

## Utilização do eletrodo compósito a base de grafite-poliuretana para a análise do fitormônio ácido indolil-3 acético em amostras de solo tratadas com adubo orgânico

Renata Alves de Toledo<sup>1</sup>, Paulo Roberto Vieira da Silva Junior<sup>1</sup> e Carlos Manoel Pedro Vaz<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária - CNPDIA, São Carlos - SP - Brasil.

**RESUMO:** Este trabalho tem por objetivo avaliar a utilização do eletrodo compósito a base de grafite-poliuretana para a determinação do hormônio vegetal AIA em solos aplicando a técnica de voltametria de onda quadrada. Após a otimização dos parâmetros experimentais (pH 1,6,  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}^{-1}$  e  $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ ), curvas analíticas foram construídas no intervalo de  $1,3 \times 10^{-6}$  a  $94,7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Os limites de detecção e de quantificação foram iguais a  $1,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  ( $26 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e  $1,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  ( $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ). A precisão da metodologia foi avaliada em um dia de experimento (repetibilidade,  $RSD=3,3\%$ ) e em dias diferentes (precisão intermediária,  $RSD=3,5\%$ ). A exatidão foi checada por meio de experimentos de recuperação no próprio eletrólito de trabalho e também em amostras de solo fortificadas com o padrão analítico.

**Palavras-Chaves:** ácido indolil-3 acético, eletrodo compósito, voltametria de onda quadrada, solo.

### INTRODUÇÃO

Os fitormônios são substâncias orgânicas que desempenham uma importante função na regulação do crescimento dos vegetais. Em geral, os fitormônios caracterizam-se por atuarem ou não diretamente sobre os tecidos e os órgãos que os produzem, são ativos em quantidades muito pequenas e produzem respostas fisiológicas específicas (floração, crescimento, amadurecimento de frutos, etc).

O ácido indolil-3 acético (AIA), cuja estrutura é mostrada na Figura 1, é um fitormônio pertencente à classe das auxinas e é caracterizado por provocar o alongamento nas células dos brotos das plantas. O AIA é produzido no caule, nas folhas jovens e nas sementes a partir do aminoácido triptofano por meio de reações de transaminação e de descarboxilação.

Alguns trabalhos na literatura abordam o desenvolvimento de novos sensores para a determinação do AIA em tecidos vegetais, empregando eletrodos de pasta de carbono modificados com silicone OV-17 [1] e também eletrodos de carbono vítreo modificados com filmes de nanotubos de carbono [2]. No entanto, é desconhecido o desenvolvimento de sensores eletroquímicos para a determinação do AIA em amostras de solo, uma vez que os microorganismos presentes nesta matriz também podem sintetizar este fitormônio a partir do catabolismo do triptofano [3].

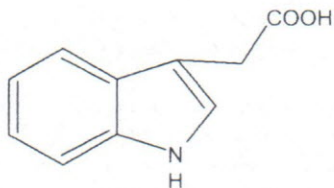


Figura 1: Estrutura do AIA

A utilização indiscriminada de fertilizantes e de pesticidas, com o objetivo de aumentar a produtividade agrícola, produz, ao longo dos anos, efeitos deletérios no meio ambiente. Assim, as práticas naturais de se cultivar o solo por meio de adubação orgânica proveniente de esterco de origem animal, de resíduos vegetais, de lodo de esgoto e de lixo doméstico, ganham cada vez mais espaço na agricultura. O adubo orgânico, gerado a partir de fossas sépticas biodigestoras desenvolvidas pela Embrapa Instrumentação Agropecuária, é rico em nutrientes e isento de germes patogênicos. Este adubo pode ser utilizado em substituição à adubação mineral convencional, promovendo efeitos benéficos para o desenvolvimento da planta, como a melhor estruturação do solo, a maior capacidade de retenção de água e a intensificação da atividade biológica do solo.

O objetivo deste trabalho é o de se utilizar o eletrodo de grafite-poliuretana (GPU) e a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV) para analisar o fitormônio AIA em amostras de solo tratadas com o adubo orgânico para posterior avaliação da atividade microbiana presente nesta matriz.

### PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (Sigma) e foram usados sem purificação prévia. As soluções foram preparadas utilizando água purificada em sistema Milli-Q da Millipore<sup>®</sup>. A solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada a partir do ácido fosfórico e do sal monohidrogeno fosfato



dissódico. A solução estoque de AIA ( $2,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi preparada em etanol e conservada sob a proteção da luz. As medidas voltamétricas foram realizadas em um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT<sup>®</sup>, em uma célula convencional de vidro Pyrex<sup>®</sup>, com tampa em Teflon<sup>®</sup> para o posicionamento dos eletrodos de trabalho (eletrodo compósito grafite(60%)/poliuretana ( $\phi = 3,0 \text{ mm}$ )), de referência (eletrodo de calomelano saturado) e auxiliar (fio de platina de  $1,0 \text{ cm}^2$  de área). O eletrodo compósito foi preparado de acordo com a metodologia proposta por Mendes e colaboradores [4].

