

DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE CLORPIRIFÓS EM AMOSTRAS DE ÁGUAS UTILIZADAS NA AGRICULTURA IRRIGADA NO ESTADO DO CEARÁ

Murilo Sérgio da Silva Julião¹, Luisa Célia Melo Pacheco¹, Djenaine de Souza², Ronaldo Ferreira do Nascimento³, Pedro de Lima-Neto³, Adriana Nunes Correia³

¹Orientador. Prof. Dr. Curso de Química, Universidade Estadual Vale do Acaraú. E-mail: murilo.juliao@pq.cnpq.br

¹Pesquisadora. Dra. Curso de Química, Universidade Estadual Vale do Acaraú.

²Docente. Profa. Dra. da Universidade Federal de Uberlândia, Campus de Patos de Minas.

³Docente. Prof. Dr. Depto. de Química Analítica e Físico-Química, Universidade Federal do Ceará.

Resumo

Clorpirifós (CPF), inseticida organofosforado, é o principal responsável por intoxicação ocupacional no campo, causando impacto na saúde do trabalhador rural. Por seu elevado consumo e toxicidade, faz-se necessário o desenvolvimento de metodologias para quantificação de seus resíduos em alimentos, águas e solos. Assim, utilizou-se eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE) para desenvolver um procedimento sensível e rápido para a quantificação deste inseticida em amostras naturais. O comportamento eletroquímico do CPF foi investigado por voltametria de onda quadrada (VOQ) em meio de tampão BR, onde se observou redução em -1,1 V. Os parâmetros experimentais e voltamétricos foram avaliados com resultados ótimos em pH 2,0, $E_{acu} = -0,4$ V, $t_{ac}=60$ s, $f=100$ s⁻¹, $a=25$ mV, $\Delta E_s= 5$ mV. Foram construídas Curvas analíticas e os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados, obedecendo-se os critérios definidos pela IUPAC. Os parâmetros analíticos de quantificação do CPF por VOQ/ HMDE foram comparados com os obtidos por Cromatografia Gasosa com detector de Nitrogênio e Fósforo (CG-DNP) e os resultados são exibidos na Tabela. A metodologia foi aplicada com sucesso em amostras de águas naturais de mananciais de dois pólos de agricultura irrigada do Ceará: Apodi (Baragem de Pedrinhas, Limoeiro do Norte-CE) e Ibiapaba (Açude Jaibaras, Sobral-CE), obtendo-se como valores de recuperação 91,87% e 86,51%, respectivamente, considerados satisfatórios para metodologias analíticas. Essa metodologia apresentou excelente sensibilidade, caracterizada pelos baixos valores de LD e de LQ, menores até que os obtidos por CG-DNP. Observou-se eficiência e precisão no procedimento por meio de ensaios de recuperação e de reprodutibilidade. Isso sugere que HMDE aliado a VOQ pode ser empregado com sucesso na determinação de CPF, uma vez que os resultados obtidos estão abaixo do máximo permitido pela legislação brasileira para amostras de águas potáveis (20 - 70 µg L⁻¹).

Palavras-chave: clorpirifós; comportamento eletroquímico; voltametria.

Introdução

O Estado do Ceará, embora localizado em uma região de clima semiárido vem se destacando na produção de fruticultura irrigada, conquistando a categoria de terceiro maior exportador de frutas do Brasil.^[1, 2] Em consequência disso, um consumo crescente de agrotóxicos, vem sendo utilizados nos cinco polos de irrigação do estado.

O perímetro irrigado do Jaguaribe-Apodi é o maior e o mais importante do Ceará. Estudos realizados nesta região mostraram que os inseticidas são a classe de pesticidas mais utilizados,^[3] destacando-se dentre outros o inseticida clorpirifós (CPF).

