

UTILIZAÇÃO DE TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS NA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS

Andressa Galli, Djenaine De Souza, Gustavo S. Garbellini, Cláudia F. B. Coutinho, Luiz H. Mazo, Luis A. Avaca e Sergio A. S. Machado*

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 780, 13560-970 São Carlos – SP

Recebido em 24/11/04; aceito em 4/5/05; publicado na web em 24/8/05

ELECTROANALYTICAL TECHNIQUES FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDES IN FOODS. The aim of this work is to discuss selected applications of electroanalytical techniques for the detection of pesticides in foods and beverages, published in the last ten years. The applications involved different working electrodes for the electroanalytical determination of pesticides, namely amperometric biosensors, cholinesterase-based biosensors, polymer-modified electrodes, ultramicroelectrodes and hanging mercury drop electrodes. They were used for several voltammetric and amperometric techniques in different analytical procedures for the detection and quantification of different classes of pesticides in different food matrices.

Keywords: pesticides; electroanalytical methods; foods.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC)¹, pesticidas são substâncias ou mistura de substâncias utilizadas na produção, colheita ou no armazenamento de alimentos. Eles são bioativos e capazes de prevenir, destruir ou combater espécies indesejáveis que, de alguma maneira, possam interferir na produção, no processamento, armazenamento, transporte e estocagem de alimentos, produtos agrícolas em geral, madeira e produtos derivados de madeira.

Esta definição também compreende substâncias utilizadas no combate a insetos domésticos ou quaisquer agentes preventivos à ação de vetores de doenças que possam ser transmitidas ao homem ou animais domésticos como, por ex., febre amarela, doença de Chagas, malária, entre outras. Substâncias usadas como reguladoras no crescimento de plantas, agentes desfolheantes e dessecantes também são denominadas pesticidas.

Existem registros de diferentes substâncias utilizadas como pesticida desde a Antiguidade, tal como piretro de origem natural. No entanto, o uso moderno de pesticidas é datado do século passado, onde substâncias inorgânicas como aceto arsenito de sódio, conhecido como “*verde Paris*”, fluoreto de cálcio, fluorsilicato de cálcio, arseniato de sódio, arsênio branco, entre outras, foram intensamente empregadas².

A partir da década de 30, o aumento da produção agrícola e, principalmente, a diversidade de culturas impuseram a utilização de outras substâncias com melhor poder pesticida. Um grande número de substâncias foram formuladas especialmente para uso na agricultura, no entanto, o fator determinante para o aumento na produção de pesticidas foi a descoberta do DDT [1,1,1-tricloro-2-bis-(p-clorofenila)-etano], um organoclorado com alto poder inseticida que foi desenvolvido durante a Segunda Guerra Mundial (1939)².

Existem cerca de 600 ingredientes ativos, utilizados na formulação de pesticidas, registrados para uso específico na agricultura. Destes, 350 contribuem com 98% dos pesticidas mais utilizados, sendo que 80% deles são rotineiramente usados na agricultura de países da América do Sul, como o Brasil^{3,4}.

Todos estes pesticidas compreendem uma larga variedade de substâncias químicas com diferentes grupos funcionais e, conseqüentemente, com diferentes modos de ação, biotransformação e eliminação. Algumas classes químicas são compostas por organoclorados, carbamatos, organofosforados, piretróides, derivados de uréia, bupiridílios e nitrocompostos, sendo que alguns deles podem causar riscos à saúde e ao meio ambiente⁵.

Dados estatísticos recentes mostram que a produção mundial de pesticidas cresce intensamente ano a ano, colocando o Brasil como o oitavo maior consumidor do mundo. De acordo com um estudo realizado pelo Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG), somente no ano de 2003 foram gastos 3,136 bilhões de dólares na comercialização de pesticidas no país, o que corresponde a 160,1 mil t lançadas ao meio ambiente. A maior parte deste consumo corresponde à aquisição de fungicidas, que são muito utilizados nas plantações de soja e representam dois terços da quantidade total⁶.

Atualmente, muitos pesticidas, principalmente da classe dos organoclorados e organofosforados que são as mais tóxicas existentes, tiveram seu uso proibido devido à possibilidade de suas fórmulas favorecerem a formação de tumores cancerígenos, assim como vários outros problemas à saúde humana. Com isto, o desenvolvimento de técnicas precisas de quantificação de resíduos de diferentes pesticidas em águas e alimentos tornou-se de fundamental importância.

Muitos estudos têm sido realizados nos últimos anos com o intuito de se desenvolver metodologias de análise mais precisas e que também possam ser realizadas com tempo e custo inferiores. Além disso, estes estudos visam estabelecer curvas de degradação e limites máximos de resíduos em diferentes amostras⁷.

METODOLOGIAS EMPREGADAS NA ANÁLISE DE PESTICIDAS

A análise de resíduos de pesticidas, nos mais diferentes meios, é tradicionalmente realizada utilizando-se técnicas cromatográficas. Estas técnicas são muito importantes na análise química em função de sua facilidade em efetuar as separações, identificar e quantificar as espécies presentes na amostra,

*e-mail: sasmach@iqsc.usp.br

por meio da utilização de detectores específicos.

A quantificação das amostras pode ser realizada com a utilização de detectores cromatográficos, tais como detector por captura de elétrons⁸, fluorescência⁹, ultravioleta-visível¹⁰, ionização de chama¹¹. Estas técnicas também podem ser utilizadas em conjunto com outras, como as espectroscópicas¹² e eletroanalíticas^{13,14}.

As aplicações das técnicas cromatográficas cresceram intensamente nos últimos 50 anos; isto se deve não somente ao desenvolvimento de novos tipos de técnicas de preparação, separação e detecção, mas também pela necessidade crescente de técnicas mais precisas e sensíveis para caracterização e quantificação de analitos de interesse em matrizes complexas, tais como águas naturais, solos, alimentos, sangue, urina e outros tipos de fluidos biológicos¹⁵.

Estas técnicas apresentam-se como uma excelente ferramenta de separação, com informações quantitativas úteis sobre as espécies separadas. Contudo, a quantidade de informações obtidas com a análise dos cromatogramas é pequena, se comparada com a quantidade fornecida por um único espectro de infravermelho, ressonância magnética nuclear e espectroscopia de massa¹⁵.

