrio e de Cu (II) utilizando o eletrodo de filme de bismuto.** Rio de Janeiro, 2008. 145p. Tese de Doutorado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Neste trabalho, novas abordagens analíticas para a determinação seletiva de ciclofenil, estrobilurinas (azoxistrobina e dimoxistrobina) e Cu (II) foram desenvolvidas. A determinação do ciclofenil foi feita por meio do sinal fluorescente obtido após sua fotoderivação com UV. Para se alcançar máxima fluorescência (250/410 nm), as condições ótimas para derivação fotoquímica e para medição espectrofluorimétrica foram otimizadas de forma univariada e, em seguida, por meio da otimização multivariada (planejamento composto central). Os valores otimizados mais críticos foram 2 h de tempo de exposição ao UV em meio metanol/tampão Britton-Robinson pH 10,5. Um mecanismo para a reação fotoquímica foi proposto, com a indicação da estrutura de dois prováveis fotoderivados. Nestas condições, a resposta analítica teve comportamento linear e homoscedástico ($r^2 = 0,9951$), sendo o limite de detecção (LQ) e o limite de quantificação (LQ) para determinação espectrofluorimétrica respectivamente iguais a $1,1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. A faixa linear do método se estendeu até $8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Esta metodologia se mostrou adequada para a determinação do ciclofenil em formulações farmacêuticas com recuperações de $98,3 \pm 3,9 \%$. Para as determinações em urina, se fez necessário o uso da separação cromatográfica em fase líquida. Nesse caso, o sinal fluorescente de um dos picos do derivado fotoquímico (tempo de retenção em 7.0 min) foi escolhido. Eficiente separação do sinal da matriz foi obtida em coluna C-18 usando modo de eluição gradiente e fase móvel contendo metanol/água. O uso de padrão interno (acetato de m-toluil) permitiu recuperações de $99,5 \pm 3,4 \%$ do analito em urina fortificada. No caso da determinação seletiva de Cu (II) por voltametria de

redissolução anódica utilizando eletrodo de filme de bismuto, foi necessário inicialmente resolver a interferência entre os picos de redissolução do Cu (II) e do Bi (III), já que ambos aparecem em aproximadamente +80 mV. A interferência foi contornada com a adição de peróxido de hidrogênio, que provocou o deslocamento do potencial de redissolução do Cu (II) para +200 mV, provavelmente devido à deposição de espécies oxidadas de cobre no filme de bismuto. As condições experimentais e instrumentais foram otimizadas, de forma univariada, para se obter um máximo de sinal analítico do Cu (II) sendo, para tal, escolhidas as seguintes condições: potencial de deposição em -1400 mV, velocidade de varredura de 400 mV s⁻¹, 100 mV de amplitude, 120 s de tempo de deposição e modo de varredura de onda quadrada. Nestas condições, foi encontrado uma resposta analítica linear ($R^2 = 0,9927$) e homoscedástica entre a concentração de Cu (II) e a altura do pico de redissolução. O método foi aplicado em amostras de cachaça onde se obteve valores de LD e de LQ respectivamente iguais a $2,9 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e $9,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ respectivamente. Os resultados obtidos destas determinações foram comparados com os provenientes de outra técnica (espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite) e não foi encontrada nenhuma diferença estatística entre estas duas técnicas. A viabilidade da determinação simultânea de Cd (II) e de Pb (II) também foi estudada e uma condição experimental de compromisso estabelecida. Para a estrobilurinas, um método voltamétrico sensível e seletivo foi desenvolvido para a aplicação em alimentos, água de rio e suco industriais. As condições instrumentais foram desenvolvidas de modo a se obter um máximo de sinal analítico para determinação simultânea de azoxistrobina e dimoxistrobina no eletrodo de mercúrio. As condições otimizadas foram: potencial inicial em -300 mV, 150 mV de amplitude, velocidade de varredura de 300 mV s⁻¹, modo de varredura de onda quadrada. Nestas condições foram observados sinais para a azoxistrobina e para a dimoxistrobina respectivamente em -928 e -650 mV. Respostas lineares ($R^2 > 0,99$) e homoscedásticas foram observadas com LD e LQ de $3,6 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e $1,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para azoxistrobina e de $7,1 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e $2,4 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para dimoxistrobina. Seletividade suficiente foi observada para a determinação desses dois analitos em amostras complexas, não sendo observada interferência de outras estrobilurinas tais como a piraxistrobina e picoxistrobina. Um mecanismo simples para as reações redox foi proposto.