Clorpirifós (O,O-dietil, O-3,5,6-tricloro-2-piridilfosforotionato) é um inseticida e acaricida do grupo químico organofosforado, que foi inicialmente fabricado e comercializado em 1965 pela Dow Chemical Company, nos Estados Unidos, e, atualmente, é um dos cinco inseticidas mais vendidos, com mais de novecentas formulações.^[4]

Os organofosforados apresentam elevada lipossolubilidade, sendo absorvido pelo organismo humano pela pele, especialmente pelas membranas mucosas, e pela via respiratória.^[5] Seus efeitos tóxicos estão associados à capacidade dos componentes químicos, ou um metabolito ativo, inibir a acetilcolinesterase (AChE), substância responsável pela atividade enzimática no tecido nervoso.^[6]

Clorpirifós é um dos maiores responsáveis por intoxicação ocupacional no campo, causando impacto na saúde do trabalhador rural, principalmente pela exposição no momento de preparo da calda, na aplicação na lavoura e durante a colheita.^[7] Este inseticida pertence à classe toxicológica II, ou seja, é altamente tóxico aos seres vivos e ao meio ambiente, tendo ação inseticida, formicida e acaricida.^[8] É empregado nas culturas de citros, de feijão, de maçã, de milho, de soja, de tomate e de trigo, algodão, de batata, de café.

A cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo é uma das técnicas mais utilizadas para determinação de clorpirifós.^[9] Estes procedimentos embora apresentem sensibilidade analítica altamente satisfatória para a quantificação analítica de inseticidas organofosforados, requerem, na maioria das vezes, a utilização de algumas etapas de preparação de amostra antes que ela possa ser analisada, evitando assim os interferentes durante a análise e, principalmente, a contaminação da coluna cromatográfica. Esta etapa de preparação da amostra é frequentemente longa e complexa, o que faz com que o tempo de análise aumente muito e também os custos.^[10]

Durante a última década, projetos de pesquisa dedicados à implementações de adequado dispositivos eletroquímicos para a detecção de pesticidas ganharam muita atenção. Isso pode ser evidenciado pelo grande número de artigos publicados envolvendo sensores eletroquímicos. A principal proposta destes trabalhos é o desenvolvimento da sensibilidade, exatidão, precisão e seletividade, bem como os tempos de análise curtos e metodologias de baixo custo para o monitoramento rápido de pesticidas.

Dos vários métodos eletroanalíticos a voltametria de onda quadrada (VOQ) provou ser um método muito sensível para a detecção de pesticidas em geral,^[11-13] bem como outros compostos orgânicos e inorgânicos,¹⁴ obtendo-se limites de detecção que podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas, possibilitando a análise de pesticidas em água, solo, alimentos e até mesmo compostos de interesse biológico e fluídos, tais como sangue e urina.^[15-18]

Inseticidas organofosforados não respondem eletroquimicamente sobre a maioria das superfícies eletródicas comumente utilizadas em eletroanálises. Além disso, esses compostos são fortemente adsorvidos sobre a superfície do eletrodo de trabalho e por isso, em eletrodo sólido há pouca possibilidade de aquisição de reprodutibilidade nas respostas.

Em geral esses inseticidas são determinados eletroquimicamente utilizando-se eletrodos de mercúrio ou eletrodos modificados com a enzima acetil-colinesterase.

O eletrodo de mercúrio de gota pendente (HMDE) apresenta como principal vantagem o controle da formação da superfície eletródica, proporcionando uma superfície altamente reprodutível, facilmente renovável e estável.^[19] Assim, neste trabalho, foi explorado a utilização deste eletrodo de trabalho associado a voltametria cíclica (VC) para estudos mecanísticos do clorpirifós e voltametria de onda quadrada (VOQ), a fim de estabelecer uma metodologia adequada e eficiente para a determinação analítica deste inseticida em amostras de águas do semiárido cearense (Ceará-Brasil).