A quantificação de compostos orgânicos utilizando técnicas cromatográficas fornece resultados com limites de detecção na faixa de nanogramas a microgramas/L (ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$), dependendo do detector utilizado e da técnica de extração. Contudo, são técnicas que dependem de um longo tempo nas etapas iniciais para preparação das amostras, utilizam maior quantidade de reagentes e a instrumentação geralmente é mais dispendiosa financeiramente, o que eleva o custo final das análises. Com isto, há necessidade de se desenvolver técnicas mais rápidas, mais baratas e tão sensíveis quanto as técnicas cromatográficas¹³.

Em 1970, Hance¹⁶ foi o pioneiro na utilização de técnicas eletroanalíticas na análise de resíduos de pesticidas em águas. Nesse trabalho foi estudado o comportamento eletroquímico de 35 herbicidas em 5 eletrólitos suporte diferentes, utilizando a polarografia derivativa e observou-se que, destes, 28 apresentaram eletroatividade em algum dos eletrólitos usados. Com a resposta eletroativa foi possível construir curvas de trabalho e, assim, detectar a presença de pesticidas em amostras de águas.

As técnicas eletroanalíticas relacionam medidas de quantidades elétricas, tais como, corrente, potencial e carga, com parâmetros químicos^{17,18}. Estas apresentam algumas vantagens frente às técnicas tradicionais. A principal delas é a possibilidade, na maioria das vezes, de análise direta da amostra, sem a necessidade de etapa de separação ou pré-tratamento. Além disto, a aplicação de métodos eletroanalíticos possibilita a análise em materiais coloridos ou com partículas sólidas dispersas. A análise direta é, analiticamente, muito conveniente já que o uso de técnicas espectroscópicas e métodos ópticos, na maioria das vezes, requerem separações preliminares.

A aplicação de técnicas eletroanalíticas na análise de amostras complexas, tais como amostras biológicas e ambientais, algumas vezes, requerem etapas de separações químicas, contudo, estas são mais simplificadas, de menor custo e menor tempo, quando comparadas às metodologias de preparação para aplicação de detecção cromatográfica^{15,19,20}.

Em geral, as respostas obtidas com a utilização de técnicas eletroanalíticas sofrem uma menor influência de interferentes presentes nas amostras, comparando-se com técnicas cromatográficas, o que tem possibilitado o uso destas técnicas na análise de pesticidas²¹⁻²⁶.

Atualmente, a sensibilidade das técnicas eletroanalíticas é comparada à de qualquer técnica cromatográfica e espectroscópica. Esta comparação é possível graças ao desenvolvimento tecnológico, o qual possibilitou um grande avanço da instrumentação eletroanalítica, contribuindo intensamente na melhoria da sensibilidade²⁵.

A utilização de técnicas eletroanalíticas possibilita estudos de processos de degradação de pesticidas e avaliação dos mecanismos de redução e/ou oxidação eletroquímica, permitindo verificar a formação de produtos intermediários tóxicos, ao homem e ao ambiente²⁵.

TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

As informações obtidas com o uso de técnicas eletroanalíticas são dependentes da superfície eletródica, que deve apresentar elevada razão sinal-ruído e boa reprodutibilidade. O eletrodo de trabalho a ser utilizado depende de dois fatores: do comportamento redox do analito e das correntes residuais obtidas no intervalo de potencial avaliado. Também se deve considerar a janela de potencial de trabalho, condutividade elétrica, reprodutibilidade da superfície, as propriedades mecânicas, o custo de fabricação, a disponibilidade e toxicidade²⁷.

A importância da escolha do material do eletrodo de trabalho também se deve ao fato de que as respostas obtidas são relacionadas às reações redox que ocorrem em sua superfície ou na interface eletrodo-solução. Desta forma, o analito de interesse pode interagir com a superfície eletródica, resultando na transferência de elétrons. Entretanto, se a transferência é muito lenta, não ocorre, ou ocorre em um valor de potencial fora da janela de potencial do eletrodo, é possível realizar uma modificação na superfície eletródica a fim de melhorar a resposta final, onde o analito irá interagir diretamente com o agente modificante.

Em 1925, Heyrovsky²⁸ iniciou o desenvolvimento de eletrodos de mercúrio para detecções eletroquímicas. Este eletrodo consistia em um reservatório elevado de mercúrio, onde a altura deste reservatório controlava o tamanho e a velocidade de desprendimento da gota, que era usada como eletrodo de trabalho. Com este trabalho, em 1950, recebeu o Prêmio Nobel de Química, pois a partir deste poço de mercúrio desenvolveu-se a polarografia de corrente direta.

Este eletrodo apresentava algumas vantagens, as quais, ainda hoje, são responsáveis pela intensa utilização de eletrodos de mercúrio. A renovação da gota a cada potencial aplicado é uma delas, e é de fundamental importância, já que evita problemas de contaminação e envenenamento do eletrodo²⁹. Outra vantagem é a reprodutibilidade no tamanho da gota, pois se não há mudanças em seu tamanho, não há modificação nas respostas de corrente¹⁵. O sobrepotencial de evolução de hidrogênio, onde se inicia a decomposição da água, é outra vantagem, já que possibilita medidas em vários meios em uma ampla faixa de potencial.

Todas estas vantagens tornaram o eletrodo de mercúrio o mais versátil e utilizado para detecção de pesticidas em diferentes matrizes. Entretanto, ele é limitado para o intervalo de potenciais positivos, além de ser um metal de elevada toxicidade³⁰. Esta limitação do intervalo de potenciais exclui sua utilização no monitoramento de compostos oxidáveis. Assim, eletrodos sólidos que possuem uma janela de potencial positiva têm considerável aplicabilidade em determinações analíticas. Alguns materiais que podem ser utilizados para construção de eletrodos sólidos são platina, ouro, carbono, irídio, ródio, paládio, níquel, ferro, cobre e tungstênio.

As respostas obtidas com a utilização destes eletrodos são dependentes das condições da superfície eletródica. Assim, o uso de tais eletrodos requer um minucioso pré-tratamento eletroquímico e/ou polimento mecânico para obtenção de resultados reprodutíveis. A natureza das etapas de pré-tratamento depende dos tipos de materiais envolvidos na construção dos eletrodos. Polimentos mecânicos e ciclagem de potenciais são comumente utilizados para eletrodos metálicos, onde vários tratamentos químicos, eletroquímicos ou térmicos podem ser usados para ativa-

ção das superfícies eletródicas²⁷.

O desenvolvimento da parte eletrônica da instrumentação utilizada em eletroanalítica, principalmente nas medidas de correntes muito pequenas, e o surgimento de materiais com estruturas micrométricas proporcionaram as ferramentas necessárias à miniaturização dos eletrodos de trabalho, possibilitando a utilização de ultramicroeletrodos (UMEs) em diferentes meios.

