



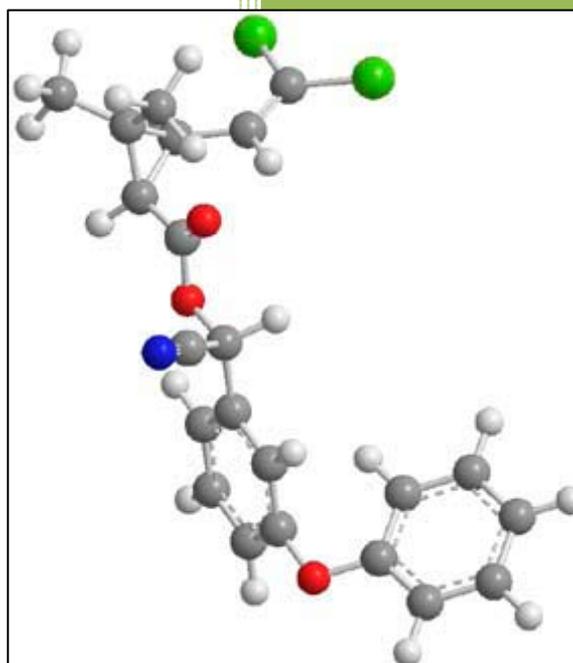
UNIVERSIDAD DE BURGOS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

## TRABAJO FIN DE GRADO

# Desarrollo de un sensor electroquímico para la determinación de cipermetrina



**Autora:** Beatriz Lozano Ortega  
**Tutoras del trabajo:** M. Julia Arcos Martínez  
Olga Domínguez Renedo

## ÍNDICE

I.- INTRODUCCIÓN .....	3
II.- FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	4
II.I.- Cypermethrin .....	4
II.II.- Analytical determination of cypermethrin .....	5
III.- PARTE EXPERIMENTAL.....	8
III.I.- Reactivos.....	8
III.II.- Aparatos y software .....	8
III.III.- Procedimiento experimental .....	8
IV.- RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIÓN.....	10
IV.I.- Selección del tiempo de acumulación .....	10
IV.II.- Diseño de experimentos y optimización de variables experimentales.	11
IV.III.- Calibrado y límite de detección .....	13
IV.IV.- Análisis de cipermetrina en el insecticida Acaritrón .....	15
V.- CONCLUSIONES .....	16
VI.- BIBLIOGRAFÍA.....	17

## I.- INTRODUCCIÓN

La cipermetrina es considerada como uno de los insecticidas de uso más extendido presentando aplicación en numerosos campos tanto agrícolas como domésticos. Se trata de un compuesto altamente tóxico sobre todo para la vida acuática.

Tradicionalmente el análisis de cipermetrina se ha llevado a cabo principalmente mediante técnicas cromatográficas, sin embargo, las técnicas electroquímicas suponen actualmente una clara alternativa a considerar en el análisis de diversos compuestos a nivel de trazas. Efectivamente unido a sus claras ventajas en cuanto a coste de instrumentación, es bien conocida la alta sensibilidad que se puede alcanzar con técnicas como la voltamperometría de redisolución adsorbtiva.

Las técnicas electroquímicas empleadas en la determinación de cipermetrina se han basado en el empleo de electrodos de mercurio y, de electrodos de carbono modificados. La toxicidad de los primeros y, el requerimiento de tediosos y largos procesos de modificación de los segundos, muestra la necesidad de desarrollar métodos sensibles y sencillos para la determinación de cipermetrina de un modo respetuoso con el medio ambiente.

El objetivo de este trabajo ha sido la puesta a punto de un método sencillo y sensible y selectivo para la determinación de cipermetrina mediante voltamperometría diferencial de impulsos de redisolución adsorbtiva, empleando un electrodo de carbono vitrificado como electrodo de trabajo.

Por otra parte, el considerable número de variables que pueden afectar a la respuesta en las técnicas de redisolución implica que la simple disponibilidad de la técnica no es suficiente para garantizar la calidad de los resultados analíticos aunque ésta sea capaz de alcanzar una gran sensibilidad. Por este motivo, una parte importante de este trabajo se ha destinado a la optimización de las variables influyentes, con el fin de obtener señales de gran calidad analítica que permitan la determinación de cipermetrina en bajas concentraciones.

La puesta a punto de un nuevo método analítico siendo importante en sí misma, perdería parte de su interés si no demostrara su viabilidad en la resolución de algún problema real. Por esta razón, el método de análisis propuesto se ha aplicado a la determinación de cipermetrina en el insecticida comercial acaritrón.

## II.- FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### II.I.- Cypermethrin

Pyrethroids have been recognized as the fourth major class of synthetic organic insecticides since the commercial production of the first photostable pyrethroid in 1976. This group of agrochemicals has achieved world-wide use with widespread agricultural and domestic applications. Among this kind of insecticides, cypermethrin, the alpha-cyano-3-phenoxybenzyl ester of 2,2-dimethyl-3-(2,2-dichlorovinyl)-cyclopropane-carboxylic acid, is one of the most widely used [1-2]. It is part of a new generation of pesticides with high insecticidal activity and photostability, which its use has been increased notably in the last decades [1].