Material e Métodos

Soluções estoque de clorpirifós (CPF) $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ foram preparadas diariamente a partir da dissolução de quantidades adequadas de CPF (Sigma-Aldrich, 99,9% de pureza) em etanol puro e posteriormente armazenadas em frascos escuros e mantidas sob refrigeração para prevenir degradação. Como eletrólito suporte foram utilizadas soluções tampão Britton–Robinson (BR)^[20] 0,04 mol L⁻¹ e o pH ajustado ao valor desejado a partir da adição de quantidades adequadas de solução de NaOH 2,0 mol L⁻¹. Todos os reagentes usados neste trabalho foram de grau analítico, preparados com água deionizada obtida de um sistema a Millipore Milli-Q. As análises cromatográficas de clorpirifós foram realizadas num cromatógrafo à gas (GC-Trace, Thermo Finnigan) acoplado a um detector seletivo de nitrogênio e fósforo (NPD). Todas separações foram executadas sobre uma coluna cromatográfica OV-5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm de espessura). Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

As medidas voltamétricas foram registradas num potentiostato/galvanostato (µAutolab III, Metrohm-Eco Chemie) controlado por um computador, interfaceado ao software ANOVA 1.10. Foi utilizada uma célula convencional de três eletrodos, consistindo de Ag/AgCl/KCl(sat.) como eletrodo de referência, carbono vítreo como eletrodo auxiliar e gota pendente de mercúrio (663 VA,

Metrohm, área superficial $0,52 \text{ mm}^2$) como eletrodo de trabalho (HMDE). Um phmetro Micronal B474 equipado com um eletrodo combinado de vidro e $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl } 3.0 \text{ mol L}^{-1}$ foi usado para os ajustar o pH das soluções tampão.

As curvas analíticas foram obtidas no eletrólito puro a partir do método da adição de padrões. O desvio padrão (S_b) foi calculado a partir da média dos valores das correntes obtidas no potencial de redução do clorpirifós (CPF) para dez voltamogramas registrados na solução do eletrólito de suporte. As inclinações das retas das curvas analíticas foram usadas nas determinações dos limites de detecção e quantificação, de acordo com as recomendações da IUPAC.^[21,22] As análises cromatográficas dos clorpirifós foram realizadas num cromatógrafo a gás com detector seletivo de nitrogênio e fósforo (NPD), baseadas na metodologia estabelecida pela EPA 507.^[9]

Resultados e Discussão

Para otimizar as melhores condições de quantificação do CPF foram realizados estudos para a escolha do eletrólito de suporte mais adequado e do pH do meio, Figuras 1 e 2, respectivamente. A partir da observação dos gráficos apresentados nessa figuras, foi estabelecido que o melhor eletrólito de suporte foi o tampão Britton-Robinson, pois apresentou os maiores valores de corrente catódica, Figura 1. Enquanto que a melhor condição de tamponamento do eletrólito de suporte foi $\text{pH} = 2,0$, Figura 2.

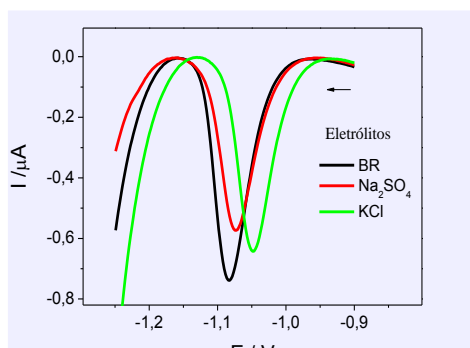


Figura 1. Voltamogramas de onda quadrada registrados para o CPF em diferentes eletrólitos de suporte.

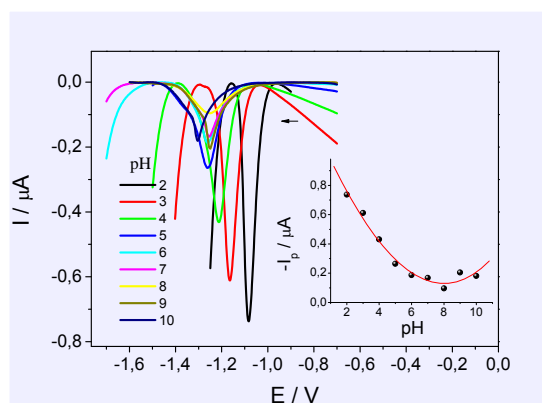


Figura 2. Voltamogramas de onda quadrada registrados para o CPF em diferentes valores de pH do tampão BR.

