



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Química
Programa de Pós Graduação em Química



**DETERMINAÇÃO DE ETANOL E METANOL EM
ÁLCOOL COMBUSTÍVEL E GASOLINA EMPREGANDO
MÉTODOS ELETROANALÍTICOS**

Polyana Fernandes Pereira

Uberlândia
Fevereiro/ 2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Química
Programa de Pós Graduação em Química



DETERMINAÇÃO DE ETANOL E METANOL EM ÁLCOOL COMBUSTÍVEL E GASOLINA EMPREGANDO MÉTODOS ELETROANALÍTICOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação do Instituto de
Química da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito para obtenção do
título de Mestre em Química.

Mestranda: Polyana Fernandes Pereira

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter

Área de Concentração: Química Analítica

Uberlândia
Fevereiro/ 2012



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 136/COPGQ.

DATA: 16/02/2012

DISCENTE: Polyana Fernandes Pereira

MATRÍCULA: 11012QMI011

TÍTULO DO TRABALHO: Determinação de etanol e metanol em álcool combustível e gasolina empregando métodos eletroanalíticos.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de sensores eletroquímicos para o controle de qualidade de biocombustíveis em tempo real no processo industrial e na fase de uso do produto.

Às quatorze horas do dia dezesseis de fevereiro do ano dois mil e doze, no Auditório A do Bloco 50, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Wendell Karlos Tomazelli Coltro, da Universidade Federal de Goiás, de Goiânia/GO; Regina Massako Takeuchi, da FACIP/UFU e Eduardo Mathias Richter, professor orientador e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o presidente da mesa apresentou o candidato e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 01/2010/COPGQ. Em seguida, o presidente da mesa concedeu a palavra à candidata para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o apresentador. A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprova o candidato. Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será idem acima.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU, em especial do artigo 55 da resolução 12/2008 do Conselho de Pós-graduação e Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 45 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Wendell Karlos T. Coltro – UFG

Profª Dra. Regina Massako Takeuchi – FACIP

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter – IQUFU

AGRADECIMENTOS

Essa dissertação que agora se apresenta resultou de dois anos de pesquisas, ao longo dos quais recebi grande apoio e estímulo de muitos. Nesse sentido, os méritos que ela possa ter devem-se à contribuição dessas pessoas. Eu expresso aqui meus agradecimentos:

- A Deus, primeiramente, por me permitir realizar mais uma etapa da minha vida.
- Aos meus pais, Ariovaldo e Maria Elena, e a minha irmã, Tatyane, pelo apoio incondicional, incentivo e confiança. Sempre terão o meu amor e o meu respeito.
- Ao Hugo Leonardo, pelo companheirismo, carinho, apoio e por me proporcionar momentos felizes ao seu lado.
- Ao Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter, pela orientação, confiança, paciência, ensinamentos, apoio e oportunidade para a realização deste trabalho.
- Aos amigos do laboratório de pesquisa, em especial: Denise, Mariana, Ana Paula, Rodrigo Montes, Rafael, Thiago e Rodrigo Amorim, pela amizade, respeito, ajuda e pelos diversos momentos de descontração.
- Aos demais amigos que se mantiveram presentes durante esse período na minha vida: Beatriz, Maria Clara, Daisy, Alexandre e Fernando. Desejo toda felicidade, além de uma realização pessoal e profissional a todos.
- Ao Prof. Dr. Rodrigo Muñoz, pelo apoio dado a este trabalho e pelos conhecimentos transmitidos, meu muito obrigado.
- A CAPES pelo apoio financeiro.
- Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia pelo espaço físico concedido.
- Aos membros da banca, por aceitar o convite e, assim, contribuir para o aprimoramento desse trabalho.

«Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo, só depende de nossa vontade e perseverança. »

Albert Einstein

ÍNDICE

<i>Resumo</i>	i
<i>Abstract</i>	iii
<i>Índice de Figuras</i>	v
<i>Índice de Tabelas</i>	viii
<i>Lista de Abreviações e Siglas</i>	ix
<i>Trabalhos Desenvolvidos Durante o Mestrado</i>	xi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Espécies Analíticas estudadas	1
1.1.1 Etanol (EtOH)	1
1.1.1.1 A produção e o uso do Etanol como combustível no Brasil...	2
1.1.1.2.O etanol e a gasolina.....	3
1.1.2 Metanol (MetOH)	3
1.1.2.1 Principais usos do Metanol.....	4
1.1.2.2 Efeitos potenciais à saúde.....	4
1.2 Adulteração de Combustíveis (Etanol e Gasolina)	5
1.2.1 Gasolina Adulterada.....	6
1.2.2 Etanol Adulterado.....	7
1.3 Metodologias disponíveis na literatura para determinação de EtOH e MetOH	9
1.4 Aplicações de eletrodos de ouro em meio alcalino	13
1.5 Técnicas utilizadas no presente trabalho	15
1.5.1 Voltametria Cíclica.....	15
1.5.2 Amperometria.....	18
1.5.3 Análise por Injeção em Batelada (BIA, do inglês Batch Injection Analysis).....	19
1.5.4 BIA com detecção Amperométrica.....	23
2. OBJETIVOS DO TRABALHO	26
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	27
3.1 Reagentes	27
3.2 Soluções	27
3.3 Preparo das Amostras	27

3.4 Instrumentação.....	29
3.4.1 Sistema Eletroquímico.....	29
3.4.2 Análises Cromatográficas.....	29
3.4.3 Células Eletroquímicas.....	30
3.4.4 Eletrodo de Trabalho.....	33
3.4.5 Eletrodo de Referência.....	33
3.4.6 Eletrodo Auxiliar.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	34
4.1 Determinação simultânea de EtOH e MetOH em álcool combustível usando voltametria cíclica (VC)	34
4.1.1 Comportamento eletroquímico do EtOH e MetOH empregando eletrodo de ouro em meio alcalino.....	34
4.1.2 Estudos para determinação simultânea de MetOH e EtOH usando voltametria cíclica.....	39
4.1.3 Estudo da Repetibilidade do método.....	43
4.1.4 Curva Analítica para determinação simultânea de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível.....	44
4.2 Determinação de EtOH em álcool combustível e em gasolina usando BIA com detecção amperométrica.....	48
4.2.1 Estudos para definição dos pulsos de potenciais a serem usados.....	48
4.2.2 Comparação entre os resultados obtidos por BIA com e sem agitação da solução na célula.....	52
4.2.3 Estudo do sinal amperométrico obtido no sistema BIA- AMP em função da velocidade de injeção e da intensidade da agitação da solução presente na célula eletroquímica.....	53
4.2.4 Curvas analíticas para quantificação de EtOH em amostras de combustíveis.....	55
5. CONCLUSÕES.....	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