A utilização de UMEs promove um aumento na qualidade dos dados experimentais. Estes incluem melhor resolução do perfil voltamétrico, maior densidade de corrente e diminuição nos efeitos da resistência da solução³¹. Além disso, UMEs podem ser utilizados para investigar uma larga variedade de experimentos em diversos sistemas antes impossíveis com eletrodos convencionais, tais como análises *in vivo*³². Adicionalmente, o uso de UMEs possibilita determinações de diferentes pesticidas diretamente nas amostras, sem necessidade de tratamentos prévios³³, na ausência de eletrólito suporte e utilizando altas velocidades de varredura^{34,35}. Os UMEs podem ser construídos com diferentes tipos de metais e ainda podem servir de suporte para modificação com mercúrio, polímeros e enzimas³⁶⁻³⁸.

Se o analito de interesse não interage com o eletrodo, é possível realizar uma modificação na superfície eletródica pela imobilização de grupos funcionais, incorporação de catalisadores inorgânicos e biológicos (enzimas e anticorpos), deposição de filmes poliméricos, modificação com sílica e deposição de membranas biológicas³⁹. Estes eletrodos, chamados de eletrodos quimicamente modificados, são mais seletivos e mais sensíveis, pois a modificação possibilita controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução como uma forma de alterar a reatividade e seletividade do eletrodo base favorecendo, assim, o desenvolvimento de eletrodos para diferentes aplicações analíticas⁴⁰.

As modificações de superfícies eletródicas são importantes, uma vez que são específicas a um determinado tipo de analito e promovem um alto grau de seletividade, possibilitando o desenvolvimento de sensores de fácil manipulação e construção, baixo custo, potencial de miniaturização e detecção rápida⁴¹. Desta forma, a utilização de agentes modificantes representa uma alternativa à substituição de eletrodos de mercúrio e metais inertes.

A construção de biossensores é baseada na inibição da atividade de enzimas específicas, que são freqüentemente empregadas na detecção de pesticidas organofosforados e carbamatos⁴². A utilização de eletrodos modificados com materiais de interesse biológico, tais como a imobilização de microorganismos vivos, também tem sido relatada para determinação de resíduos de pesticidas organofosforados, nas quais as respostas obtidas são função da atividade respiratória do microorganismo⁴³.

DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS

O aumento da poluição ambiental por metais tóxicos e principalmente por resíduos de pesticidas, das mais variadas classes químicas, tem estimulado o desenvolvimento de técnicas apropriadas para avaliação destes compostos em diferentes tipos de alimentos e bebidas em geral, pois estes são os principais caminhos de ingestão destes contaminantes pelo homem⁴⁴.

Um grande número de trabalhos sobre determinação eletroanalítica de pesticidas em alimentos, *in natura* ou industrializados tem sido publicado nos últimos anos, sendo que a maior parte corresponde à utilização de eletrodos modificados com enzimas e eletrodos de mercúrio.

As principais técnicas de detecção eletroquímica utilizadas são voltametria de onda quadrada, voltametria de pulso diferencial, voltametria de pulso normal, amperometria, potenciometria e condutimetria⁴⁵.

Os pesticidas apresentam diferentes grupos eletroativos, os quais definem o material do eletrodo de trabalho que será utilizado no desenvolvimento da metodologia de análise. A seguir, são apresentados alguns trabalhos da literatura, que relatam a determinação de pesticidas em alimentos e bebidas.

Pesticidas triazínicos

As triazinas são utilizadas como herbicidas no controle pré e pós-emergente de ervas daninhas nas mais variadas culturas, desde a década de 50. Os herbicidas pertencentes a este grupo compreendem cerca de 30% da produção mundial⁴⁶. As s-triazinas, normalmente possuem um anel heterocíclico de seis membros onde os átomos de C e N são simetricamente localizados e os substituintes das posições 2, 4 e 6, constituem-se no diferencial entre as várias formulações disponíveis comercialmente⁴⁷.

A maior parte dos trabalhos envolvendo determinação eletroanalítica das triazinas relatam a detecção utilizando eletrodos de mercúrio. Como reportado, as triazinas apresentam um ou mais picos referentes à redução das formas mono- e di-protonadas, picos estes que podem ser utilizados para determinação eletroanalítica de triazinas em diferentes amostras¹⁷. Os limites de detecção obtidos variam de acordo com a técnica utilizada⁴⁸⁻⁵¹.

A análise de triazinas em alimentos utilizando-se eletrodos de mercúrio é pouco explorada, principalmente em função de sua forte adsorção na superfície eletródica. Neste sentido, Pedrero e colaboradores⁵² utilizaram um surfactante aniônico a fim de inibir este processo adsorptivo e desenvolver uma metodologia para determinação de desmetrina em amostras de sucos de maçã, utilizando a voltametria de pulso diferencial. Após etapas de separação e "clean up", utilizando coluna C₁₈, foi obtido limite de detecção de 1,0x10⁻⁸ mol L⁻¹.

Yulaev e colaboradores⁵³ utilizaram um biossensor potenciométrico com enzima peroxidase para detecção de simazina em alimentos. Este biossensor foi baseado na detecção potenciométrica da água oxigenada gerada pela reação da enzima peroxidase com o substrato, que é inibida após a reação competitiva com o pesticida. O mecanismo de resposta do biossensor é função da reação competitiva entre a simazina e o substrato pelos sítios ativos da enzima diminuindo, assim, a formação do produto da reação entre substrato e enzima. Neste trabalho, a superfície que apresentou melhor eficiência como suporte para o biossensor foi o ouro. Deste modo, o eletrodo modificado foi utilizado para detecção de simazina em carne, pepino, tomate, batata, leite e sucos de frutas. Os resultados obtidos mostraram-se convenientes para detecção em alimentos, minimizando o tempo de análise.

Pesticidas organofosforados

Os pesticidas organofosforados possuem em sua estrutura um átomo central de fósforo pentavalente ligado a um átomo de oxigênio ou enxofre, por uma dupla ligação. Estes são menos persistentes no ambiente que os organoclorados, contudo, possuem efeito tóxico mais agudo para seres humanos e outros mamíferos, pois são inibidores da enzima acetilcolinesterase, essencial para a transmissão de impulsos nervosos³⁰. Tais como os organoclorados, os organofosforados são lipossolúveis, sendo contaminantes potenciais para diversos tipos de alimentos.