A determinação quantitativa do CPF foi realizada por voltametria de onda quadrada (VOQ), um método muito rápido e de elevada precisão, entretanto para que essa técnica voltamétrica registre resultados confiáveis se faz necessário o estudo preliminar dos parâmetros voltamétricos da VOQ. Os melhores parâmetros voltamétricos para a quantificação do CPF foram registrados em: potencial de acumulação ($E_{\text{acum.}}$) = -0,30 V; tempo de acumulação ($t_{\text{acum.}}$) = 30 s; frequência de aplicação dos pulsos (f) = 100 s⁻¹; amplitude de pulso diferencial (a) = 25,0 mV e incremento de potencial (ΔE_s) = 2,0 mV, Figura 3.

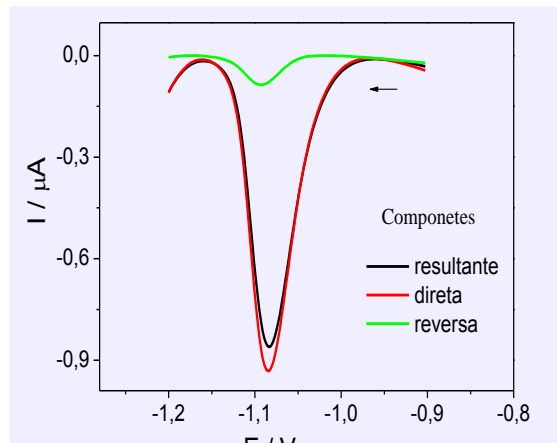


Figura 3. Voltamogramas de onda quadrada (VOQ) registrados em solução de Clorpirifós (CPF) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodo HMDE, em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 2,0). Condições experimentais: $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Com a finalidade de obter-se a curva analítica para o CPF, volumes (μL) crescentes da solução de CPF $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados ao eletrólito de suporte, Figura 4.

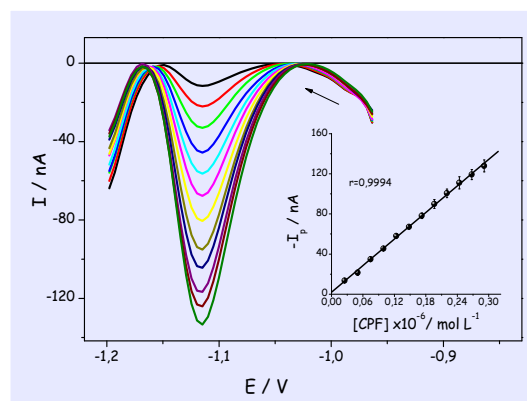


Figura 4. Curva analítica obtida a partir da (VOQ) registrada com adições crescentes de CPF $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodo HMDE, em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 2,0). Condições experimentais: $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 25 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

A partir da curva analítica apresentada na Figura 4 foram obtidos os parâmetros analíticos para a determinação de clorpirifós por VOQ sobre HMDE, os quais são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros analíticos para a determinação de Clorpirifós por VOQ sobre HMDE.

Parâmetro	Valor
Linearidade (mol L ⁻¹)	2,49 x 10 ⁻⁸ a 2,91 x 10 ⁻⁷
Equação	I _p = 2,06 x 10 ⁻⁹ + 0,441 [CPF]
R	0,9993
S _b (A)	6,55 x 10 ⁻¹¹
S (A/mol L ⁻¹)	0,441
LD (mol L ⁻¹)	4,43 x 10 ⁻¹⁰ (0,155 µg L ⁻¹)
LQ (mol L ⁻¹)	1,48 x 10 ⁻⁹ (0,518 µg L ⁻¹)
Repetibilidade (%)	1,27 (n = 10)
Reprodutibilidade (%)	4,03 (n = 5)

A eficiência da metodologia proposta foi testada através de ensaios de recuperação, de acordo com a metodologia proposta pela IUPAC^{21, 22}, Figura 5.