Palavras-chave

Ciclofenil, espectrofluorimetria, derivação fotoquímica, HPLC, voltametria, cachaça, BiFE, cobre, estrobilurinas

Abstract

Wagner Felipe Pacheco: Aucélio, Ricardo Queiroz. **New analytical approaches for spectrofluorimetric determination of cyclofenil after photochemistry derivation and for strobilurin voltammetric determination using mercury electrode and Cu (II) voltammetric determination using bismuth film electrode** Rio de Janeiro, 2008. 145p. Tese de Doutorado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

In this work, analytical approaches for the selective determinations of cyclofenil, strobilurins (azoxystrobin and dimoxystrobin) and Cu (II) have been developed. The determination of cyclofenil was made by taking advantage of their fluorescent photoderivative. In order to achieve maximum fluorescence (250/410), the best conditions for derivatization and for the analytical measurements have been optimized firstly by univariate approach and then by a multivariate way (central composite design). The optima conditions were: 2 h of UV exposition time and solvent system composed by methanol/Britton-Robinson buffer pH 10.5. A mechanism for this photochemical reaction has been proposed, with the indication of the structure of two most probable photoderivades. In such conditions, the analytical response presented a linear and homocedastic behavior ($r^2=0,9951$) up to $8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Limit of detection (LQ) and limite of quantification (LQ) for the spectrofluorimetric determination were respectively $1.1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ and $3,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. The methodology was proven to be adequate to quantify cyclofenil in pharmaceutical formulations with mean recovery of $98.3 \pm 3.9\%$. For the determination of cyclofenil in urine, it was necessary the use of a separation technique (HPLC). In such case, the fluorescent signal from one of its photochemical derivatives (7.0 min retention time) was chosen. Efficient separation from the matrix background was achieved using a C-18 column, gradient elution using methanol/water system. The use of an internal standard (m-toluil acetate) allowed recoveries of $99.5 \pm 3.4 \%$ for cyclofenil fortified urine samples. In the case of the selective anodic stripping voltammetric determination of Cu (II) using bismuth film electrode, the overlapping between Cu (II) and Bi (III) needed to be eliminated, since both species present re-dissolution peaks near +80 mV. The interference was solved by the addition of

hydrogen peroxide in the working cell which caused the shifting of Cu (II) re-dissolution peak to +200 mV, probably caused by the deposition of oxidated copper species on the electrode surface. The experimental and instrumental conditions have been optimized in an univariate way in order to achieve a maximum analytical signal for Cu (II). As a result, the optimized conditions were: -1400 mV of deposition potential, 400 mV s⁻¹ scan rate, 100 mV amplitude. In such conditions, a linear and homoscedastic behavior ($r^2 = 0,9927$) analytical response was found. The method has been applied for sugarcane spirit samples where values of 2.9×10^{-7} mol L⁻¹ and 9.5×10^{-7} mol L⁻¹ were achieved respectively for LD and LQ. The results from such determinations had been compared with the ones from another technique (graphite furnace atomic absorption spectrometry) with statistically similar results. The simultaneous determination of Cd (II) and Pb (II) was also achieved using a compromised condition. For the strobilurins, a sensible and selective voltammetric method was developed to be applied in foods, river water and industrial juices. The experimental conditions have been developed in order to achieve a maximum analytical signal for the simultaneous determination of azoxystrobin and dimoxystrobin in the hanging mercury drop electrode. The optimized conditions were: deposition potential at -300 mV, 150 mV amplitude, 300 mVs⁻¹ using the square wave mode. In such conditions, the azoxystrobin and the dimoxystrobin peaks were found at -928 mV and -650 mV respectively. Linear analytical response ($r^2 > 0,99$) and homoscedastic behavior have been observed. LD and LQ where respectively 3.6×10^{-7} mol L⁻¹ and $1,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ for azoxystrobin and 7.1×10^{-7} mol l⁻¹ and 2.4×10^{-6} mol L⁻¹ for dimoxystrobin. Enough selectivity was achieved in complex samples and no interferences from others strobilurins (piraxystrobin and picoxystrobin) was found. A simple mechanism for the redox process at the mercury electrode was proposed.