A eletroatividade dos pesticidas organofosforados está intimamente relacionada à estrutura química do pesticida. Alguns organofosforados apresentam respostas eletroativas sobre superfície de mercúrio, como, por ex., monocrotofos, fosfamidom, diclorvos, fenitrotriona, fentiona, dentre outros. Em geral, estes apresentam processo redox bem definido em meio ácido, alcalino ou

neutro, que é atribuído à redução da dupla ligação carbono-carbono em cada um dos compostos e/ou à redução de íons cloreto ou grupo nitro presentes na estrutura do composto⁴⁵.

Em função das respostas eletroativas obtidas sobre mercúrio, alguns trabalhos apresentam a determinação eletroanalítica de organofosforados em cereais⁵⁴, utilizando-se a polarografia de pulso diferencial no desenvolvimento de uma metodologia para determinação de resíduos de dicotofós, crotóxifós e clorofenvinfós. Os resultados obtidos mostraram boa precisão e reprodutibilidade da metodologia.

O ultramicroeletrodo de ouro foi utilizado por De Souza e Machado⁵⁵ para determinação eletroanalítica de diclorvos em leite de vaca. Os resultados mostraram que o ultramicroeletrodo apresentou um desempenho satisfatório, possibilitando a obtenção de limites de detecção baixos o suficiente para sua aplicação em alimentos, apontando para a possibilidade de substituição de eletrodos de mercúrio por eletrodos sólidos, minimizando a geração de resíduos tóxicos de mercúrio.

Como os organofosforados são inibidores da enzima acetilcolinesterase, esta é utilizada para desenvolvimento de eletrodos modificados. Os estudos são baseados no efeito da inibição da enzima pela presença do pesticida organofosforado. A técnica aplicada quando estes tipos de eletrodos são utilizados, geralmente, é a detecção potenciométrica, que possibilita a quantificação de uma ampla variedade de pesticidas organofosforados em alimentos^{56,57} e bebidas^{58,59}, devido à sua alta eficiência e seletividade.

Nitropesticidas

Estes pesticidas apresentam em sua estrutura o grupo nitro e, normalmente, são muito tóxicos. Em geral, fornecem respostas eletroativas sobre superfície de mercúrio, onde o mecanismo de redução forma o intermediário hidroxilamina, formando como produtos finais diferentes aminas. Os principais nitropesticidas são divididos em quatro grupos básicos: nitroorganofosforados, derivados de nitrofenol, derivados de dinitroanilinas e nitroorganoclorados⁴⁵.

O principal representante desta classe é o metil paration, um nitroorganofosforado inibidor da enzima acetilcolinesterase. Assim, vários trabalhos foram desenvolvidos utilizando eletrodos modificados com enzimas para a determinação deste pesticida em alimentos^{52,59,60}.

Um exemplo de dinitroanilina determinada em alimentos é a trifluralina. Hegedüs e colaboradores⁶¹ utilizaram um biossensor para detecção deste herbicida em amostras de sucos de cenoura, abóbora e tomate.

O p-nitrofenol, um derivado do nitrofenol, é um metabólito de vários pesticidas organofosforados. Desta forma, algumas metodologias eletroanalíticas têm sido implementadas para determinação de seus resíduos em diferentes tipos de amostras. Neste contexto, Calvo-Marzal e colaboradores⁶² avaliaram resíduos de p-nitrofenol utilizando eletrodo de carbono vítreo recoberto com membrana de Nafion®, em função da atividade da enzima fosfatase ácida em solução. Os resultados mostraram que a inibição da atividade da enzima está relacionada com a concentração do pesticida, os limites de detecção obtidos com eletrodo modificado com Nafion® foram menores que os obtidos com o eletrodo de carbono vítreo liso, e, ainda, possibilitaram a quantificação de p-nitrofenol em amostras de feijão.

Pesticidas organoclorados

Os pesticidas organoclorados são extremamente tóxicos e apresentam elevada estabilidade e capacidade de bio-acumulação, podendo gerar problemas de saúde e ambientais. O mecanismo redox destes pesticidas geralmente envolve a remoção de um átomo de

cloro. Os limites de detecção obtidos com a utilização de técnicas eletroanalíticas são relacionados à presença de anel benzênico e de duplas ligações nas estruturas dos compostos¹⁷.

Em geral, estes adsorvem fortemente na superfície eletródica, prejudicando, assim, a sensibilidade e reprodutibilidade analíticas. Desta forma, alguns estudos eletroanalíticos são realizados em soluções micelares (surfactantes catiônicos e aniônicos) ou misturas com solventes orgânicos. Neste contexto, Reviejo e colaboradores⁶³ utilizaram polarografia de pulso diferencial na determinação de dieldrin, α -endossulfan, β -endossulfan, endossulfan-sulfato e heptacloro, em amostras de maçãs, onde os limites de detecção apresentaram valores elevados (10^{-6} mol L⁻¹) indicando uma baixa sensibilidade quando comparados a outras classes de pesticidas, entretanto, apontam a possibilidade de utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação qualitativa de organoclorados.

Pesticidas biperidílios

Os pesticidas biperidílios apresentam intenso uso na agricultura. São compostos diquartenários nitrogenados e estruturalmente são cátions bivalentes altamente solúveis, estáveis na presença de luz e calor e inativos no solo. Estes compostos são extremamente tóxicos ao meio ambiente e à saúde humana, apesar disto são, atualmente, os herbicidas mais empregados em cerca de 130 países, inclusive no Brasil.

O principal representante da classe dos biperidílios é o paraquate, classificado pela Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA) como um possível carcinogênico, mas não mutagênico. O diquate é o segundo representante mais importante desta classe e também apresenta as mesmas características tóxicas que o paraquate. Além destes, ainda fazem parte desta classe o difenzoquat e o benzoquat.

O paraquate e o diquate apresentam respostas eletroativas sobre eletrodos de mercúrio. Walcarius e Lamberts⁶⁴ desenvolveram uma metodologia utilizando voltametria de onda quadrada para determinação de resíduos destes pesticidas em amostras de batatas, obtendo limites de detecção satisfatórios para determinações eletroanalíticas.

De Souza e Machado⁵⁵ utilizaram UMEs de ouro aliados à voltametria de onda quadrada para determinação de paraquate em sucos de laranja e limão. Os resultados obtidos mostraram que é possível o uso direto de ultramicroeletrodos em amostras complexas, sem necessidade de etapas de separação química ou preparação da amostra.