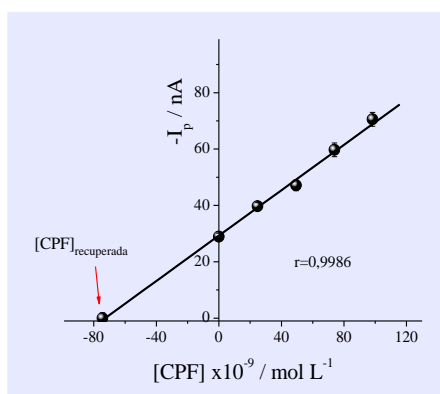


Figura 5. Curva de recuperação em eletrólito de suporte, obtidas a partir dos valores médios (n = 3) de I_p vs. [Clorpirifós], r = 0,9986, em meio de tampão BR 0,04 mol L⁻¹ (pH 2,0), contendo 25% de etanol (v/v).

A exatidão e sensibilidade da metodologia proposta foram comparados aos resultados obtidos por meio de análise cromatográfica baseada na metodologia estabelecida pela EPA 507.^[9] Os parâmetros de comparação entre os métodos voltamétrico e cromatográfico são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros analíticos para quantificação de Clorpirifós em tampão BR pH 2,0.

Parâmetro	VOQ/HMDE	CG-DNP
Linearidade (mol L ⁻¹)	2,49 x 10 ⁻⁸ a 2,91 x 10 ⁻⁷	1,43 x 10 ⁻⁷ a 2,85 x 10 ⁻⁶
R	0,9993	0,9987
S _b	6,55 x 10 ⁻¹¹ (A)	4,49 x 10 ⁻¹¹ UA
S	0,441 (A/mol L ⁻¹)	0,155 (UA/mol L ⁻¹)
LD (µg L ⁻¹)	0,155	0,310
LQ (µg L ⁻¹)	0,518	0,950
Recuperação (%)	91,59 ± 1,82	99,97 ± 7,21
Repetibilidade (%)	1,27 (n = 10)	2,58 (n = 7)
Reprodutibilidade (%)	4,03 (n = 5)	6,91 (n = 5)

Após análise criteriosa dos resultados apresentados na Tabela 2, é possível afirmar que o método da voltametria de onda quadrada (VOQ) associado à superfície do eletrodo de HMDE apresenta maior sensibilidade e maior precisão do que o método da cromatografia gasosa com detector seletivo de nitrogênio e fósforo.

A metodologia foi aplicada com sucesso em amostras de águas de mananciais de dois pólos de agricultura irrigada do Ceará: Apodi (Barragem de Pedrinhas, Limoeiro do Norte - CE) e Ibiapaba (Açude Jaibaras, Sobral - CE), obtendo-se como valores de recuperação 91,87% e 86,51%, respectivamente, considerados satisfatórios para metodologias analíticas, Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados obtidos a partir de curvas de recuperação de Clorpirifós em eletrólito de suporte, em água natural, sobre HMDE nas condições otimizadas.

Amostra	[CPF] _{adic} (mol L ⁻¹)	[CPF] _{rec} (mol L ⁻¹)	Recuperação (%) / RSD
Tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ (pH 2,0)	7,44 x 10 ⁻⁸	6,82 x 10 ⁻⁸	91,56 ± 1,82
Água da Barragem Pedrinha	9,90 x 10 ⁻⁸	9,10 x 10 ⁻⁸	91,87 ± 3,83
Água Açude Jaibaras	9,90 x 10 ⁻⁸	8,56 x 10 ⁻⁸	86,51 ± 3,92

Conclusões

A ausência de etapas de pré-tratamento ou de extração das amostras de águas naturais indica que a metodologia proposta pode ser empregada com sucesso e rapidez na determinação de traços de Clorpirifós.