As can be seen in figure 1, cypermethrin has a chemical complex structure based on pyrethrin, a insecticidal compound found in chrysanthemum flowers [3].

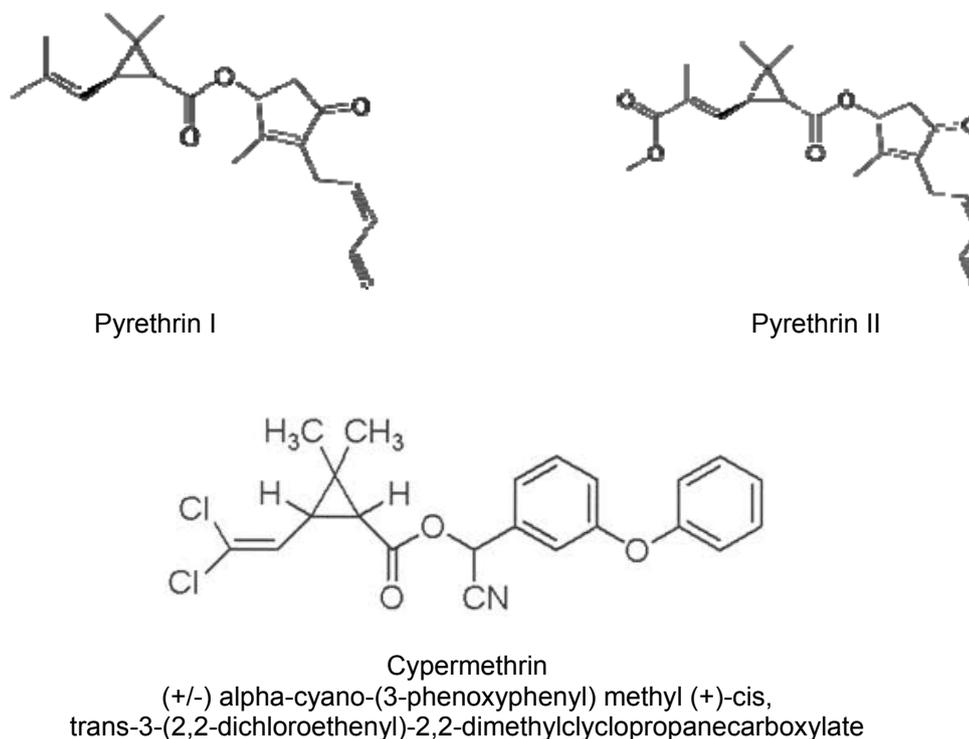


Figure 1: *Cypermethrin and related naturally-occurring insecticidal chemicals.*

Cypermethrin presents a high insecticidal activity, low avian and mammalian toxicity and, an adequate stability in air [4]. The first time it was synthesized was in 1974 and the first time it was marketed was in 1977 as a highly active synthetic pyrethroid insecticide that attacks a wide range of agricultural pests, public health and animal husbandry. In agriculture, its main use is against pests of foliage and some pests of the soil surface, such as cutworms, but due to their physical and

chemical properties is not recommended against pests born beneath the surface soil.

In 1980, the 92.5% of the cypermethrin produced in the world was used in cotton; in 1982, the world production was 340 tons of active material. It is used primarily in the form of a concentrate that can emulsify, but also concentrates are available ultra-low volume, wettable powders and combined formulations with other pesticides.

In vertebrates and invertebrates, cypermethrin acts mainly on the nervous system, being both a stomach poison and a contact insecticide [5]. Its toxic action consists of inducing visibly repetitive activity and producing trains of nerve impulses as a result of altering ion permeability of nerve membranes, causing sodium channels to stay open much longer than normal [6,7].

Cypermethrin has been also shown to inhibit ATPase enzymes involved in movement of ions against a concentration gradient which are regulated by active transport. This action is especially critical to fish and aquatic insects where ATPase enzymes provide the energy necessary to active transport, and are very important at sites of oxygen exchange. ATPase inhibition and disruption of active transport, possibly affect ion movement and the ability to maintain ion balance, and disrupt respiratory surfaces, indicating that cypermethrin is inherently extremely toxic to aquatic organisms [8].

Symptoms of poisoning include abnormal facial sensations, dizziness, headache, nausea, anorexia and fatigue, vomiting and increased stomach secretion. Moreover, cypermethrin is a skin and eye irritant. Normally, these symptoms should disappear after some days. However, severely exposed patients additionally may suffer from muscular twitching and convulsive attacks. In such cases, symptoms may persist for some weeks.

The high level of toxicity of cypermethrin and the widely extend of its uses had lead to the development of multiple methods for its analysis.