RESUMO

No presente trabalho são apresentados dois procedimentos de análise para determinação de etanol (EtOH) e/ou metanol (MetOH) em amostras de álcool combustível e gasolina. O primeiro trata da determinação simultânea de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível usando voltametria cíclica (VC) e o segundo, da determinação de EtOH em álcool combustível e gasolina usando Análise por Injeção em Batelada com detecção amperométrica de múltiplos pulsos (BIA-AMP). Nos dois procedimentos, ouro é empregado como eletrodo de trabalho e uma solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ como eletrólito suporte. Nesta condição, o EtOH é eletroquimicamente oxidado em +0,19 V (sem interferência de MetOH) e em +1,20 V, ambos os compostos (EtOH e MetOH) são simultaneamente oxidados.

Empregando a VC, a estratégia é a determinação de EtOH em +0,19 V e de ambos os compostos (EtOH e MetOH) em +1,20 V. Por diferença de sinal detectado nas duas regiões de potencial e empregando um fator de correção, a quantificação de MetOH também foi possível. Neste procedimento, a faixa linear de resposta na determinação simultânea de EtOH e MetOH ficou entre 0,070 a 0,346 % (v/v) ($R = 0,999$) e entre 0,030 a 0,149 % (v/v) ($R = 0,993$), respectivamente. O limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foi calculado, respectivamente, em 0,028 e 0,093 % (v/v) para EtOH e em 0,045 e 0,149 % (v/v) para MetOH.

Empregando o procedimento BIA-AMP, a determinação de EtOH sem a interferência de MetOH foi possível mediante a aplicação em função do tempo dos seguintes pulsos de potenciais:

➔ +0,18 V / 100 ms: detecção de EtOH sem a interferência de MetOH;

➔ +0,70 V / 300 ms: formação do AuO sobre a superfície do eletrodo de trabalho;

➔ -0,25 V / 300 ms: redução do AuO formado na etapa anterior (limpeza/ativação do eletrodo de trabalho).

Nesta condição, estudos de repetibilidade apresentaram DPR inferior a 1,6 % ($n = 10$). O método apresentou faixa linear de resposta na determinação de EtOH por BIA-AMP entre 0,1 a 0,5 % (v/v) ($R = 0,998$). LD e LQ foram calculados em 0,0011 e 0,0033 % (v/v), respectivamente. A frequência analítica foi calculada em 180 injeções h^{-1} .

Ambos os métodos propostos neste trabalho apresentam as seguintes características: custo reduzido, etapas simples de pré-tratamento das amostras (somente diluição ou extração seguida de diluição) e necessidade de usar somente um reagente na análise ($\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$). O procedimento BIA-AMP apresenta duas vantagens adicionais: alta frequência analítica e possibilidade de uso em análises “in situ” (fora do ambiente de laboratório).

Palavras-Chave: Voltametria Cíclica, Análise por injeção em Batelada com detecção Amperométrica de Múltiplos Pulsos (BIA-AMP), Etanol, Metanol, Combustíveis.

ABSTRACT

In this present work two analytical procedures are presented. The first deals with the simultaneous determination of ethanol (EtOH) and methanol (MetOH) in fuel ethanol samples using Cyclic Voltammetry (CV) and the second, the determination of EtOH in fuel ethanol and gasohol using Batch Injection Analysis with Multiple Pulses Amperometric detection (BIA-MPA). In both procedures, gold is used as working electrode and NaOH solution (0.5 mol L^{-1}) as supporting electrolyte. In this condition, EtOH is electrochemically oxidized at $+0.19 \text{ V}$ (without interference of MetOH) and at $+1.20 \text{ V}$, both compounds (EtOH and MetOH) are simultaneously oxidized.

Employing CV, the strategy is the EtOH determination at $+0.19 \text{ V}$ and both compounds (EtOH and MetOH) at $+1.20 \text{ V}$. By the difference of signal detected in the two potentials regions and using a correction factor, the MetOH quantification was also possible. In this procedure, the linear response range for simultaneous determination of EtOH and MetOH was between 0.070 and 0.346 \% (v/v) ($R = 0.999$) and 0.030 to 0.149 \% (v/v) ($R = 0.993$), respectively. The limit of detection (LD) and quantification (LQ) was calculated, respectively, 0.028 and 0.093 \% (v/v) for EtOH and 0.045 and 0.149 \% (v/v) for MetOH.

Using the BIA-MPA procedure, the EtOH determination without MetOH interference was possible through the application of the following potentials pulses as a function of time:

- ➔ $+0.18 \text{ V} / 100 \text{ ms}$: EtOH detection without MetOH interference;
- ➔ $+0.70 \text{ V} / 300 \text{ ms}$: AuO formation on the working electrode surface;

➔ -0.25 V / 300 ms: AuO reduction formed in the previous step (cleaning / activation of the working electrode).

In this condition, repeatability studies showed RSD value lower than 1.6 % (n = 10). The method presented linear response range for EtOH determination by BIA-MPA between 0.1 to 0.5 % (v/v) (R = 0.998). LD and LQ were calculated as 0.0011 and 0.0033 % (v/v), respectively. The analytical frequency of the system was 180 injections h⁻¹.

Both proposed methods have the following characteristics: low cost, simple sample pretreatment procedures (only dilution or extraction followed by dilution) and use of only one reagent in the analysis (0.5 mol L⁻¹ NaOH). The BIA-MPA procedure has two additional advantages: high analytical frequency and possibility of performing “on-site” analysis (outside the laboratory).