Pesticidas carbamatos

Os carbamatos são utilizados como inseticidas e herbicidas. Estes compostos são muito instáveis em condições neutras e alcalinas, à temperatura ambiente⁶⁵. O primeiro representante da classe dos carbamatos foi o profam, seguido por outros, como clorprofam, barban, asulam, carbutilato, clorbufam, desmedifam e suepe. Estes compostos são sais ou ésteres do ácido carbônico, com substituições dos hidrogênios hidroxilícos e amínicos, por átomos, grupos funcionais ou radicais⁶⁶.

Alguns carbamatos necessitam de etapas de derivatização para determinação eletroanalítica destes compostos e o desenvolvimento de metodologias que empreguem diferentes superfícies eletródicas, tais como eletrodos sólidos e biossensores.

No caso dos pesticidas carbaril e carbofurano, os principais representantes da classe dos carbamatos, a detecção eletroanalítica só é possível pela determinação dos produtos de hidrólise em meio alcalino⁶⁷.

Diferentes UMEs podem ser empregados para determinação de carbamatos. Assim, metodologias eletroanalíticas foram desen-

volvidas e aplicadas na determinação de tiram em amostras de uva⁶⁸ e de dissulfiram em amostras de ervilha⁶⁹. O emprego de UMEs possibilitou análise direta nas amostras com melhoras significativas das respostas.

Em geral, os carbamatos são inibidores da enzima acetilcolinesterase⁷⁰. Desta maneira, vários trabalhos relatam o uso de eletrodos modificados com enzimas na determinação destes compostos em amostras de alimentos^{58,71,72}.

Pesticidas piretróides

Os piretróides foram originalmente obtidos a partir de compostos de origem natural, tais como piretro, nicotina e ácido crisântêmico. Apesar de possuírem uma menor toxicidade que a maioria das outras classes de pesticidas, podem apresentar uma longa persistência em ambientes fechados, uma vez que são, frequentemente, utilizados como inseticidas domésticos.

Os piretróides são mais eficientes e seguros, pois são seletivos e não apresentam toxicidade para mamíferos⁷³. São largamente empregados em diversos tipos de culturas no controle de insetos, podendo ser eventuais contaminantes em alimentos.

Samatha e Sreedhar⁶⁸ utilizaram polarografia de pulso diferenciado no estudo da cinética e do mecanismo de redução da deltametrina.

Desenvolveram, também, metodologia para quantificação deste pesticida em amostras de couve, tomate, arroz e trigo.

Pesticidas sulfoniluréias

As sulfoniluréias ou feniluréias são herbicidas largamente empregados em diferentes culturas. Geralmente, possuem alta solubilidade em água e baixa capacidade de adsorção no solo⁷⁴. Também apresentam baixa toxicidade, são seletivos e muito eficientes.

A estrutura das sulfoniluréias consiste de três partes distintas: um grupo arila, uma ponte sulfoniluréia e um anel heterocíclico contendo nitrogênio. O comportamento eletroanalítico destes compostos é dependente do pH do meio e os poucos trabalhos publicados indicam que as melhores respostas voltamétricas são obtidas em meio ácido⁴⁵.

Pulido-Tofiño e colaboradores^{75,76} desenvolveram biossensores utilizando anticorpos encapsulados em matriz sol-gel, para determinação de isoproturon. O uso deste eletrodo promoveu maior seletividade, possibilitando a determinação de resíduos do pesticida em amostras de ervilha e batata.

Na Tabela 1 são apresentados alguns trabalhos referentes à determinação de pesticidas em amostras de alimentos, utilizando-se técnicas eletroanalíticas aliadas a diferentes eletrodos de trabalho, bem como os valores de limites de detecção (LD).

Tabela 1. Resumo das aplicações de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos

Pesticida	Eletrodo de trabalho	Matriz	LD	Ref.
Simazina (triazina)	biossensor	carne, pepino, tomate, batata, leite e sucos de frutas	NR	53
Atrazina (triazina)	biossensor	milho	0,50 mg L ⁻¹	77
Aldicarbe, carbaril, carbofurano, metomil e propoxur (N-metilcarbamatos)	biossensor	batata, cenoura e pimenta doce	1,00 a 3,50 x 10 ⁻⁴ mg kg ⁻¹	72
Paraquate e diquate (bipiridílios)	HMDE	batata	1,50 x 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹	65
Paraquate (bipiridílio)	UME de Au	sucos de laranja e limão	NR	33
Dieldrin, α -endossulfan, β -endossulfan, endossulfan sulfato, heptacloro (organoclorados)	HMDE	maçãs	1,00 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	63
Clorofenvinpós, dicrotofós e crotoxyfos (organofosforados)	DME	cereais	0,35 μ g L ⁻¹	54
Carbaril e carbofurano (carbamatos)	carbono vítreo	vegetais	0,10 mg L ⁻¹	67
Carbaril (carbamato)	biossensor	kiwi	0,20 μ g L ⁻¹	78
Dinoseb (feniluréia)	filme de mercúrio	suco de maçã	NR	79
Tiram (carbamato)	grafite modificado	morango	12,9 μ g L ⁻¹	80
Paraoxon (organofosforado)	biossensor	kiwi	0,28 μ g L ⁻¹	71
Promecarbe e propoxur (carbamato)	carbono vítreo	vegetais	0,10 mg L ⁻¹	67
Cianopiretróide	HMDE	cereais	1,00 mg L ⁻¹	72
Paraoxon (organofosforado)	biossensor	suco de laranja	9,50 μ g L ⁻¹	58
Paraoxon (organofosforado)	biossensor	alimento infantil	< 5,00 mg L ⁻¹	56
Fenitrothion (organofosforado)	biossensor	alface e arroz	0,50 ng mL ⁻¹	57