## **II.II.- Analytical determination of cypermethrin**

A wide number of analytical methods, based on the most commonly employed physico-chemical techniques such as high performance liquid chromatography, gas chromatography and mass spectrometry are available to detect and determine cypermethrin quantitatively in different matrices, such as soil, livers samples of birds and agro and water samples [9-10]. But none of the above reported techniques results effective to monitor levels of cypermethrin in risk areas continuously [1]. In fact, these techniques often require tedious pretreatment steps of the sample and very expensive equipment.

Electroanalytical techniques provide an interesting alternative to the above cited methods. Together with the recognized advantage of the relatively low cost of

electrochemical instrumentation one should bear in mind the high sensitivity of some of these methods such as stripping voltammetry. In this way, several electrochemical methods have been developed for the determination of cypermethrin including differential pulse voltammetry (DPV) using a hanging mercury drop electrode (HMDE) [1] and different modified glassy carbon electrodes [9-11].

The determination of cypermethrin using electrochemical techniques is based on the reduction of 3-phenoxybenzaldehyde to 3-phenoxybenzyl alcohol at the electrodes surface. This reduction takes place at a potential around -1.45 V in alkaline medium according to the following scheme shown at figure 2 [1].

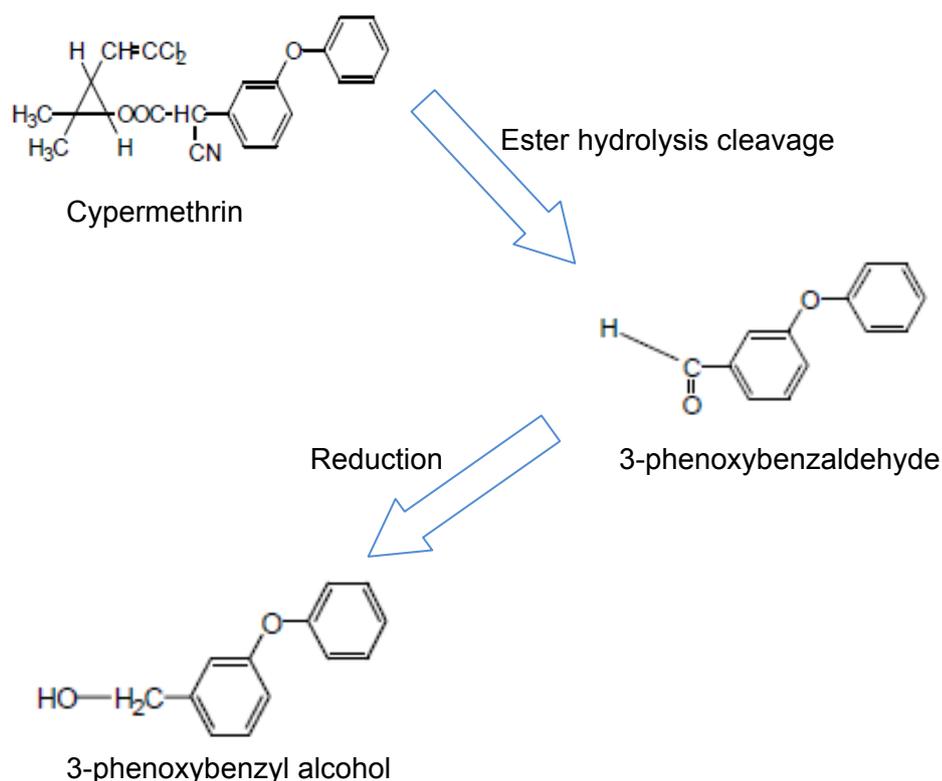


Figure 2. Reduction of cypermethrin in alkaline medium.

The analysis of cypermethrin by means of DPV using a HMDE provided good results related to sensibility and reproducibility. However, this method carries an environmental hazard associated with mercury toxicity.

The works described for the determination of cypermethrin using glassy carbon electrodes are based on a previous modification of the electrode surface. This modification can be carried out either by multiwalled carbon nanotubes on which polyaniline or polypyrrole can be deposited or by a polymer like poly 3,4-ethylenedioxythiophene. This kind of modifications implies tedious steps which increase the complexity of the analysis [9-11].

In this work an easier environmental friendly electrochemical method for the determination of cypermethrin is proposed. The method is based on the analysis of this insecticide by means of differential pulse adsorptive stripping voltammetry (DPAdSV) using an unmodified glassy carbon electrode. 7

## III.- PARTE EXPERIMENTAL

### III.I.- Reactivos

Los reactivos empleados han sido de calidad “p.a.” sin posterior purificación. Todas las disoluciones se prepararon con agua desionizada Millipore-Q.