Keywords: Cyclic Voltammetry, Batch Injection Analysis with Multiple Pulse Amperometric detection (BIA-MPA), Ethanol, Methanol, fuels.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Modelo molecular do EtOH.....	1
Figura 2: Modelo molecular do MetOH.....	4
Figura 3: Esquema da aplicação dos pulsos de potenciais.....	14
Figura 4: (A) Esquema da varredura do potencial vs tempo. (B) Voltamograma da corrente obtida em função do potencial.....	17
Figura 5: Diagrama esquemático de uma célula BIA: A) Eletrodo de Trabalho; B) Eletrodo Auxiliar; C) Eletrodo de referência; D) Ponteira de micropipeta; E) Orifício; F) Agitador; G) Drenagem.....	21
Figura 6: Etapas de um sistema BIA. A) Antes da injeção; B) Transporte durante a injeção; C) Final da injeção; D) Dispersão; E) Equilíbrio final.....	22
Figura 7: Esquema da célula utilizada nas análises em BIA.....	31
Figura 8: Imagem da célula BIA utilizado nos estudos.....	32
Figura 9: Voltamogramas cíclicos obtidos usando eletrodo de ouro em meio de NaOH 0,5 mol L ⁻¹ sem (—) e com a adição de 0,5 % (v/v) de EtOH (- - -) ou 0,5 % (v/v) de MetOH (.....). Varredura iniciando no sentido positivo de potenciais.....	35
Figura 10: Voltamograma cíclico obtido usando eletrodo de ouro em meio de NaOH 0,5 mol L ⁻¹ sem (—) e com a adição de 0,5 % (v/v) de EtOH (- - -) ou 0,5 % (v/v) de MetOH (.....). Varredura no iniciando sentido negativo de potenciais.....	36
Figura 11: Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções contendo concentrações crescentes de EtOH (A – F: 0 a 0,5 % (v/v)) em meio de NaOH 0,5 mol L ⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH.....	39

Figura 12: Curvas analíticas obtidas com as correntes de oxidação de EtOH em +0,19 e +1,20 V. Dados a partir da Fig. 11.....	40
Figura 13: Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções contendo concentrações crescentes de MetOH (B – G: 0,03 a 0,18 % (v/v)) em meio de NaOH 0,5 mol L ⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH (A)	42
Figura 14: Curva analítica obtida com as correntes de oxidação de MetOH em +1,20 V. Dados a partir da Fig. 13.....	43
Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções contendo concentrações crescentes (B – F) de EtOH (0,070 a 0,346% (v/v)) e MetOH (0,030 a 0,149% (v/v)) em meio de NaOH 0,5 mol L ⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH (A).....	44
Figura 16: Curva analítica obtida para EtOH em meio de NaOH 0,5 mol L ⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH. Dados obtidos a partir da Fig. 15.....	45
Figura 17: Curva analítica obtida para o MetOH em meio de NaOH 0,5 mol L ⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH. Dados obtidos a partir da Fig. 15.....	46
Figura 18: Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de ouro em solução NaOH 0,5 mol L ⁻¹ antes (—) e depois da adição de 0,5 % (v/v) de EtOH (- - -) ou MetOH (····).....	49
Figura 19: Comparação entre os resultados obtidos por BIA (sob agitação) com detecção amperométrica convencional (A) e amperometria pulsada (B) na injeção sucessiva de soluções contendo 0,1 % (v/v) (a) e 0,5 % (v/v) (b) de EtOH.....	50
Figure 20: Comparação entre os resultados obtidos por BIA com detecção amperométrica pulsada com e sem agitação da solução. Solução injetada: 0,5 % (v/v) de EtOH.....	52

Figura 21: Estudo do efeito da velocidade de injeção (a, b, c) e da velocidade de agitação (A, B, C, D) sobre o sinal de oxidação do EtOH no sistema BIA-AMP. Solução injetada: 0,5 % (v/v) de EtOH (n = 3).....	54
Figura 22: Amperogramas obtidos com o sistema BIA-AMP após injeções de 5 soluções contendo concentrações crescentes e decrescentes de EtOH (a – e: 0,1 a 0,5 % (v/v)), 3 amostras de etanol combustível (A – C) e 3 amostras de gasolina (D – F)	56
Figura 23: Curvas analíticas obtidas com os dados (correntes de oxidação do EtOH) da Fig.22.....	57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Forma de preparo das amostras de EtOH combustível analisadas no presente trabalho.....	28
Tabela 2: Forma de preparo das amostras de gasolina analisadas no presente trabalho.....	29
Tabela 3: Variação do <i>fator</i> ($I_{\text{EtOH em } +1,20 \text{ V}} / I_{\text{EtOH em } +0,19 \text{ V}}$) em função da concentração de EtOH.....	41
Tabela 4: Resultados obtidos na determinação de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível por cromatografia gasosa (CG) e voltametria cíclica (VC)	47
Tabela 5: Resultados obtidos ($n = 3$) na determinação de EtOH em amostras de álcool combustível e gasolina por BIA-AMP e CG.....	58

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AMP	Amperométrica de Múltiplos Pulsos
ANP	Agência Nacional do Petróleo
ASTM	American Society for Testing and Materials
BIA	Análise por Injeção em Batelada
CG	Cromatografia Gasosa
CG-FID	Cromatografia Gasosa com Detecção de Ionização de Chama
CG-MS	Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa
DPR	Desvio Padrão Relativo
EA20	Etanol combustível adulterado com 20 % (v/v) de H ₂ O
E_f	Potencial final
E_i	Potencial inicial
EM20	Etanol combustível adulterado com 20 % (v/v) de Metanol
EM14	Etanol combustível adulterado com 14 % (v/v) de Metanol
EM8	Etanol combustível adulterado com 8 % (v/v) de Metanol
EM5A8	Etanol combustível adulterado com 5% (v/v) de Metanol e 8% (v/v) de H ₂ O
ER	Eletrodo de Referência
E_s	Potencial de inversão
ET	Eletrodo de Trabalho
EtOH	Etanol
FA	Fase Aquosa
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
FNA	Fase Não Aquosa
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
FT-MIR	Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier

FT-NIR	Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier
GØ	Gasolina sem adulteração
GEM15	Gasolina com 15 % (v/v) de Etanol + 15 % (v/v) de Metanol
GM30	Gasolina sem etanol e adulterada com 30 % (v/v) de Metanol
HCA	Análise de Agrupamento Hierárquico
I_{+1,20 V}	Corrente em +1,20 V
I_{+0,19V}	Corrente em +0,19 V
I_{EtOH em +1,20 V}	Corrente proveniente da oxidação do etanol em +1,20 V
I_{Lim}	Corrente limite
I_{EtOH em +0,19 V}	Corrente proveniente da oxidação do etanol em +0,19 V
I_{MetOH}	Corrente proveniente da oxidação do metanol
KNN	K Vizinhos mais Próximos
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MBL-GD	Membrane Less – Gás Diffusion
MetOH	Metanol
MTBE	Metil-tert-butil-éter
NIR	Espectroscopia de Infravermelho Próximo
PCA-LDA	Análise dos Componentes Principais - Análise do Discriminante Linear
PLS	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais
RMSEP	Erro Quadrado Médio de Previsão
SIMCA	Soft of Independent Modeling of Class Analogy
VC	Voltametria Cíclica
V_f	Velocidade de injeção ou vazão