As amostras de solo (Latossolo Vermelho Amarelo, contendo 83% de areia, 9,5% de argila e 7,5% de silte), tratadas com adubo orgânico proveniente de fossa séptica biodigestora, foram coletadas na Fazenda Santa Cândida, São Carlos, SP, a uma profundidade de 40 a 60 cm. Para a construção das curvas analíticas e para a realização dos testes de recuperação do AIA, foram adicionados 20 mL de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) em 3,0 gramas do solo seco e peneirado. A mistura foi então fertilizada com uma solução padrão de AIA  $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , agitada por 30 minutos e centrifugada por 10 minutos a 3000 rpm. O pH do sobrenadante foi ajustado para 1,6 com ácido fosfórico e analisado pela metodologia GPU/SWV.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O AIA exibe um único pico de oxidação em 960 mV vs.  $E_{SCE}$  (pH 1,6) com características de processo irreversível controlado pela adsorção de produtos de reação na superfície do eletrodo, ocorrendo a perda de 2 elétrons e 1 próton por molécula de AIA oxidada. Segundo a literatura, após a transferência eletrônica, há a perda do grupo carboxila e o radical cátion formado, em uma etapa química posterior, reage com outra molécula de AIA em solução para formar um dímero por meio de um mecanismo do tipo EC [5]. O dímero, por sua vez, é reduzido em em aproximadamente 360 mV vs.  $E_{SCE}$ .

O desenvolvimento da metodologia analítica para a determinação do AIA consistiu em utilizar o eletrodo de GPU e a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV). A primeira etapa do estudo abordou a otimização da concentração hidrogeniônica do meio (pH 1,6) e também dos parâmetros da SWV (frequência =  $100 \text{ s}^{-1}$ , amplitude = 50 mV e incremento de varredura = 5 mV) que resultassem em maior sensibilidade analítica. Com base na otimização destas variáveis, alguns parâmetros que caracterizam a reação de oxidação do AIA puderam ser extraídos. A irreversibilidade da reação de oxidação foi confirmada pela linearidade da corrente de pico com a raiz quadrada da frequência ( $R = 0,9953$ ). O valor de  $n\alpha$  (1,7) foi calculado por meio do coeficiente angular do gráfico  $E_p$  vs.  $\log(f)$ . Como a relação do número de elétrons e prótons foi obtida pelo coeficiente angular do gráfico de  $E_p$  vs. pH (21,8 mV/pH, o que equivale a perda de 2 elétrons e 1 próton), o valor de  $\alpha$  (coeficiente de transferência de carga) pôde ser calculado como sendo igual a 0,9.

Com as condições otimizadas, curvas analíticas foram construídas no intervalo de  $1,3 \times 10^{-6}$  a  $94,7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  pelo método da adição de padrão. A equação da reta para a curva analítica é dada por  $I_p (\mu\text{A}) = 7,6 \times 10^{-7} + 0,3 \times C_{AIA}$ , com o coeficiente de correlação igual a 0,9994. Para avaliar a sensibilidade da metodologia analítica, o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados da seguinte forma: o LD ( $1,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  ou  $26 \mu\text{g L}^{-1}$ ) foi calculado de acordo com a equação  $3\sigma/\theta$ , onde  $\sigma$  refere-se ao desvio padrão da média dos brancos ( $n = 10$ ) e  $\theta$  ao coeficiente angular da curva analítica; estabeleceu-se o LQ como o primeiro ponto da curva analítica ( $1,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  ou  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ). A precisão (repetibilidade e precisão intermediária) e a exatidão (testes de recuperação, bias%) da metodologia foram avaliadas em dois níveis de concentração:  $2,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e  $65,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Na Tabela 1, resumem-se os parâmetros característicos da metodologia GPU/SWV para a análise de AIA.