Como electrolito soporte se empleó una mezcla 1:1 de una disolución 0.1M de KCl preparada disolviendo la cantidad adecuada de KCl (Merck, Darmstadt, Alemania) en agua desionizada y etanol (Panreac, Barcelona, España). Para la modificación del pH de la disolución de KCl se empleó NaOH 1 M (Merck, Darmstadt, Alemania).

Las disoluciones de cipermetrina se prepararon a partir de cipermetrina (Fluka, Steinheim, Alemania) disuelta en etanol (Panreac, Barcelona, España).

### III.II.- Aparatos y software

Las medidas voltamperométricas se han realizado empleando un  $\mu$ Autolab type III (EcoChemie, Utrecht, Holanda).

Como electrodo de trabajo fue empleado un electrodo de carbono vitrificado (glassy carbon). El sistema de electrodos se completó con un electrodo de referencia Ag, AgCl / KCl 3M y un electrodo de platino como contraelectrodo. La adquisición de datos se realizó utilizando el programa General Purpose Electrochemical System (GPES).

La medida del pH se efectuó empleando un pH-metro Crison Model 2002 (Barcelona, España).

Para el tratamiento de los datos se utilizó el programa STATGRAPHICS PLUS [12] para el diseño de experimentos, PROGRESS [13] para realizar la regresión robusta de los datos y detección de datos anómalos; y DETARCHI [14] para el cálculo de la capacidad de detección.

### III.III.- Procedimiento experimental

La técnica empleada ha sido la voltamperometría diferencial de impulsos con redisolución absorbiva (DPAdSV). El electrolito soporte empleado fue una mezcla 1:1 de disolución de KCl 0.1 M y etanol. Una vez añadidos 5 mL de dicha disolución a la

celda electroquímica, se conecta la agitación y se inicia la acumulación a un tiempo y potencial determinados para cada experiencia. Transcurrido este tiempo, se detiene la agitación y se deja la disolución en reposo durante un tiempo de equilibrio de 5 segundos. A continuación, se registra el voltamperograma realizando un barrido catódico desde -1.25 V hasta -1.75 V.

Antes de llevar a cabo cada una de las medidas voltamperométricas la superficie del electrodo de carbono fue pulida con alúmina durante aproximadamente 60 s. Finalmente, las partículas residuales de alúmina fueron eliminadas con agua destilada.

## IV.- RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIÓN

Las experiencias llevadas a cabo en la realización de este trabajo han demostrado que es posible la determinación de cipermetrina mediante DPAdSV empleando un electrodo de carbono vitrificado como electrodo de trabajo. En la figura 3 puede verse como efectivamente es posible obtener una respuesta voltamperométrica relacionada con la reducción de dicho compuesto a un potencial de -1.45 V.

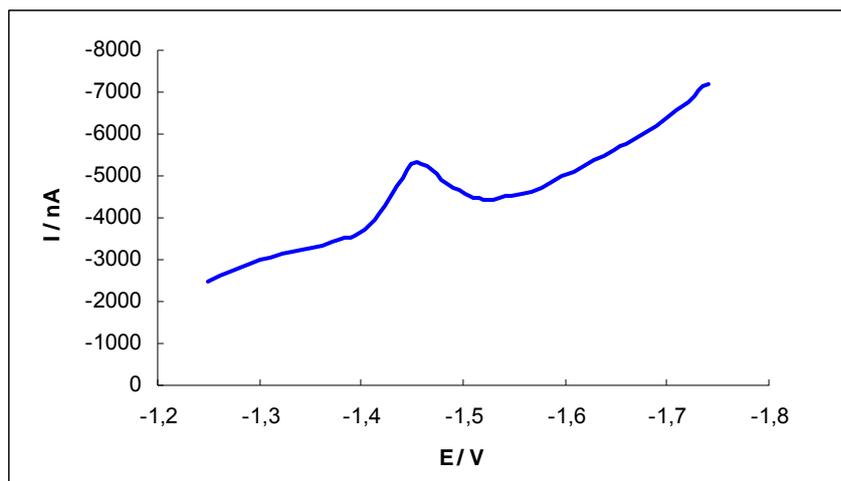


Figura 3. Voltamperograma obtenido mediante DPAdSV para una concentración de permetrina de  $155 \mu\text{M}$  (pH 13), tiempo de acumulación 60 s, potencial de acumulación -0.5V.

La optimización de las variables experimentales en cualquier procedimiento analítico constituye una etapa muy importante en la experimentación y más en técnicas como la DPAdSV que se ve notablemente influenciada por parámetros experimentales como el tiempo y el potencial de acumulación ( $t_{\text{dep}}$ ,  $E_{\text{dep}}$ ) y el pH del medio. Por ello, una parte importante del trabajo experimental ha consistido en la optimización de dichos parámetros experimentales. Las distintas etapas del proceso de optimización se recogen en los siguientes apartados.