Tabela 1. continuação

Pesticida	Eletrodo de trabalho	Matriz	LD	Ref.
Fentiona (organofosforado)	biossensor	alface e arroz	0,50 ng mL ⁻¹	82
Tiram (carbamato)	UME de fibra de carbono	uva	4,30 x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	65
Tiram (carbamato)	biossensor	alface	5,00 a 40,00 ng mL ⁻¹	83
Atrazina, ametrina e simazina (triazinas)	biossensor	suco e leite	NR	84
Atrazina (triazina)	biossensor	sucos de frutas	2,10 µg L ⁻¹	85
Desmetrina (triazina)	HMDE	suco de maçã	2,40 x10 ⁻⁹ a 8,10 x10 ⁻¹⁰ mol L ⁻¹	52
Carbaril (carbamato)	biossensor	ovo, carne bovina, leite, mel	2,00 a 1,00 ng mL ⁻¹	86
Metil paration (nitrocomposto)	biossensor	ovo, carne bovina, leite, mel	2,00 a 1,00 ng mL ⁻¹	86
Carbofurano (carbamato)	biossensor	sucos de maçã, uva, abacaxi	0,20 ng mL ⁻¹	87
Paraoxon (organofosforado)	biossensor	sucos de uva e laranja	1,00 x10 ⁻¹⁰ a 1,00 x10 ⁻¹¹ mol L ⁻¹	58
Carbofurano (carbamato)	biossensor	sucos de uva e laranja	1,00 x10 ⁻¹⁰ a 1,00 x10 ⁻¹¹ mol L ⁻¹	58
Paraoxon, clorpirifós e diazinona (organofosforados)	biossensor	suco de frutas	1,00 ng mL ⁻¹ a 4,00 µg mL ⁻¹	59
Carbaril e carbofurano (carbamatos)	biossensor	suco de frutas	1,00 ng mL ⁻¹ a 4,00 µg mL ⁻¹	59
Carbofurano e propamocarb (carbamatos)	biossensor	alface, saladas e cebola	NR	88
Metil oxidemeton e metil paration (nitropesticidas)	biossensor	alface, saladas e cebola	NR	88
Aldicarbe, carbaril, carbofurano, metomil e propoxur (carbamatos)	biossensor	frutas e vegetais	NR	89
Carbaril (carbamatos)	biossensor	banana, cenoura, laranja, batata e feijão verde	2,70 a 5,70 µg L ⁻¹	90
Dissulfiram (carbamato)	UME de Au	ervilha	6,30 x10 ⁻⁸ mol L ⁻¹	69
4'-DDT (organoclorado)	biossensor	alimento infantil industrializado	0,30 a 110,00 µg L ⁻¹	91
Malationa, clorpirifós (organofosforados)	biossensor	alimento infantil industrializado	0,30 a 110,00 µg L ⁻¹	91
Atrazina (triazina), carbofurano (carbamato), metacloro, clorpirifós (organofosforados)	biossensor	alimento infantil industrializado	NR	92
Fenitrotona e clorpirifós (organofosforado)	biossensor	aipo e laranja	58,00 µg L ⁻¹	93
Metil azinfós (organofosforado)	biossensor	sucos de laranja e maçã	0,40 µg L ⁻¹	94
Metil paration (organofosforado)	biossensor	frutas e vegetais	NR	60
Trifluralina (nitropesticida)	biossensor	sucos de abóbora, cenoura e tomate	NR	61
Deltametrina (piretróide)	HMDE	couve, tomate, arroz e trigo	NR	68

NR = não relatado; HMDE = eletrodo de gota pendente de mercúrio; DME = eletrodo gotejante de mercúrio; UME = ultramicroeletrodo

PERSPECTIVAS

O aperfeiçoamento das técnicas eletroanalíticas está intimamente relacionado à melhoria da sensibilidade analítica (característica da técnica utilizada) e também da seletividade (relacionada ao material do eletrodo de trabalho). Assim, o desenvolvimento de técnicas rápidas, confiáveis e sensíveis que possam ser utilizadas para detecção de compostos de interesse ambiental, biológico e industrial vem sendo objeto de estudo.

Uma técnica que tem sido aplicada nos últimos anos é a múltipla voltametria de onda quadrada⁹⁵⁻⁹⁷, que possibilita a determinação de traços e ultra-traços de espécies orgânicas e inorgânicas, correspondendo a limites de detecção na ordem de 1 ng L⁻¹ (1 ppt) podendo, assim, ser aplicada com sucesso na detecção de pesticidas em alimentos e bebidas⁹⁸.

Recentemente, moléculas de DNA têm sido incorporadas à superfícies eletródicas para detecção de bactérias⁹⁹, vírus¹⁰⁰, monitoramento genético de doenças, monitoramento ambiental

(águas e solos)¹⁰¹, de alimentos contaminados por microorganismos patogênicos e também analitos que apresentam afinidade pela molécula de DNA, como por ex.: compostos carcinogênicos e mutagênicos¹⁰² e drogas¹⁰³. Desta maneira, a modificação de eletrodos com moléculas de DNA poderia promover um aumento na seletividade a pesticidas permitindo, assim, a aplicação em amostras de alimentos e bebidas contaminados.

CONCLUSÕES

A rapidez, o baixo custo das análises, a facilidade no manuseio da instrumentação e os baixos limites de detecção fazem das técnicas eletroanalíticas uma alternativa extremamente viável às tradicionais técnicas cromatográficas, para detecção de resíduos de pesticidas em alimentos.