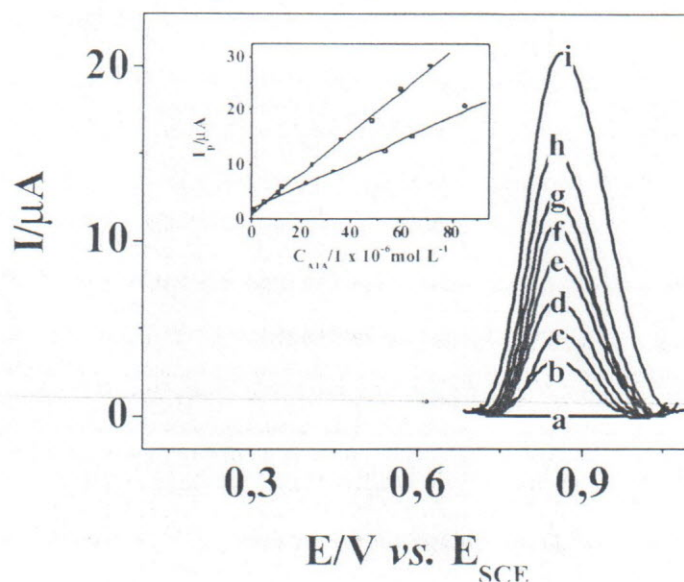
**Tabela 1:** Parâmetros característicos da metodologia GPU/SWV

Parâmetros	$2,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$65,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Repetibilidade	3,3%	2,6%
Precisão intermediária	3,5%	3,1%
Recuperação	$98,3\% \pm 2,8\%$	$101,7\% \pm 3,1\%$
Bias	-1,6%	1,7%

Os resultados obtidos no eletrólito de suporte foram bastante satisfatórios para a análise de AIA, o que justificou o emprego da metodologia para a análise do hormônio em amostras de solo fortificadas com o padrão analítico com o objetivo de se avaliar a sensibilidade e a seletividade da metodologia nesta matriz. Na Figura 2 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada variando-se a concentração de AIA em solução de solo no intervalo de  $5,5 \times 10^{-6}$  a  $85,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e a curva analítica inserida ( $R = 0,9964$ ). Como pode ser observado, houve um decréscimo da sensibilidade analítica da metodologia quando aplicada na amostra de solo ( $0,2 \text{ Amol}^{-1}\text{L}$ ) em comparação à desenvolvida no eletrólito de suporte ( $0,3 \text{ Amol}^{-1}\text{L}$ ). Este decréscimo pode estar relacionado com a adsorção de matéria orgânica na superfície do eletrodo, uma vez que a adubação com o



efluente da fossa biodigestora intensifica o teor de matéria orgânica no solo. Experimentos de recuperação também foram realizados ( $105,8 \pm 3,1\%$ ) e, com base nestes resultados, sugere-se que o AIA pode ser determinado em amostras de solo pela emprego da metodologia desenvolvida.



**Figura 2:** Voltamogramas de onda quadrada variando-se a concentração de AIA adicionada. Concentrações: (a) branco, (b) 5,5, (c) 11,1, (d) 21,9, (e) 32,8, (f) 43,5, (g) 54,1, (h) 64,5 e (i)  $85,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ .  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $\alpha = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$ . Inserido: curvas analíticas: (■) Eletrólito de suporte ( $R = 0,9994$ ); (○) Solução de solo  $R = 0,9964$ ).

## CONCLUSÕES

A metodologia desenvolvida é rápida, reprodutível e exata para a análise do hormônio vegetal AIA em amostras de solo fortificadas com o padrão analítico. Experimentos controlados estão em andamento para avaliar a possibilidade de se gerar o hormônio vegetal no solo por meio dos microrganismos, visto que a adição de adubo orgânico promove a intensificação da atividade biológica do solo.

**AGRADECIMENTOS:** CNPq (Processo n° 151810/2005-2) e FAPESP (projeto n° 03/07810-6).

## REFERÊNCIAS

- [1] HERNANDEZ P., GALAN F., NIETO O. and HERNÁNDEZ L., "Direct determination of indole-3-acetic acid in plant tissues by electroanalytical techniques using a carbon modified with OV-17 electrode", *Electroanalysis* 6:577-583, 1994.
- [2] WU K., SUN Y. and YU S., "Development of an amperometric indole-3-acetic acid sensor based on carbon nanotubes film coated glassy carbon electrode", *Sensor Actuators B* 96:658-662, 2003.
- [3] LEBUHN M. and HARTMANN A., "Method for the determination of indole-3-acetic acid and related compounds of L-tryptophan catabolism in soils", *J. Chromatogr.* 629:255-266, 1993.
- [4] MENDES R.K., CLARO NETO S. and CAVALHEIRO E.T.G., "Evaluation of a new rigid carbon-castor oil polyurethane composite as an electrode material", *Talanta* 257:909-917, 2002.
- [5] HU T. and DRYHURST G., "Electrochemical oxidation of indole-3-acetic acid: mechanisms and products formed in acid medium", *J. Electroanal. Chem.* 362:237-248, 1993.