### IV.I.- Selección del tiempo de acumulación

La sensibilidad que puede alcanzarse en el análisis de un determinado compuesto mediante DPAdSV depende considerablemente del tiempo de acumulación utilizado. En general, un periodo de deposición elevado conduce a una mayor cantidad de analito disponible en el electrodo para la etapa de redisolución. Aunque, un tiempo de acumulación excesivamente elevado puede ocasionar la saturación del electrodo. La influencia del tiempo de acumulación en la determinación analítica de cipermetrina con electrodos de carbono vitrificado puede verse en la figura 4. Dicha figura recoge las experiencias llevadas a cabo mediante DPAdSV empleando diferentes tiempos de

acumulación. Las medidas voltamperométricas fueron realizadas para una concentración de cipermetrina  $59 \mu\text{M}$ , siendo 13 el valor del pH y  $-1 \text{ V}$  el potencial de acumulación utilizados (figura 4). Estos valores se seleccionaron teniendo en cuenta experiencias previas realizadas por otros autores [1].

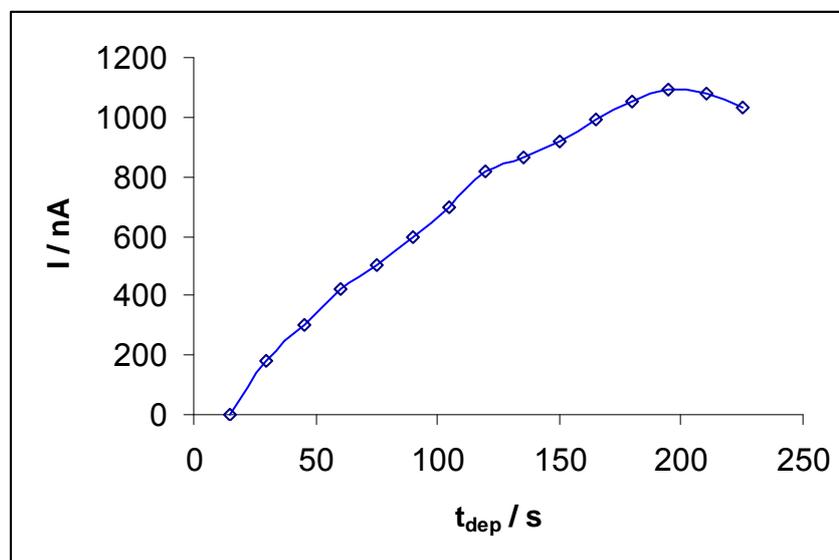


Figura 4. Variación de la intensidad del pico de reducción de la cipermetrina con el tiempo de acumulación.

En la figura 4 puede verse como efectivamente la respuesta voltamperométrica de la cipermetrina aumenta con el tiempo de acumulación hasta que éste alcanza un valor de 195 segundos. Para tiempos de acumulación mayores tiene lugar la saturación del electrodo y la intensidad del pico de reducción medida se mantiene inalterada. Por este motivo, se tomó dicho valor como el más adecuado para la determinación de cipermetrina mediante DPAdSV.

## IV.II.- Diseño de experimentos y optimización de variables experimentales

La optimización del resto de las variables experimentales que influyen en la respuesta voltamperométrica de la cipermetrina, pH y  $E_{\text{dep}}$ , fue realizada mediante la metodología del diseño de experimentos. Concretamente, se llevó a cabo un diseño central compuesto  $2^2$  que constó de 8 experiencias individuales además de las tres réplicas en el punto central. Para la realización de dicho diseño se tomó como variable respuesta el valor de la intensidad del pico de reducción obtenido a un potencial de  $-1.45 \text{ V}$  para una concentración de  $0,24 \text{ mM}$  de cipermetrina. El electrolito soporte elegido fue una mezcla a partes iguales de una disolución de  $\text{KCl } 0.1\text{M}$  y etanol.

El estudio de los efectos de los factores puede hacerse a partir del análisis de la varianza (ANOVA) mostrado en la tabla 1. De su estudio se concluye, que no existe fallo de ajuste ( $P_{\text{ACTUAL}} > 0.05$ ) por lo tanto, los puntos experimentales se ajustan

perfectamente al modelo matemático. Por otra parte, el único factor influyente en la señal analítica es el pH, ya que, el potencial de acumulación (B) y las interacciones en las que éste interviene (AB y BB) no influyen en el valor de la respuesta ( $P_{\text{ACTUAL}} > 0.05$ ).

Tabla 1. ANOVA de los datos obtenidos mediante la metodología de diseño de experimentos. S.C., suma de cuadrados; G.C., grados de libertad; M.C., media de cuadrados;  $F_{\text{exp}}$ ,  $MC_{\text{factor}}/MC_{\text{error}}$ ;  $P_{\text{actual}}$ , nivel de probabilidad; \*Factores significativos a  $\alpha = 0.05$ .