Uma desvantagem apresentada pelas técnicas eletroanalíticas é a seletividade eletroquímica, sendo este inconveniente, possivelmente, solucionado com a utilização de eletrodos quimicamente modificados com polímeros, mercúrio, enzimas, moléculas de DNA, etc., que promovem uma melhor seletividade, minimizando a interferência de várias outras substâncias e compostos químicos, presentes em amostras tão complexas, tais como os alimentos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à CAPES e FAPESP (Proc. No. 03/03256-4, 03/12926-3 e 04/00839-1) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Holland, P. T.; *Pure Appl. Chem.* **1996**, *62*, 1167.
- Klaassen, C. D.; *Toxicology-the basic science of poisons (Casartt & Doull's)*, 5ed., International Edition: New York, 1989.
- Richardson, M.; *Water Sci. Technol.* **1998**, *37*, 19.
- <http://www.andef.com.br>, acessada em Setembro 2004.
- Unnever, J.; Pingali, P. L.; Zilberman, D.; *Food Pol.* **1997**, *22*, 105.
- <http://www.sindag.com.br>, acessada em Setembro 2004.
- Giouchon, G. A.; Beaver, L. A.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *524*, 1.
- Suchan, P.; Pulkrabová, J.; Hajslová, J.; Kocourek, V.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *520*, 193.
- Nedelkoska, T. V.; Low, G. K. C.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *511*, 145.
- Huang, S. D.; Huang, H. I.; Sung, Y. H.; *Talanta* **2004**, *64*, 887.
- Engelmann, M. D.; Hutcheson, R.; Henschied, K.; Neal, R.; Cheng, F.; *Microchem. J.* **2003**, *74*, 19.
- Jiang, H.; Adams, C. A.; Koffsky, W.; *J. Chromatogr., A* **2005**, *1064*, 219.
- Collins, C. H.; *Princípios básicos de cromatografia*, Ed. Unicamp: Campinas, 1990.
- Paterson, B.; Cowie, C. E.; Jackson, P. E.; *J. Chromatogr., A* **1996**, *731*, 95.
- Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; *Fundamental of Analytical Chemistry*, 5th., Saunders Golden Sunburst Series: Philadelphia, 1998.
- Hance, R. J.; *Pestic. Sci.* **1970**, *1*, 112.
- Wang, J.; *Analytical Electrochemistry*, VCH Publishers: New York, 1994.
- Vaz, C. M. P.; Crestana, S.; Machado, S. A. S.; Mazo, L. H.; Massaropi, M. R. C.; Avaca, L. A.; *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente* **1996**, *6*, 55.
- Codognoto, L.; Zuin, V. G.; De Souza, D.; Yariwake, J. H.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A.; *Microchem. J.* **2004**, *77*, 177.
- Ripp, E. B.; Zuman, P.; *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 2016.
- Massaropi, M. R. C.; Machado, S. A. S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 113.
- Tsai, Y. C.; Coles, B. A.; Houte, K.; Foord, J. S.; Marken, F.; Compton, R. G.; *Electroanalysis* **2001**, *13*, 831.
- Oskan, S. A.; Uslu, B.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, *372*, 582.
- Yilmaz, S.; Uslu, B.; Oskan, S. A.; *Talanta* **2001**, *54*, 351.
- De Souza, D.; Codognoto, L.; Malagutti, A. R.; Toledo, R. A.; Pedrosa, V. A.; Oliveira, R. T. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 790.
- Smulders, C. J. G. M.; Bueters, T. J. H.; Van Kleef, R. G. D. M.; Vijverberg, H. P. M.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2003**, *193*, 139.
- Wang, J.; *Stripping Analysis: Principles, Instrumentation and Applications*, VCH Publishers: Deerfield Beach, 1985.
- Dahmen, E. A. M. F.; *Electroanalysis (Theory and applications in aqueous and non-aqueous media in automated chemical control)*, Elsevier: Amsterdam, 1986.
- Zuman, P.; *Microchem. J.* **1997**, *57*, 4.
- Baird, C.; *Environmental Chemistry*, 2nd., Freeman: Houndmills, 2000.
- Osteryong, J. Em *Microelectrodes: Theory and Applications*; Montenegro, M. I.; Queirós, M. A.; Dasbach, J. L., eds.; Applied Sciences: Canadá, 1991.
- Wightman, R. M.; Wipf, D. O. Em *Electroanalytical Chemistry (a series of advances)*; Bard, A. J., ed.; Marcel Dekker: New York, 1984, vol. 14.
- De Souza, D.; Machado, S. A. S.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *546*, 85.
- De La Huebra, M. J.; Hernández, P.; Nieto, O.; Ballesteros, Y.; Hernández, L.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, *367*, 474.
- Zoski, C. G.; *Electroanalysis* **2002**, *14*, 1041.
- Fung, Y. S.; Mak, J. L. L.; *Electrochim. Acta* **1999**, *44*, 3855.
- Zen, J. M.; Chen, I. L.; Shih, Y.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *369*, 103.
- Montgomery, A. L.; Schwarzkopf, S. R.; Ragsdale S. R.; Oleinikov, A. V.; *Biosens. Bioelectron.* **2004**, *20*, 736.
- Murray, R. W. Em ref. 32, vol. 13.
- Pereira, A. C.; Santos, A. S.; Kubota, L. T.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 1012.
- Solnà, R.; Sapelnikova, S.; Skládál, P.; Winther-Nielsen, M.; Carlson, C.; Améus, J.; Ruzgas, T.; *Talanta* **2005**, *65*, 349.
- Trojanowicz, M.; Hitchman, M.; *Trends Anal. Chem.* **1996**, *15*, 38.
- Guliy, O. I.; Ignatov, O. V.; Makarov, O. E.; Ignatov, V. V.; *Biosens. Bioelectron.* **2003**, *18*, 1005.
- Tadeu, J. L.; Sánchez-Brunet, C.; Pérez, R. A.; Fernández, M. D.; *J. Chromatogr., A* **2000**, *882*, 175.
- Garrido, E. M.; Delerue-Matos, C.; Lima, J. L. F. C.; Brett, A. M. O.; *Anal. Lett.* **2004**, *37*, 1755.
- Cabral, M. F.; De Souza, D.; Alves, C. R.; Machado, S. A. S.; *Eclat. Quim.* **2003**, *28*, 41.
- Pacáková, V.; Jiskra, J.; *J. Chromatogr., A* **1996**, *754*, 17.
- Caetano, J.; Homem-de-Melo, P.; da Silva, A. B. F.; Ferreira, A. G.; Avaca, L. A.; *J. Am. Chem. Soc.*, submetido.
- Anh, T. M.; Dzyadevych, S. V.; Van, M. C.; Renault, N. J.; Duc, C. N.; Chovelon, J. M.; *Talanta* **2004**, *63*, 365.
- Grennan, K.; Strachan, G.; Porter, A. J.; Killard, A. J.; Smyth, M. R.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, *500*, 287.
- Vaz, C. M. P.; Crestana, S.; Machado, S. A. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; *Electroanalysis* **1997**, *9*, 956.
- Pedrero, M.; Galvez, R.; Rodriguez, E.; Manuel de Villena, F. J.; Pingarrón, J. M.; *Talanta* **2001**, *53*, 991.
- Yulaev, M. F.; Sitdikov, R. A.; Dmitrieva, N. M.; Yazynina, E. V.; Zherdev, A. V.; Dzantiev, B. B.; *Sens. Actuators, B* **2001**, *75*, 129.
- Sreedhar, N. Y.; Reddy, P. R. K.; Reddy, G. V. S.; Reddy, S. J.; *Talanta* **1997**, *44*, 1859.
- De Souza, D.; Machado, S. A. S.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 1720.
- Schulze, H.; Scherbaum, E.; Anastassiades, M.; Vorlova, S.; Schmid, R. D.; Bachmann, T. T.; *Biosens. Bioelectron.* **2002**, *17*, 1095.
- Cho, Y. A.; Seok, J.; Lee, H. S.; Kim, Y. J.; Park, Y. C.; Lee, Y. T.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *522*, 215.
- Albareda-Sirvent, M.; Merkoçi, A.; Alegret, S.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *442*, 35.
- Poganik, L.; Franke, M.; *Biosens. Bioelectron.* **1999**, *14*, 569.
- Kolosova, A. Y.; Park, J. H.; Eremin, S. A.; Park, S. J.; Kang, S. J.; Shim, W. B.; Lee, H. S.; Lee, Y. T.; Chung, D. H.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *511*, 323.
- Hegedüs, G.; Béla, I.; Székács, A.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, *421*, 121.
- Calvo-Marzal, P.; Rosatto, S. S.; Granjeiro, P. A.; Aoyama, H.; Kubota, L. T.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *441*, 207.
- Revejo, A. J.; González, A.; Pingarrón, J. M.; Pólo, L. M.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *264*, 141.
- Walcarius, A.; Lambert, L.; *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *406*, 59.
- Hatrick, S.; Tekel, J.; *J. Chromatogr., A* **1996**, *733*, 217.
- Midio, A. F.; Martins, D. I.; *Herbicidas em alimentos*, Livraria Varela: São Paulo, 1997.
- Olek, M.; Blanchard, F.; Sudraud, G.; *J. Chromatogr., A* **1985**, *325*, 239.
- Samatha, K.; Sreedhar, N. Y.; *Talanta* **1999**, *49*, 53.
- Agui, L.; Pena, L.; Pedrero, M.; Yanes-Sedeno, P.; Pingarrón, J. M.; *Electroanalysis* **2002**, *14*, 486.
- Jin, S.; Xu, Z.; Chen, J.; Liang, X.; Wu, Y.; Qian, X.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *523*, 117.
- La Rosa, C.; Pariente, F.; Hernández, L.; Lorenzo, E.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 129.
- Nunes, G. S.; Skládál, P.; Yamanaka, H.; Barceló, D.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *362*, 59.