TRABALHOS DESENVOLVIDOS DURANTE O MESTRADO

- Wesley C. Silva, Polyana F. Pereira, Mariana C. Marra, Denise T. Gimenes, Rafael R. Cunha, Rodrigo A. A. Munoz, Rodrigo A. B. da Silva, Eduardo M. Richter. *A Simple Strategy for Simultaneous Determination of Paracetamol and Caffeine Using Flow Injection Analysis with Multiple Pulse Amperometric Detection*. *Electroanalysis*, v. 23, p. 2764-2770, **2011**.
- Polyana F. Pereira, Mariana C. Marra, Rodrigo A.A. Munoz, Eduardo M. Richter. *Fast batch injection analysis system for on-site determination of ethanol in gasohol and fuel ethanol*. *Talanta*, v. 90, p. 99-102, **2012**.
- Polyana F. Pereira, Raquel M. F. Sousa, Rodrigo A. A. Munoz, Eduardo M. Richter. *Simultaneous determination of ethanol and methanol using cyclic voltammetry at gold electrode in alkaline solution*. **Artigo em redação**.
- Polyana F. Pereira, Raquel M. F. Sousa, Rodrigo A. A. Munoz, Eduardo M. Richter. *Determinação simultânea de etanol e metanol em álcool combustível usando voltametria cíclica e eletrodo de ouro em meio alcalino*. Livro de resumos do XVIII simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, Bento Gonçalves-RS, **2011**.
- Denise T. Gimenes, Polyana F. Pereira, Thiago F. Tormin, Jhones M. Freitas, Rodrigo A. A. Munoz, Eduardo M. Richter. *Determinação rápida e simultânea de diclofenaco e codeína usando FIA com detecção amperométrica pulsada*. Livro de resumos do XVIII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, Bento Gonçalves-RS, **2011**.
- Polyana F. Pereira, Mariana C. Marra, Rodrigo A. A. Munoz, Eduardo M. Richter. *Determinação de etanol em álcool combustível e em gasolina usando BIA (Batch Injection Analysis)*. CD de resumos do 16º Encontro Nacional de Química Analítica, Campos do Jordão-SP, **2011**.

- Ana P. S. Duarte, Mariana C. Marra, Polyana F. Pereira, Denise T. Gimenes, Rodrigo A. A. Munoz, Eduardo M. Richter. *Determinação de Aspirina e Cafeína em formulações farmacêuticas usando FIA com detecção amperométrica*. Anais do Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Viçosa-MG, **2010**.
- Mariana C. Marra, Ana P. S. Duarte ; Polyana F. Pereira, Denise T. Gimenes, Rodrigo A. A. Munoz, Claudimir L. do Lago, Eduardo M. Richter. *Estudos para análise simultânea de Aspirina, Ácido Salicílico e Cafeína por Eletroforese Capilar com detecção condutométrica sem contato (CE-C4D)*. Anais do Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Viçosa-MG, **2010**.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Espécies analíticas estudadas

1.1.1 Etanol (EtOH)

O EtOH ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), cujo modelo molecular pode ser observado na Figura 1, também chamado álcool etílico ou simplesmente álcool (linguagem corrente), é obtido a partir da fermentação de açúcares, hidratação do etileno ou redução do acetaldeído [1]. É encontrado em indústria de perfumaria e bebidas como aguardente, cerveja, vinho e uísque, podendo também ser usado como germicida, solvente, anti-congelante e combustível [2].

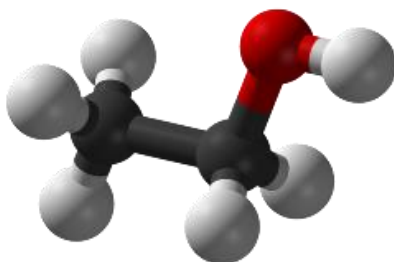


Figura 1: Modelo molecular do EtOH

É um líquido incolor, inflamável, volátil e solúvel em água. Funde-se a cerca de $-114\text{ }^{\circ}\text{C}$ e entra em ebulição a cerca de $79\text{ }^{\circ}\text{C}$. O ponto de ebulição relativamente alto é devido a presença do grupamento hidroxila, ou seja, da presença de ligações do tipo ponte de hidrogênio entre as moléculas [3]. O etanol é muito utilizado no Brasil como combustível de motores de explosão, o que constitui um mercado em ascensão para um

combustível obtido de maneira renovável e, conseqüentemente, leva ao estabelecimento de uma indústria de química de base sustentada na utilização de biomassa de origem agrícola e renovável.

1.1.1.1 A produção e o uso do Etanol como combustível no Brasil

O Brasil é o segundo maior produtor de EtOH no mundo, o maior exportador mundial, líder internacional em biocombustíveis e a primeira economia a ter atingido sustentabilidade na área dos biocombustíveis [4]. O EtOH se difere do petróleo por não ser um recurso finito e, além disso, é normalmente produzido a partir de plantas cultivadas, como a cana-de-açúcar, o milho, a beterraba, o trigo e a mandioca [5]. A cana-de-açúcar (utilizada no Brasil) é a matéria prima mais atrativa que se conhece para a produção comercial do EtOH. O balanço energético (unidade de energia obtida x unidade de energia necessária para a produção) do EtOH de cana é aproximadamente sete vezes maior que o obtido pelo EtOH de milho, produzido nos EUA, e quatro vezes maior do que o obtido pelo EtOH de beterraba e o de trigo utilizados na Europa [4].

Há mais de 30 anos o EtOH é utilizado em larga escala no Brasil e com isso foi adquirida bastante experiência na produção. A substituição da gasolina pelo EtOH evitou a emissão de toneladas de gás carbônico (CO_2), desde o lançamento dos veículos flex no Brasil, em 2003 [6]. Diferentemente da gasolina e do diesel, o EtOH praticamente não contém enxofre e não gera partículas ou outros poluentes na atmosfera. Em casos de vazamento de combustível, o impacto ambiental do EtOH também é muito menor do que da gasolina ou do diesel, pois o produto é biodegradável [4].