EFFECTOS	S.C.	G.L.	M.C.	F <sub>EXP</sub>	P <sub>ACTUAL</sub>
A: pH	429969	1	429969	267.84	0.0037*
B: E <sub>dep</sub>	1962.8	1	1962.8	1.22	0.3840
AA	94096.7	1	94096.7	58.62	0.0166*
AB	176.89	1	176.89	0.11	0.7715
BB	23413.2	1	23413.2	14.58	0.0622
Fallo de ajuste	45710.3	3	15236.8	9.49	0.0968
Error puro	3210.67	2	1605.33		
Total (corr.)	639889	10			
	$R^2 = 0.923548$		$R^2$ (adj.) = 0.847095		

La figura 5 muestra el diagrama de los efectos de los factores que intervienen en el diseño. Del análisis de dicha figura se deduce que un pH más básico produciría un incremento en el valor de la intensidad. Por ello, se tomó un pH elevado (pH 13) para llevar a cabo la determinación de cipermetrina mediante DPAdSV.

En cuanto al potencial de acumulación, este puede fijarse en -1.0 V ya que, a pesar de no ser un factor influyente, se observa cierta mejoría en la intensidad para dicho valor.

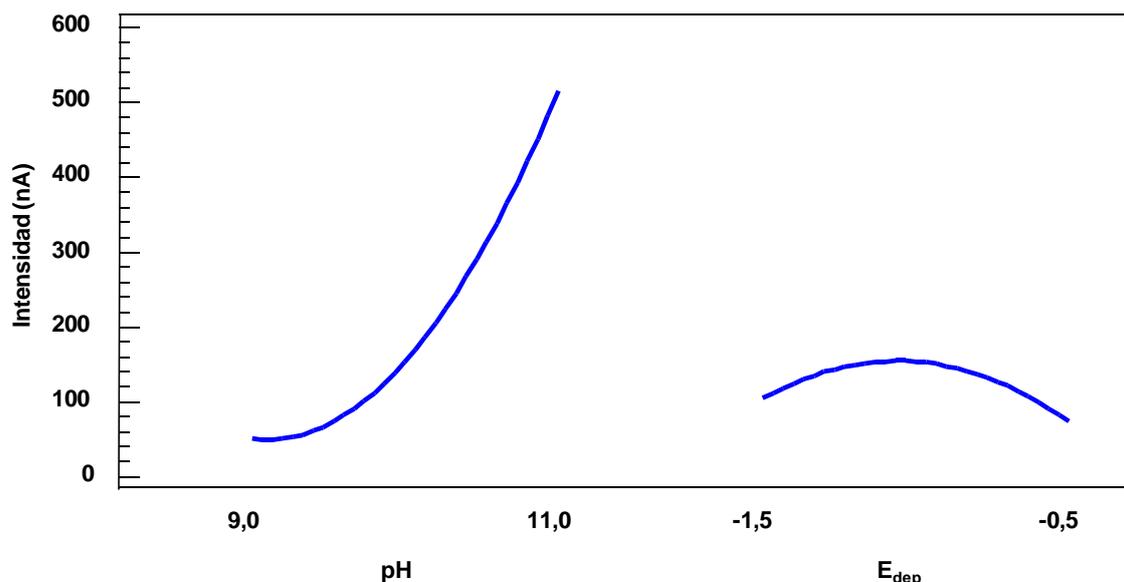


Figura 5. Gráfica de los efectos de pH y  $E_{dep}$  sobre la Intensidad.

Resumiendo, las condiciones experimentales consideradas como óptimas para llevar a cabo la determinación de cipermetrina mediante DPAdSV fueron las siguientes:

$$t_{dep} = 195 \text{ s}$$

$$E_{dep} = -1.0 \text{ V}$$

$$\text{pH} = 13$$

### IV.III.- Calibrado y límite de detección

Con la finalidad de caracterizar un procedimiento analítico y asegurar su calidad es importante establecer su precisión y su capacidad de detección por lo tanto, una vez optimizadas las variables experimentales que influyen en el método de determinación, se procedió al cálculo de dichos parámetros.

En una primera etapa se calculó la precisión del método en términos de repetibilidad. Para ello se construyeron diferentes curvas de calibración. Se eligió un método de regresión robusta, la regresión LMS (mínima mediana de cuadrados), como alternativa a la regresión LS (mínimos cuadrados).

La regresión LMS permite detectar puntos anómalos tanto de carácter "outlier" como "leverage". Son considerados puntos "outlier" aquellos que se encuentran alejados en el eje de ordenadas y puntos "leverage" aquellos alejados en el eje de abscisas, y por tanto pesan mucho en la recta de regresión modificando los parámetros si no son eliminados.

La regresión LMS presenta otra ventaja frente a la regresión de mínimos cuadrados, tiene un “breakdown” del 50%, es decir, puede realizar la regresión y encontrar la relación lineal aunque el 50% de los puntos sean anómalos. 14

Una vez detectados los puntos anómalos, se ha considerado “outlier” el dato cuyo residuo estandarizado es superior, en valor absoluto, a 2.5; eliminados dichos puntos se procede a realizar la regresión LS para disponer de las propiedades inferenciales respecto a la sensibilidad y el término independiente.