73. Esteve-Turrillas, F. A.; Aman, C. S.; Pastor, A.; De la Guardiã, M.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *522*, 73.
74. Sorensen, S. R.; Bending, G. D.; Jacobsen, C. S.; Walker, A. J.; *Microbiol. Ecol.* **2003**, *45*, 1.
75. Pulido-Tofiño, P.; Barrero-Moreno, J. M.; Pérez-Conde, M. C.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *429*, 337.
76. Pulido-Tofiño, P.; Barrero-Moreno, J. M.; Pérez-Conde, M. C.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, *417*, 85.
77. Hipólito-Moreno, A.; Leon-Gonzalez, M. E.; Perez-Ambas, L. V.; Polo-Díez, L. M.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *362*, 187.
78. Pedrero, M.; Villena, F. J. M.; Pingarrón, J. M.; Polo, L. M.; *Electroanalysis* **1991**, *3*, 419.
79. Pedrero, M.; Casado, B.; Villena, F. J. M.; Pingarrón, J. M.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1994**, *349*, 546.
80. Fernández, C.; Reviejo, A. J.; Pingarrón, J. M.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *305*, 192.
81. Corbine, G.; Biond, C.; Proietti, D.; Dreassi, E.; Corti, P.; *Analyst* **1993**, *118*, 183.
82. Kim, Y. J.; Cho, Y. A.; Lee, H. S.; Lee, Y. T.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, *494*, 29.
83. Queffelec, A. L.; Boide, F.; Larue, J. P.; Haelters, J. P.; Corbel, B.; Thouvenot, D.; Nodet, P.; *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 1675.
84. Franck, M.; Kolá, V.; Eremim, S. A.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *311*, 349.
85. Turiel, B.; Fernandez, P.; Perez-Conde, C.; Gutierrez, A. M.; Câmara, C.; *Talanta* **1998**, *47*, 1255.
86. Del Carlo, M.; Mascini, M.; Pepe, A.; Diletti, G.; Compagnone, D.; *Food Chem.* **2004**, *84*, 651.
87. Abad, A.; Moreno, M. J.; Montoya, A.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *347*, 103.
88. Poganik, L.; Franke, M.; *Biosens. Bioelectron.* **2003**, *18*, 1.
89. Nunes, G. S.; Barceló, D.; Grabaric, B. S.; Díaz-Cruz, J. M.; Ribeiro, M. L.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *399*, 37.
90. Nunes, G. S.; Marco, M. P.; Ribeiro, M. L.; Barceló, D.; *J. Chromatogr. A* **1998**, *823*, 109.
91. Chuang, J. C.; Harta, K.; Chang, J. S.; Boman, L. E.; van Emon, J. M.; Reed, A. W.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *444*, 87.
92. Chuang, J. C.; Pollard, M. A.; Misita, M.; van Emon, J. M.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *399*, 135.
93. Palchetti, I.; Cagninia, A.; Del Carlo, M.; Coppi, C.; Mascini, M.; Tumerb, A. P. F.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *337*, 31.
94. Kolosova, A. Y.; Park, J. H.; Eremin, S. A.; Park, S. J.; Kang, S. J.; Shim, W. B.; Lee, H. S.; Lee, Y. T.; Chung, D. H.; Mercader, J. V.; Montoya, A.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *347*, 95.
95. Fatouros, N.; Simonin, J. P.; Chevalet, J.; *J. Electroanal. Chem.* **1986**, *213*, 1.
96. Ugo, P.; Moretto, L. M.; Rudello, D.; Birriel, E.; Chevalet, J.; *Electroanalysis* **2001**, *13*, 661.
97. Krulic, D.; Fatourus, N.; Chevalet, J.; *J. Electroanal. Chem.* **1990**, *287*, 215.
98. De Souza, D.; Pires, R. C.; Machado, S. A. S.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido.
99. Mann, T. L.; Krull, U. J.; *Biosens. Bioelectron.* **2004**, *20*, 945.
100. Meric, B.; Kerman, K.; Ozkan, D.; Kara, P.; Erensoy, S.; Akarca, U. S.; Mascini, M.; Osos, M.; *Talanta* **2002**, *56*, 837.
101. Wang, J.; Rivas, G.; Cai, X.; Palecek, E.; Nielsen, P.; Shiraish, H.; Dontha, N.; Luo, D.; Parrado, C.; Chicharro, M.; Farias, P. A. M.; Valera, E. S.; Grant, D. H.; Ozsoz, M.; Flair, M. N.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *347*, 1.
102. Kerman, K.; Meric, B.; Ozkan, D.; Kara, P.; Erdem, A.; Ozsoz, M.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *450*, 45.
103. Rauf, S.; Gooding, J. J.; Ghauri, M. A.; Rahman, M.; Anwar, M. A.; Khalid, A. M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *37*, 205.