Key-words

Cyclofenil, spectrofluorimetry, Photochemical derivatization, HPLC, Voltammetry, Sugar cane spirits, BiFE, Strobilurins.

Sumário

1	Introdução	1
1.1.	Ciclofenil	24
1.2.	Azoxistrobina e dimoxistrobina	26
1.3.	Metais em cachaça	31
1.4.	Luminescência molecular	36
1.4.1.	O fenômeno luminescente.	36
1.4.2.	Fotoluminescência	38
1.5.	A derivação fotoquímica	40
1.6.	Voltametria	42
1.6.1.	Voltametria de onda quadrada	46
1.6.2.	Voltametria de redissolução	48
1.7.	O eletrodo de filme de bismuto	51
2	Objetivos	1
2.1.	Objetivos gerais	53
2.2.	Objetivos específicos.	53
2.2.1.	Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação espectrofluorimétrica de ciclofenil em formulações farmacêuticas e urina.	53
2.2.2.	Desenvolvimento de metodologia voltamétrica para determinação de azoxistrobina e dimoxistrobina em diferentes matrizes.	54
2.2.3.	Desenvolvimento de metodologia voltamétrica para determinação de Cd (II) Pb (II) e Cu (II) em cachaças utilizando BiFE.	54
3	Materiais e métodos	1
3.1.	Reagentes	55
3.2.	Instrumentação.	56
3.2.1.	Reator fotoquímico.	56

3.2.2. Espectrofotômetro de luminescência.	57
3.2.3. Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC)	58
3.2.4. Analisadores voltamétricos	59
3.2.5. Outros equipamentos	60
3.2.6. Equipamentos auxiliares	61
3.3. Lavagem do material	61
3.4. Metodologia de trabalho para a determinação espectrofluorimétrica do ciclofenil	61
3.4.1. Padrões de ciclofenil	61
3.4.2. Tratamento fotoquímico	62
3.4.3. Formulações farmacêuticas	62
3.4.4. Procedimento para mediação do sinal fluorescente.	62
3.4.5. Procedimento para medição no cromatógrafo a líquido	63
3.4.6. Urina	63
3.5. Metodologia de trabalho para a determinação voltamétrica das estrobilurinas	63
3.5.1. Preparação de padrões.	63
3.5.2. Amostras de alimentos	63
3.5.3. Procedimento para a medição eletroquímica	64
3.6. Metodologia de trabalho para a determinação voltamétrica de Cu (II), Pb (II) e Cd (II) em amostras de cachaça.	64
3.6.1. Preparação de padrões.	64
3.6.2. Pré-tratamento das amostras	64
3.6.3. Procedimento para a medição eletroquímica	65
4 Resultados: Determinação espectrofluorimétrica do ciclofenil.	1
4.1. Considerações iniciais	66
4.2. Fluorescência natural do ciclofenil e do seu derivado fotoquímico.	67
4.3. Fluorescência do derivado fotoquímico do ciclofenil	68
4.3.1. Estudo de tempo de irradiação do ciclofenil com UV	69
4.3.2. Estudo da influência do solvente e do pH no sinal fluorescente do fotoderivado do ciclofenil	71
4.3.3. Otimização multivariada de fatores que afetam o sinal	

fluorescente do fotoproduto do ciclofenil.	74
4.4. Proposta para a formação do fotoderivado do ciclofenil	84
4.5. Estudos de estabilidade do fotoproduto para determinações espectrofluorimétricas.	87
4.6. Linearidade, precisão, limites de detecção e de quantificação.	87
4.6.1. Linearidade	88
4.6.2. Limite de detecção e limite de quantificação	90
4.6.3. Precisão (repetitividade)	91
4.6.4. Precisão (precisão intermediária)	91
4.6.5. Determinação do ciclofenil em formulações farmacêuticas	92
4.6.6. Determinação do ciclofenil em urina.	95
4.7. Desenvolvimento do método cromatográfico	97
4.7.1. Estudos preliminares	97
4.7.2. Interferência de matriz na urina.	99
4.7.3. Calibração com padrão interno.	100
4.7.4. Seletividade, linearidade, precisão, limites de detecção e quantificação	103
4.7.5. Aplicação do método cromatográfico para determinação do ciclofenil em urina enriquecida	105
5 Resultados: Determinação de azoxistrobina e dimoxistrobina por voltametria adsorptiva de redissolução catódica em eletrodo de gota pendente de mercúrio e varredura no modo de onda quadrada.	1
5.1. Estudos preliminares e otimização.	106
5.1.1. Estudo do eletrólito suporte	106
5.1.2. Estudo do potencial de deposição.	107
5.1.3. Estudo do tempo de deposição.	108
5.1.4. Estudo da amplitude	110
5.1.5. Estudo da velocidade de varredura.	110
5.2. Voltametria cíclica e mecanismo redox.	112
5.3. Parâmetros analíticos de mérito	117
5.4. Aplicação da metodologia para a determinação de azoxistrobina e de dimoxistrobina em alimentos.	120