Se llevaron a cabo tres calibrados de cipermetrina en las condiciones determinadas en las etapas anteriores en el intervalo de concentraciones de 32.7  $\mu\text{M}$  y 52.6  $\mu\text{M}$ . En todas los casos se hicieron adiciones de una disolución madre de concentración 0.5 mM de cipermetrina.

En la tabla 2 aparecen los parámetros de calibración para cipermetrina realizando diferentes regresiones sobre los calibrados experimentales.

Tabla 2. *Parámetros de calibración, obtenidos con distintos métodos de regresión, para los distintos calibrados de cipermetrina.*

	1 <sup>er</sup> Calibrado			2 <sup>o</sup> Calibrado			3 <sup>er</sup> Calibrado		
	LS	LMS	LS sin outlier	LS	LMS	LS sin outlier	LS	LMS	LS sin outlier
Nº datos	10	10	8	10	10	9	10	10	9
Sensibilidad (nA / 10 <sup>-5</sup> M)	248,6915	200,971	191,495	198,227	162,874	177,961	188,058	193,600	186,1721
Tno. Indep. (nA)	-570,866	-352,112	-305,760	-417,978	-283,051	-335,877	-303,958	-320,396	-288,3051
Coef. de determ. (R <sup>2</sup> )	0,94095	0,99533	0,9937	0,95597	0,97304	0,97142	0,95592	0,99269	0,99038

Teniendo en cuenta los parámetros de la tabla se representan las rectas de calibrado que aparecen en la figura 6. Estas rectas se corresponden con la regresión lineal una vez eliminados los llamados puntos “outlier”.

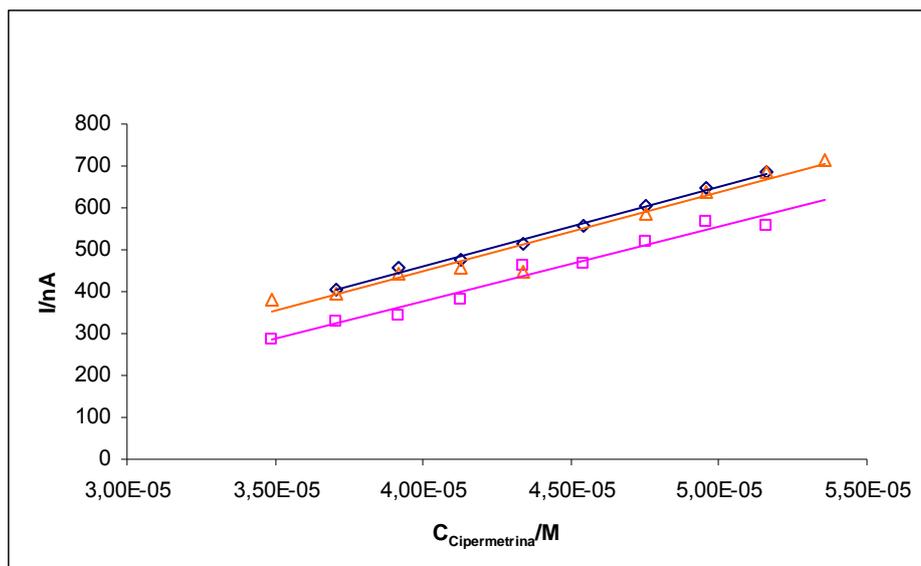


Figura 6. Puntos experimentales y rectas de calibración construidas en el intervalo de concentración de cipermetrina de  $32.7 \mu\text{M}$  a  $53.6 \mu\text{M}$ , realizados para la estimación de la repetibilidad del sensor.

La repetibilidad del método fue calculada en términos del valor de desviación estándar relativa (RSD) asociado a las pendientes de las rectas de calibrado descritas. El valor obtenido para dicho parámetro fue de  $3.68\%$  ( $n = 3$ ).

El procedimiento desarrollado para la determinación analítica de cipermetrina ha sido finalmente caracterizado mediante el cálculo de su capacidad de detección, teniendo en cuenta la probabilidad de falso positivo ( $\alpha$ ) y falso negativo ( $\beta$ ), para lo que se utilizó el programa DETARCHI [14]. Para el cálculo de dicho parámetro de calidad se utilizaron también regresiones lineales validadas entre la concentración y la señal analítica. En todos los casos el límite de detección calculado con el programa informático queda fuera de los valores de la recta de calibrado, por lo que en este caso se puede decir que el límite de detección es la menor de las concentraciones medidas que ha dado respuesta analítica ( $32.7 \mu\text{M}$ ).

#### IV.IV.- Análisis de cipermetrina en el insecticida Acaritron

Con el objetivo de comprobar la viabilidad del método analítico desarrollado se llevó a cabo el análisis de una muestra de un insecticida denominado Acaritron.