A metodologia proposta apresentou excelente sensibilidade, caracterizada pelos baixos valores dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), os quais sempre foram menores que os obtidos por cromatografia à gás com detector seletivo de nitrogênio e fósforo (CG-DNP).

Observou-se eficiência e precisão no procedimento por meio de ensaios de recuperação e de reprodutibilidade. Isso sugere que HMDE aliado a VOQ pode ser empregado com sucesso na determinação de CPF, uma vez que os resultados obtidos estão abaixo do máximo permitido pela legislação brasileira para amostras de águas potáveis (20 – 70 µg L⁻¹)^[23].

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências brasileiras de fomento à pesquisa: CNPq, CAPES e FINEP pelo suporte financeiro. A pesquisadora Luisa Célia Melo Pacheco também agradece ao CNPq (Processo 35.0198/2011-0) e FUNCAP (processo DCR 0024.00105.0100/11) pela concessão da Bolsa de Desenvolvimento Científico Regional – DCR.

O Prof. Dr. Murilo Sérgio da Silva Julião agradece ao Instituto de Apoio ao Desenvolvimento da Universidade Estadual Vale do Acaraú (IADE) pelo apoio financeiro concedido através do Programa de Apoio a Pequenos Projetos (PAP).

Referências

1. <http://diariodonordeste.globo.com/materia.asp?codigo=1231733>. Acessado em 08 jul 2013.
2. http://www2.ipece.ce.gov.br/publicacoes/ceara_em_numeros/2011/economico/04_05_Comercio_Exterior.pdf. Acessado em 08 jul 2013.
3. MILHOME, M. A. L. et al. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, p. 363-372, 2009.
4. MORI, M. N. et al. **ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENERGIA NUCLEAR – ABEN , International Nuclear Atlantic Conference – INAC**, Santos - SP, 2005.
5. PENA, M. F. et al. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 37. 2003.
6. TIMCHALK, C. et al. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 219, p. 217-225, 2007.
7. TIMCHALK, C. et al. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 219, p. 226-231, 2007.
8. <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia>. Acessado em 08 jul 2013.
9. http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007_11_06_methods_method_507.pdf. Acessado em 08 jul 2013.
10. COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 7. ed., Campinas: Editora da Unicamp, p. 143, 1997.
11. RIBEIRO, F. W. P. et al. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 40, 2013.
12. GALLI, A.; DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. **Microchemical Journal**, v. 98, p. 135, 2011.
13. MELO, L. C. et al. **Talanta**, v. 79, p. 1216-1222, 2009.
14. MIRCESKI, V.; KOMORSKY-LOVRIC, S.; LOVRIC, M. **Square wave voltammetry – Theory and applications**, Berlin: Springer, 2007.
15. CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. **Diamond and Related Materials**, v. 11, p. 1670-1675, 2002
16. IWUOHA, E. I.; SMYTH, M. R. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 18, p. 237, 2003.
17. RADI, A.; WAHDAN, T.; ABD EL-GHANY, N.; **Journal of the Pharmacology and Biochemistry Analysis**, v. 31, p. 1041, 2003.
18. MELO, L. C. et al. **Electroanalysis**, v. 22, p. 2502, 2010.
19. WANG, J. **Analytical Electrochemistry**, 2. ed., New York: Wiley VCH, 2001.
20. BRITTON, H. T. S.; ROBINSON, R. A. **Journal of Chemical Society**, v. 458, p. 1456, 1931.
21. MOCAK, J. et al. **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, p. 297, 1997.
22. ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, **Analyst**, v. 112, p. 199, 1987.
23. BRASIL. Ministério da Saúde, **Portaria Nº 2.914**, de 12 de dezembro de 2011, Brasília - DF.