6	Determinação voltamétrica de Cu (II) utilizando eletrodo de filme de bismuto	1
6.1.	Estudos preliminares	122
6.2.	Otimização instrumental	126
6.2.1.	Influência da concentração de H ₂ O ₂	126
6.2.2.	Estudo da influência da concentração de Bi (III)	127
6.2.3.	Estudo do tempo de deposição	128
6.2.4.	Otimização da frequência, incremento e amplitude	128
6.2.5.	Voltametria cíclica e mecanismo	130
6.3.	Determinação simultânea de Cd (II), Pb (II) e Cu (II)	133
6.4.	Determinação simultânea para Cd (II), Pb (II) e Cu (II)	135
6.5.	Aplicação do método	138
7	Conclusão.	1
8	Referências Bibliográficas	1

Lista de figuras

Figura 1 – Estrutura química do ciclofenil ou bis(p-acetoxifenil)cicloexilidenometano	24
Figura 2 – Estrutura química da a) Azoxistrobina e b) dimoxistrobina	30
Figura 3 – Representação esquemática da produção de cachaça de forma industrial. (1) coleta da cana, (2) transporte, (3) armazenamento, (4) lavagem (5) picagem e moagem (6) fermentação (7) destilação (8) embalagem (9) rotulagem e comercialização. Adaptado da PRO TESTE ³⁹ .	33
Figura 4 – Representação esquemática de uma radiação eletromagnética.	36
Figura 5 – Diagrama de Jablonski modificado para um sistema molecular mostrando as transições eletrônicas e processos de decaimento de energia relevantes aos métodos luminescentes. S singlete, T tripleto.	38
Figura 6 – Esquema para uma reação redox.	43
Figura 7 – Representação da síntese de Stern dos modelos de Helmholtz e Gouy-Chapman para a dupla camada elétrica	44
Figura 8 – Representação esquemática da voltametria de onda quadrada	47
Figura 9 – Representação esquemática do reator fotoquímico utilizado.	56
Figura 10 – Foto do reator fotoquímico .	57
Figura 11 - Representação esquemática do sistema ótico do espectrofotômetro utilizado.	58
Figura 12 – Representação esquemática do sistema cromatográfico utilizado	59
Figura 13 - Espectro de excitação e emissão de uma solução $3,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de ciclofenil em metanol com intensidades máximas em 380/410 nm.	67
Figura 14 – Espectro fluorescente de uma solução $6,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} de ciclofenil (B) original e (A) após 60 min de exposição ao UV.	68
Figura 15: Influência do tempo de irradiação sobre a fluorescência do ciclofenil.	69
Figura 16: Influência do valor de pH da solução aquosa para $5,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de ciclofenil para dois sistemas de solvente metanol/fase aquosa	