1.1.1.2 O etanol e a gasolina

Nos anos 30 o álcool anidro nacional começou a ser utilizado como aditivo à gasolina na proporção de 5 % [7]. Hoje, no Brasil, toda gasolina contém de 20 a 25 % de EtOH anidro (0,4 % de água em volume). Essa porcentagem varia de acordo com decisões políticas e econômicas governamentais. Para carros à álcool e modelos flex é utilizado EtOH hidratado (até 7 % de água, em volume) como combustível. Hoje quase 90 % dos carros fabricados no Brasil possuem tecnologia flex, o que possibilita usar tanto EtOH como gasolina, em qualquer proporção. Além de benefícios ambientais, o veículo apresenta melhor desempenho com álcool em relação à gasolina.

1.1.2 Metanol (MetOH)

O MetOH (CH_3OH), cujo modelo molecular pode ser observado na Figura 2, é um líquido incolor e inflamável, com massa molar igual a $32,04 \text{ g mol}^{-1}$, possuindo um odor suave na temperatura ambiente, chama invisível, funde-se a cerca de -98°C e entra em ebulição a cerca de 65°C . Tem propriedades combustíveis e energéticas similares ao EtOH. Os dois são agentes combustíveis, mas o MetOH possui elevada toxicidade [3].

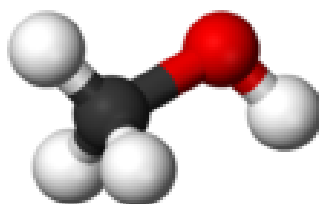


Figura 2: Modelo molecular do MetOH

O MetOH, durante muito tempo, foi obtido a partir da madeira, sendo este o motivo pelo qual era chamado de álcool da madeira [3]. Atualmente é obtido pela reação do gás de síntese (produzido a partir de origens fósseis, como o gás natural), uma mistura de H_2 com CO passando sobre um catalisador metálico a altas temperaturas e pressões [1]. Também pode ser produzido a partir da cana-de-açúcar. O Brasil não é auto-suficiente na produção de MetOH e ainda o importa para outros fins e não para uso como combustível. É possível encontrá-lo como subproduto da indústria do petróleo.

1.1.2.1 Principais usos do Metanol

O MetOH é utilizado na produção de plásticos, na extração de produtos animais e vegetais, como solvente em reações de importância farmacológica, como no preparo de colesterol, vitaminas e hormônios. É também utilizado na produção de formaldeído e metil-tert-butil-éter (MTBE – aditivo da gasolina), no processo de transesterificação da gordura para a produção do biodiesel e como combustível em algumas categorias de carros de corrida nos EUA (ex: Champ Car, IRL, Dragster) [1].

1.1.2.2 Efeitos potenciais à saúde

A inalação de MetOH causa leve irritação às membranas das mucosas. Tem efeito tóxico no sistema nervoso, particularmente no nervo óptico [3, 8]. Os sintomas da exposição incluem dor de cabeça, náusea, vômito, cegueira, coma e até a morte. A ingestão também causa irritação da mucosa e pode causar intoxicação e cegueira (que pode ser permanente). A dose letal é entre 25 a 100 mL. Os produtos formados no corpo, pela oxidação do MetOH, são o formaldeído e ácido fórmico (ambos tóxicos)

[1]. Em contato com a pele, ela se torna seca e quebradiça. Se ocorrer absorção, os sintomas são semelhantes ao da inalação. E em contato com os olhos, causa séria irritação e a exposição contínua pode levar à lesões [1].

Exposições curtas aos vapores de MetOH não causam efeitos prejudiciais, porém quando se tornam diárias podem resultar em acúmulo de MetOH, devido à lentidão com a qual é eliminado do organismo, suficiente para provocar danos à saúde. Nesse caso, os sintomas são: fraqueza, fadiga, dores de cabeça, náuseas, turvação da vista, fotofobia e conjuntivite, podendo ser seguida de lesões oculares definitivas [1].

1.2 Adulteração de Combustíveis (Etanol e Gasolina)

Combustível adulterado é aquele fora do padrão de venda, determinado por lei. A prática de adulterar combustível tornou-se comum no Brasil e consiste na adição de substâncias estranhas à composição básica da gasolina, do álcool ou do diesel. O controle na qualidade do combustível é dificultado por casos de corrupção na fiscalização. Além disso, é necessário lembrar dos riscos à saúde dos motoristas, dos frentistas e das pessoas em geral. O combustível adulterado pode produzir mais resíduos, mais poluição e alguns desses produtos são cancerígenos. Ainda mais, vale lembrar a importância do EtOH no mercado internacional, por apresentar vantagens ambientais como: substituição de aditivos à base de chumbo e compostos tóxicos de oxigênio, tais como éter metil-terc-butílico (MTBE); redução de emissões de SO₂, CO, e hidrocarbonetos; é renovável, logo o processo de plantio, a produção e o consumo resulta em um ciclo fechado de emissões de carbono, o que não contribui para o nível de carbono na atmosfera.

Com esses fatos, fica clara a necessidade de se obter métodos analíticos rápidos e precisos de detecção da adulteração em combustíveis.

1.2.1 Gasolina Adulterada

Em relação à gasolina, ela deve obedecer a padrões de qualidade estabelecidos pela ANP (Agência Nacional do Petróleo). Porém, para obter lucro fácil, práticas que podem danificar os veículos e a saúde das pessoas são realizadas. As adulterações mais comuns na gasolina envolvem adições de solventes diversos, como refinados petroquímicos e diesel, ou adição de álcool etílico anidro em porcentagens acima da estabelecida por lei (atualmente, ela é de 20 %) [9].

Na adulteração de combustíveis usam-se diversos solventes, alguns de baixa qualidade, que normalmente são obtidos ilegalmente. Esses solventes, como o de borracha [10], a aguarrás e o querosene [11] são impróprios para uso como combustível automotivo, pois provocam mudanças nas propriedades físico-químicas da gasolina, as quais influenciam no controle da ignição, no aquecimento e aceleração do motor, e no consumo de combustível [9]. Alguns dos problemas apresentados pelo carro, se este for abastecido com gasolina adulterada, são [12]: aumento no consumo de combustível, dificuldade em dar partida, desempenho do motor danificado, além de prejudicar o meio ambiente e causar forte evasão fiscal. Adicionalmente, o sistema de injeção de combustível (controlado eletronicamente), assim como a bomba de gasolina podem apresentar desgaste excessivo, o que pode provocar falhas constantes na alimentação do combustível e até a parada total do motor.