El análisis de la muestra se llevó a cabo mediante adición estándar. El valor obtenido mediante el método electroquímico desarrollado fue de  $2.4 \pm 0,5 \%$  ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0.05$ ). Dicho valor no concuerda con el suministrado por el fabricante ( $6\%$ ). Este resultado negativo puede ser debido a que, dadas las características del producto, la disolución de la cantidad de acaritron añadida a la celda electroquímica no se haya producido en su totalidad.

## V.- CONCLUSIONES

Los resultados de las experiencias realizadas pueden ser resumidos en las siguientes conclusiones:

- La voltamperometría diferencial de impulsos con redisolución adsorptiva, empleando electrodos de carbono vitrificado se ha mostrado eficaz en el análisis de cipermetrina.
- En la determinación de cipermetrina por voltamperometría diferencial de impulsos de redisolución adsorptiva, la intensidad de los picos voltamperométricos está influenciada por diversos factores como el tiempo de deposición, el potencial de deposición y el pH.
- Las condiciones óptimas de las variables experimentales para la determinación de cipermetrina mediante DPAdSV utilizando un electrodo de carbono vitrificado son un valor de pH 13, un potencial de acumulación de -1.0 V y un tiempo de acumulación de 195 segundos.
- La repetibilidad del método propuesto en términos de RSD de las pendientes asociadas a las rectas de calibración, en el intervalo de concentración de 32.7 a 53.6  $\mu\text{M}$ , es de 3.68 % (n=3).
- La capacidad de detección obtenida para cipermetrina en las condiciones óptimas de las variables experimentales es de 32.7  $\mu\text{M}$ .

## VI.- BIBLIOGRAFÍA

- [1] H. Chaaieri Oudou, Rosa M. Alonso and Rosa M. Jiménez. Voltammetric study of the synthetic pyrethroid insecticides cypermethrin and deltamethrin and their determination in environmental samples. *Electroanalysis* 2001, 13, No. 1.
- [2] Yuanxiang Jin, Linggang Wang, Meili Ruan, Jingwen Liu, Yuefeng Yang, Cheng Zhou, Bin Xu, Zhengwei Fu. Cypermethrin exposure during puberty induces oxidative stress and endocrine disruption in male mice. *Environ. Chemosphere* 84 (2011) 124-130.
- [3] Caroline Cost. Journal of pesticide reform. Summer 1996. Vol.16, No. 2.
- [4] Kaufman, D.D., B.A. Russell, C.S. Helling and A.J. Kayser. 1981. Movement of cypermethrin, decamethrin, permethrin, and their degradation products in soil. *J. of Agriculture and Food Chem.* American Chemical Society. Washington D.C. 239-245.
- [5] Jin, H., and G.R.B. Webster. 1998. Persistence, penetration, and surface availability of cypermethrin and its major degradation products in elm bark. *J. Agric. Food Chem.* **46**:2851-2857.
- [6] Vijverberg, H.P.M., and J. van den Bercken. 1990. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroids insecticides. *Critical Reviews in Toxicology.* **21**(2):105-126. & Siegfried, B.D. 1993. Comparative toxicity of pyrethroid insecticides to terrestrial and aquatic insects. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **12**:1683-1689.
- [7] Vijverberg, H.P.M., and J. van den Bercken. 1990. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroids insecticides. *Critical Reviews in Toxicology.* **21**(2):105-126.
- [8] Siegfried, B.D. 1993. Comparative toxicity of pyrethroid insecticides to terrestrial and aquatic insects. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **12**:1683-1689.
- [9] P. Manisankar, P. Abirama Sundari and R. Sasikumar. Square-wave stripping voltammetric determination of some organic pollutants using modified electrodes. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* Vol 89, No. 4, 10 April 2009, 245-260.
- [10] P. Manisankar, P.L. Abirama Sundari, R. Sasikumar, D. Jestin Roy. Voltammetric determination of phenoxybenzyl-type insecticides at chemically

modified conducting polymer-carbon nanotubes coated electrodes.  
*Electroanalysis* 20, 2008, No. 19, 2076-2083.

- [11] P. Manisankarm S. Viswanathan, A. Mercy Pusphalatha, C. Rani. Electrochemical studies and square wave stripping voltammetry of five common pesticides on poly 3,4-ethylenedioxythiophene modified wall-jet electrode. *Analytica Chimica Acta* 528 (2005) 157-163.
  
- [12] STATGRAPHICS, STATGRAPHICS PLUS for Windows, Statistical Graphics Corp., Copy 1994-2001.
  
- [13] P.J. Rousseeuw and A.M. Leroy, *Robust Regression and Outlier Detection*, John Wiley and sons, New York (1989).
  
- [14] L. Sarabia, M.C. Ortiz, *Trac-Trends In Analytical Chemistry* 13 (1994) 1-6.