50/50% v/v (1:1) e metanol/fase aquosa 90/10% v/v (9:1).	72
Figura 17 – Espectro de excitação fluorescente para solução de ciclofenil ($5,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹) em sistemas de solvente metanol/fase aquosa 50/50% em diferentes valores de pH da fase aquosa. O espectro do ciclofenil em metanol é também indicado.	72
Figura 18 – Influência do valor de pH da fase aquosa em sistemas de solventes com diferentes proporções metanol/água na intensidade e nos máximos de excitação e de emissão fluorescentes.	73
Figura 19 – Planejamento experimental 3 ³ .	75
Figura 20- Gráfico de Pareto para o 1º planejamento experimental.	76
Figura 21 – Curva de nível para a fluorescência do fotoderivado do ciclofenil em função do volume da fase aquosa e tempo de UV	77
Figura 22 – Curva de nível para a fluorescência do fotoderivado do ciclofenil em função do volume da fase aquosa e pH	77
Figura 23 – Curva de nível para a fluorescência do fotoderivado do ciclofenil em função do tempo de UV e pH	78
Figura 24 – Representação esquemática de um planejamento de corpo central CCC.	80
Figura 25 – Superfície de resposta em função do tempo de UV e do pH.	81
Figura 26- Gráfico de Pareto para o segundo planejamento experimental.	82
Figura 27 - Espectros para uma solução de ciclofenil $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ , solução 10% água, 90% metanol, pH 10, no caso de: (1), irradiado por 2h e (2) não irradiado	83
Figura 28 – Espectro de CG-MS para uma solução $1,00 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de ciclofenil irradiado (espectro de fragmentação do tempo de retenção de 33,15 min).	85
Figura 29 – Mecanismo sugerido para a formação do fotoproduto do ciclofenil	85
Figura 30 – Espectro de massa do ciclofenil obtido por MALDI-TOF/MS	86
Figura 31 – Curva analítica para a determinação espectrofluorimétrica do ciclofenil após fotoderivatização.	88
Figura 32 – Cromatograma obtido para uma injeção de 20 µL de uma solução de ciclofenil $1,00 \times 10^{-4}$, usando eluição isocrática com metanol/água 80/20% v/v e coluna C-18 de 15 cm de comprimento.	98

Figura 33 – Cromatograma obtido com injeção de 20 µL de uma solução de urina enriquecida ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com ciclofenil.	99
Figura 34 – Estrutura química do acetato de m-toluil	101
Figura 35 – Cromatogramas de: a) Branco, b) Padrão Interno irradiado, c) Ciclofenil irradiado.	102
Figura 36 – Curva analítica com padronização interna para o ciclofenil irradiado.	103
Figura 37 – Influência do potencial de deposição para A) azoxistrobina e B) dimoxistrobina.	108
Figura 38 – Influência do tempo de deposição para A) azoxistrobina e B) dimoxistrobina.	109
Figura 39 – Influencia da amplitude do potencial sobre o sinal analítico da A) azoxistrobina e B) dimoxistrobina.	110
Figura 40 – Influencia do incremento de potencial sobre o sinal analítico para A) azoxistrobina e B) dimoxistrobina	111
Figura 41 – Influência da frequência de aplicação do potencial sobre o sinal analítico para A) azoxistrobina e B) dimoxistrobina	112
Figura 42 – Voltamograma cíclico de uma solução $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de dimoxistrobina, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .	112
Figura 43 – Voltamograma cíclico de uma solução $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de azoxistrobina, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .	113
Figura 44 - Relação entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura cíclica para a dimoxistrobina.	113
Figura 45 - Relação entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura cíclica para a azoxistrobina	114
Figura 46 – Relação entre a corrente de pico e a frequência de aplicação de potencial para a dimoxistrobina.	114
Figura 47 – Relação entre a corrente de pico e a frequência de aplicação de potencial para a azoxistrobina.	115
Figura 48 – Voltamograma de onda quadrada para uma solução $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de dimoxistrobina.	116
Figura 49 – Relação entre o potencial do pico e a frequência.	116
Figura 50 – Curva analítica para (A) azoxistrobina e (B) dimoxistrobina.	118
Figura 51 – Voltamogramas para concentrações sucessivas de	