Com o objetivo de combater esse problema, a ANP vem investindo no desenvolvimento de um método em que solventes produzidos no país recebem um marcador químico – substância que não faz parte de sua composição original. A presença do marcador artificial na gasolina denuncia a adulteração com o solvente, mas trata-se de processo trabalhoso que também exige análises de laboratório e toda uma logística para a marcação e fiscalização. Além disso, mesmo com tal medida, há também o contrabando de solventes, que assim escapam da fiscalização por não conterem tais marcadores [13].

1.2.2 Etanol Adulterado

A sonegação no mercado de distribuição do EtOH combustível é um motivo de preocupação no setor. Dados do Relatório Anual de Revenda de Combustíveis 2009 mostram que 22% do EtOH comercializado no último ano têm procedência duvidosa. O relatório mostra também que o consumo do biocombustível cresceu 41,9% em 2008. A preocupação com a sonegação na comercialização do EtOH se deve a existência de um número elevado de usinas no país (mais de 400), o que possibilita uma série de artifícios tributários e de logística. Trata-se de um mercado muito difícil de ser controlado [14]. O índice de inconformidade desse combustível, de acordo com a ANP, já é quase duas vezes maior que o da gasolina. A forma de adulteração mais comum é a adição de água e/ou MetOH.

EtOH e MetOH são dois álcoois com características físico-químicas bastante similares, sendo uma das principais causas, juntamente com o baixo preço do MetOH, da adulteração do EtOH combustível com MetOH no Brasil [15]. Além do fato dessa

prática se constituir em uma fraude fiscal, o MetOH é altamente tóxico, podendo causar desde lesão temporária até permanente na córnea [16] e nos rins [17]. A mistura de água no combustível pode derreter, além das velas, a cabeça dos pistões. Para sanar o problema após a contaminação, pode ser necessário limpar o tanque, os bicos injetores e, a partir daí, trocar as mangueiras e os filtros de combustível [18].

Recentemente, em São Paulo, postos foram fechados e distribuidoras tiveram os tanques lacrados devido ao escândalo do MetOH misturado ao álcool [19]. Os testes de laboratório constataram crime de adulteração em dois tanques de uma distribuidora. Em um deles, a amostra de álcool apresentou 3,5% de MetOH. No outro tanque, ainda mais: 18,5% do produto proibido e perigoso para a saúde [19]. Parte do MetOH que abastece o mercado nacional é produzido na Bahia e no Rio de Janeiro. Outra parte é importada, principalmente do Chile e Venezuela chegando de navio ao Brasil. É usado principalmente na fabricação de biodiesel, de tintas e de fórmicas. O litro custa em média menos da metade do que o dono do posto paga pelo litro de álcool combustível [19].

1.3 Metodologias disponíveis na literatura para determinação de EtOH e MetOH

Cromatografia Gasosa (CG) é a técnica analítica recomendada pela *American Society for Testing and Materials* (ASTM D 4815-03) para a determinação de éteres voláteis e álcoois (incluindo EtOH e MetOH) na gasolina [20]. Esta técnica também pode ser aplicada na análise de EtOH combustível [21].

Em um trabalho publicado Oliveira *et al.*, em 2004 [22], dados de perfis de curva de destilação de gasolinas brasileiras foram utilizadas na identificação de amostras adulteradas mediante aplicação do método quimiométrico de reconhecimento SIMCA (do inglês, *Soft of Independent Modeling of Class Analogy*). Esse método foi selecionado por possibilitar a classificação de uma amostra numa classe definida. Nesse trabalho, o conjunto de treinamento do modelo SIMCA consistiu de 34 amostras e o conjunto de testes consistiu em 16 amostras de gasolina, oito das quais foram adulteradas. Foram necessários cinco componentes principais para explicar 95 % da variância total. Todas as amostras no conjunto de testes foram corretamente classificadas, enquanto 4 amostras do conjunto de treinamento, que estavam em conformidade com a legislação, foram classificadas erroneamente como contaminadas.

Alguns artigos publicados demonstram o emprego das técnicas de Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FT-NIR) [20, 23, 24] e de CG acoplada com espectrometria de massa (CG-MS) [25] associadas com quimiometria para a identificação de adulterações em gasolina e EtOH combustível. Pereira *et al.*, em 2006, utilizou a técnica FTIR associada com PCA-LDA (Análise dos Componentes Principais - Análise do Discriminante Linear) no controle de qualidade da gasolina automotiva. A sensibilidade desse método foi de 8 % (v/v) com eficiência de 96 % na gasolina adulterada e não adulterada e de 93 % na identificação do tipo de solvente adicionado [24].

Carneiro *et al.*, em 2008, propôs o uso do modelo PLS (Regressão por Mínimos Quadrados Parciais) de calibração baseado em FT-MIR (Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier) e FT-NIR para avaliar a qualidade do álcool combustível, bem como para detectar sua adulteração com MetOH. Foram

preparados 80 padrões contendo a mistura EtOH/MetOH/água, sendo que 60 foram utilizados para a calibração e 20 para a validação. As amostras de validação também foram analisadas por GC-FID para determinar o teor de EtOH e MetOH. De acordo com os resultados, entre as duas técnicas espectroscópicas investigadas, PLS/ FT-NIR apresentou o melhor desempenho na detecção de MetOH com um RMSEP (Erro Quadrado Médio de Previsão) de 0,15 % (m/m) em comparação com o valor de 0,54 % (m/m) obtido para o modelo FR-MIR, enquanto que GC-FID apresentou um erro de previsão de 0,52 % (m/m). O LD para MetOH foi de 0,51 % (m/m) utilizando o modelo FT-NIR [23]

A técnica de Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR) também foi empregada por Fernandes *et al.*, em 2008, para a determinação simultânea de EtOH e MetOH em amostras de gasolina. Os espectros coletados na faixa de 714 – 2500 nm foram utilizados para construir modelos quantitativos baseados em PLS. Foi obtido um RMSEP de 0,28 % (v/v) para EtOH nos dois modelos PLS-1 e PLS-2 e de 0,31 e 0,32 % (v/v) para MetOH nos modelos PLS-1 e PLS-2, respectivamente. Nas amostras comerciais foi obtido um RMSEP de 0,83 % (v/v). Além disso, foi investigado o efeito da composição da gasolina, sendo que os solventes tolueno e o-xileno interferiram nos resultados do teor de EtOH, enquanto que isooctano, o-xileno, m-xileno e p-xileno interferiram nos resultados do teor de MetOH [21].

As técnicas de análises multivariadas HCA (Análise de Agrupamento Hierárquico) e KNN (K Vizinho mais Próximo) foram aplicadas em dados cromatográficos por Skrobot *et al.*, em 2005, para identificar adulteração na gasolina. As amostras foram analisadas por CG-MS e os picos selecionados foram utilizados nos estudos quimiométricos. HCA foi utilizada para encontrar padrões de distribuição da

amostra de acordo com o solvente adicionado e KNN foi usado para criar um esquema de classificação para diferenciar amostras puras de mistas e indicar o tipo de solvente presente. HCA revelou uma tendência clara de agrupamento das amostras contendo o mesmo solvente. No entanto, apenas após a exclusão de variáveis menores (picos), por meio de pesos de Fisher, foi possível separar as amostras com baixas concentrações de solventes. Após a otimização do algoritmo KNN, foi possível classificar corretamente 88 % das amostras do conjunto de treinamento [25].

Um método espectrofotométrico para a determinação de EtOH em gasolina após extração aquosa foi descrito por Muncharoen *et al.*, em 2009 [26]. Neste estudo, os autores usaram um dispositivo de extração aquosa (MBL-GD, do inglês *Membrane Less – Gás Diffusion*) inserido em um sistema de análise em fluxo com detecção espectrofotométrica. No interior do dispositivo extrator, o vapor de EtOH difunde através de uma pequena câmara de expansão (“headspace”) posicionada entre dois canais (doador para o receptor) do sistema FIA. O método apresentou alta exatidão e precisão, com um desvio padrão relativo de 1 a 4,9 % ($n = 45$) e frequência analítica de 26 amostras h^{-1} .

Detectores eletroquímicos também têm sido propostos na determinação de EtOH na gasolina usando impedância eletroquímica [27, 28] ou amperometria [29]. Rocha *et al.*, em 2004, propôs um método empregando impedância eletroquímica para determinar a presença de EtOH em gasolina. Nesse trabalho foi realizada uma avaliação quantitativa de misturas de combustível com proporções em massa variadas na faixa de temperatura de -10 a 40 °C. A temperatura influenciou na condutividade da mistura e no sinal do sensor [28]. Estudos de Opekar *et al.*, em 2011, mostraram uma sonda de impedância conectada com um capacitor que determina a frequência de um

multivibrador eletrônico estável. Essa frequência depende da permissividade (fortemente influenciada pelo teor de EtOH) da amostra de gasolina na célula. Os resultados obtidos foram comparados com CG-MS e mostraram-se similares. Neste caso, não foi feito nenhum tipo de pré-tratamento das amostras [27]. No entanto, MetOH é considerado um interferente empregando esta metodologia.

Um microeletrodo de cobre foi utilizado por Paixão *et al.*, em 2006, para detectar o teor de EtOH em amostras de gasolina. Esse estudo foi realizado em meio de NaOH 0,1 mol L⁻¹ e o tratamento das amostras consistia em uma simples extração líquido-líquido. A repetibilidade do método apresentou um desvio padrão relativo de 3,4 % (n = 10) e o LD foi calculado em 0,01 % (v/v). Etapas de pré-tratamento eletroquímico da superfície do eletrodo foram necessárias. O sensor, no entanto, não esteve livre de interferência de MetOH, uma vez que esse também é oxidado no eletrodo de trabalho empregado (cobre) [29].

Outro estudo realizado por Paixão *et al.*, em 2002, demonstrou a possibilidade de determinação amperométrica de EtOH em bebidas utilizando eletrodo de cobre em meio alcalino [30]. Nesse estudo foi utilizado o método FIA (Análise por Injeção em Fluxo) integrado com uma célula de difusão gasosa (extração em fluxo) operando em temperatura ambiente. O método apresentou resposta linear para EtOH na faixa de concentração entre 1 e 10 % (v/v). A repetibilidade apresentou um DPR de 3 % (n = 10) e o LD foi de 0,4 %. A frequência analítica foi estimada em 120 injeções h⁻¹. A membrana não mostrou-se seletiva para pequenas moléculas, como MetOH, que pode interferir na determinação de EtOH.

1.4 Aplicações de eletrodos de ouro em meio alcalino

Conforme descrito na literatura, eletrodos de ouro apresentam excelentes propriedades eletrocatalíticas na oxidação de compostos alifáticos (preferencialmente) em meio alcalino [31]. Na determinação destes compostos, os eletrodos de ouro são normalmente acoplados a procedimentos em fluxo (FIA ou cromatografia líquida) empregando na detecção a técnica de amperometria pulsada. A preferência pelo uso da técnica pulsada se deve a possibilidade de usar pulsos de potenciais que impedem o fenômeno de passivação (contaminação) da superfície do eletrodo de ouro durante o processo de oxidação destes compostos. Segundo a literatura, a contaminação do eletrodo ocorre devido adsorção do produto de oxidação destes compostos na superfície do eletrodo de ouro [32]. Quando a amperometria convencional (aplicação de um potencial constante) é empregada, a corrente de oxidação tende a diminuir em função de injeções sucessivas [33]. Empregando a amperometria pulsada, normalmente três pulsos de potenciais são alternadamente e ciclicamente aplicados ao eletrodo de trabalho em função do tempo (tempo de aplicação de cada pulso na ordem de milissegundos). A Figura 3 apresenta um esquema geral que representa a forma de aplicação dos pulsos de potenciais.

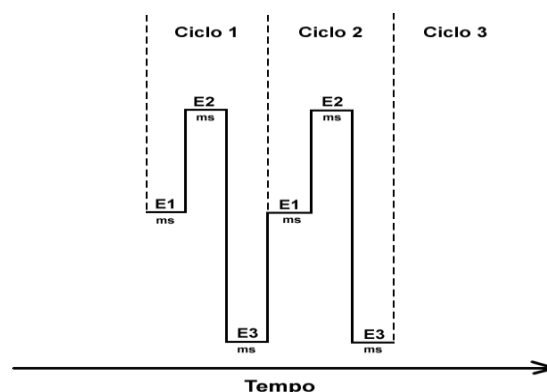


Figura 3: Esquema da aplicação dos pulsos de potenciais

Cada pulso de potencial tem uma função específica, o primeiro é usado na detecção da espécie de interesse (onde também ocorre a contaminação), o segundo na limpeza (remoção do contaminante adsorvido e formação de AuO) e o terceiro na reativação da superfície do eletrodo de ouro (redução do AuO) [32].

Nestas condições (ouro, meio alcalino, sistema em fluxo, amperometria pulsada) ou com pequenas variações, diversos compostos foram quantificados com sucesso, como: álcoois [34-38], carboidratos [31, 33, 39-42], aminas e aminoácidos [40, 43-45], compostos de enxofre [46,47], proteínas [48] e monóxido de carbono [49-51], entre outros.