dimoxistrobina e azoxistrobina ($5,0 \times 10^{-8}$, $3,0 \times 10^{-7}$, $5,0 \times 10^{-7}$, $7,0 \times 10^{-7}$, $9,0 \times 10^{-7}$ e $1,1 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹)	119
Figura 52 – 1ª derivada de um voltamograma de uma solução $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de Cu utilizando BiFE.	123
Figura 53 – 2ª derivada de um voltamograma de uma solução $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de Cu (II) utilizando BiFE.	123
Figura 54 – Relação entre a corrente de pico e a concentração de Cu (II), para (A) intervalo de $1,6 \times 10^{-7}$ a $1,3 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ e em (B) intervalo de $1,6 \times 10^{-7}$ a $6,0 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ .	125
Figura 55 – Influência da concentração de peróxido sobre a corrente do pico de redissolução do Cu (II) para concentrações de Cu (II) de: A) $1,6 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ , B) $6,3 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ e C) $1,6 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ .	126
Figura 56 – Efeito da concentração de Bi (III) sobre a corrente do pico de redissolução do Cu (II). Concentração de Cu (II) $4,8 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ , concentração de peróxido 0,10% v/v.	127
Figura 57 – Estudo do tempo de deposição de Cu (II)/formação do BiFE. Concentração de Bi (III) 3,0 mg L ⁻¹ , concentração de peróxido 0,10% v/v.	128
Figura 58 – Influência da frequência de aplicação de potencial para a corrente do pico de redissolução do Cu (II).	129
Figura 59 – Influência do incremento de potencial sobre a corrente do pico da redissolução do Cu (II).	129
Figura 60 – Influência da amplitude de aplicação do potencial sobre a corrente do pico da redissolução do Cu (II).	130
Figura 61 – Voltamograma cíclico de uma solução de Cu (II) em eletrodo de carbono vítreo no caso de (A) ausência de H ₂ O ₂ e (B) presença de H ₂ O ₂ . Ambos registrados a 100 mV s ⁻¹ .	131
Figura 62 – Múltiplos voltamogramas cíclicos para uma solução de Cu (II) contendo H ₂ O ₂ .	132
Figura 63 – Influência da amplitude sobre o pico de redissolução para Cd (II), Pb (II) e Cu (II).	133
Figura 64 – Influência da frequência de aplicação de potencial sobre o pico de redissolução para Cd (II), Pb (II) e Cu (II).	134
Figura 65 – Influência do incremento de potencial sobre o pico de	

redissolução para Cd (II), Pb (II) e Cu (II). 134

Figura 66 – Influência do tempo de deposição sobre o pico de redissolução
para Cd (II), Pb (II) e Cu (II). 135

Figura 67 – Curvas analíticas para: a) Cd (II), b) Pb (II) e c) Cu (II) 137

Lista de tabelas

Tabela 1 – Grupos de pesticidas e alvo de ação	27
Tabela 2 – fatores e níveis escolhidos para o primeiro planejamento experimental.	75
Tabela 3 – Variáveis e níveis escolhidos para o segundo planejamento experimental.	80
Tabela 4 – Condições otimizadas para determinação espectrofluorimétrica do ciclofenil.	83
Tabela 5 – Resultado da análise de variância para os dados utilizados na construção da curva analítica	90
Tabela 6 – Resumo dos resultados da regressão linear	90
Tabela 7 – Resultado da determinação do ciclofenil em formulação farmacêutica.	92
Tabela 8 – Resultado da determinação do ciclofenil em formulação farmacêutica por voltametria adosrtiva de redissolução anódica	93
Tabela 9 – Resultado da analise de variância para as determinações do ciclofenil em diferentes dias.	93
Tabela 10 – Condições instrumentais otimizadas para determinação de ciclofenil por HPLC/F	99
Tabela 11 – Resultado da análise de variância dos dados utilizados para a construção da curva analítica	104
Tabela 12 – Resultados da regressão linear	104
Tabela 13 – Resultados das recuperações obtidas em dois níveis diferentes de concentração, em dias diferentes.	105
Tabela 14 – Condições instrumentais e experimentais de compromisso para azoxistrobina e dimoxistrobina.	118
Tabela 15 – Resumo dos resultados da regressão linear e análise de variância para azoxistrobina e dimoxistrobina.	119
Tabela 16 – Resultado para os testes de recuperação em diferentes matrizes.	121
Tabela 17 – Parâmetros analíticos de mérito e resumo da regressão linear	

para as curvas analíticas de Cd (II), Pb (II) e Cu (II)	136
Tabela 18 – Resultado para o teste de recuperação de Cd (II) Pb (II) e Cu (II) em amostras comerciais, após correção do branco.	138
Tabela 19 – Resultado da análise de amostras de cachaça comerciais	138
Tabela 20 – Resultado do teste comparativo para Cu (II) entre as técnicas de espectrofotometria de absorção atômica e de voltametria de redissolução anódica.	139

Acrônimos

- BiFE – Eletrodo de filme de bismuto
- HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência
- CG-MS – Espectrometria a gás acoplado a espectrômetro de massas.
- HMDE – Eletrodo de gota pendente de mercúrio
- MFE – Eletrodo de filme de mercúrio
- GCE – Eletrodo de carbono vítreo