1.5 Técnicas utilizadas no presente trabalho

1.5.1 Voltametria Cíclica

As técnicas voltamétricas abrangem um conjunto de técnicas eletroquímicas onde o controle do potencial é feito no eletrodo de trabalho. Para que este controle seja possível, uma diferença de potencial é aplicada entre o eletrodo de trabalho (ET) e um eletrodo de referência (ER) cujo potencial químico é conhecido e constante. Para que o potencial se mantenha constante no ER durante os experimentos, a corrente gerada pelo sistema flui entre o ET e auxiliar (EA) (arranjo eletrônico).

O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente. A curva de corrente *vs* potencial obtida é denominada voltamograma. Dentre as técnicas voltamétricas pode-se destacar as lineares (voltametria linear e cíclica) e as de pulsos (pulso normal, diferencial e de onda quadrada). Estas técnicas baseiam-se nos

fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do ET e a camada fina da solução adjacente a essa superfície, denominada camada de difusão de Nernst. Esta camada surge de um gradiente de concentração próximo à superfície do eletrodo devido ao consumo e/ou geração de espécies eletroativas nesta área. Portanto, a concentração nesta camada difere da concentração existente no seio da solução. Para que a relação entre o sinal eletroquímico medido e concentração da espécie analítica de interesse seja linear é indispensável que a velocidade do transporte de massa nesta camada seja constante (migração deve ser constante). O artifício usado para atingir este objetivo é o uso de um eletrólito inerte cuja concentração seja pelo menos 50 vezes superior ao das espécies analíticas de interesse, sendo que este eletrólito deve estar presente nas amostras e nas soluções padrão. Com isso, a mesma força iônica é mantida, minimizando variações na região da dupla camada elétrica e garantindo que o sinal registrado possa ser atribuído ao processo faradaico preferencialmente controlado por difusão, uma vez que o efeito de migração foi minimizado (eletrólito suporte).

Existem três formas pelo qual o transporte de massa pode ocorrer em uma célula eletroquímica: difusão, migração e convecção [52]. A difusão é criada pela diferença de concentração entre as espécies próximas à superfície do eletrodo e o seio da solução; a migração deve-se à movimentação de espécies iônicas devido à ação de um campo elétrico e a convecção consiste na movimentação de espécies iônicas ou neutras devido à agitação mecânica da solução (sistemas hidrodinâmicos) ou em função de um gradiente de temperatura (normalmente negligenciável).

Dois tipos de processos podem conduzir corrente através da interface eletrodo/solução: a corrente faradaica e a corrente não faradaica ou capacitiva [53]. A origem da corrente faradaica está na transferência de elétrons entre o ET e as espécies

eletroativas da solução. Este processo obedece à lei de Faraday, a qual determina que a corrente é proporcional a quantidade de reagentes formados ou consumidos no eletrodo. A corrente capacitiva é gerada pela dupla camada elétrica formada na interface eletrodo/solução devido a uma variação de potencial ou até mesmo a potencial constante, caso a capacitância do eletrodo estiver mudando por alguma razão, que pode ser pela mudança de área do eletrodo ou pela variação de temperatura. Esta corrente não depende de nenhuma reação química.

Uma das técnicas eletroquímicas utilizadas nesse trabalho foi a VC. Os principais atributos responsáveis pela popularização, em diversas áreas de aplicação, dessa técnica são: facilidade de utilização e versatilidade. É uma técnica em que, uma célula voltamétrica apropriada quando submetida a uma varredura de potencial cíclico e linear (Figura 4A), se estuda a relação potencial-corrente (Figura 4B).

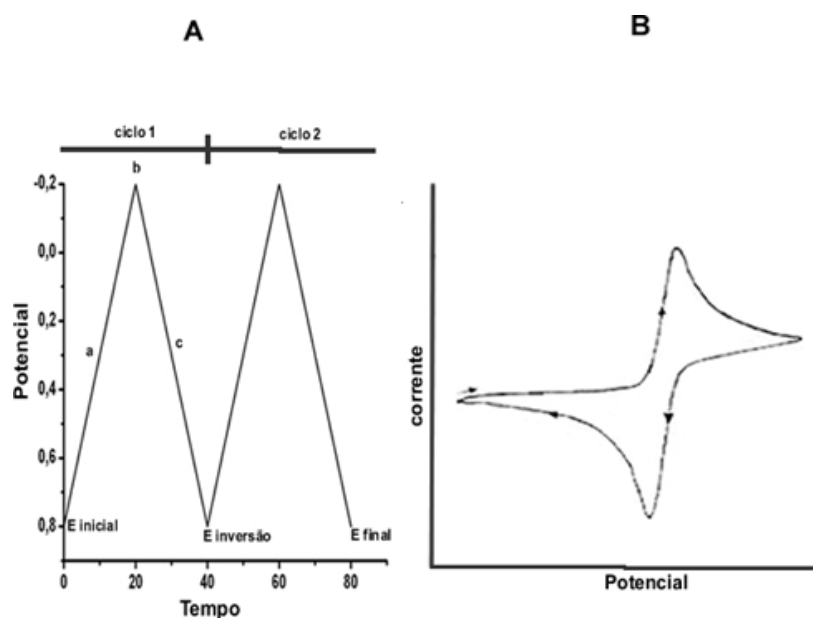


Figura 4: (A) Esquema da varredura do potencial vs tempo. (B) Voltamograma cíclico

Normalmente, a célula voltamétrica é constituída por três eletrodos: um ET (polarizável, ou seja, assume o potencial que lhe é aplicado), um ER (Ag/AgCl ou de

calomelano) e um EA ou contra-eletrodo (fio ou placa de platina, normalmente). Esses eletrodos se encontram imersos em uma solução da espécie eletroativa de interesse (espécie analítica) contendo um excesso de um eletrólito inerte (eletrólito suporte) responsável por diminuir a resistência da solução e garantir o controle difusional das espécies. Esses três eletrodos são conectados a um potenciostato que aplica potenciais num intervalo pré-definido e faz a aquisição do sinal de corrente. A análise dos voltamogramas cíclicos indica em que região de potencial ocorre determinada reação de oxidação e/ou redução de compostos eletroativos, além de indicar informações a respeito da reversibilidade das reações, da quantidade de elétrons envolvidos, da possível formação de espécies intermediárias e se o sistema é controlado por processos difusionais ou adsorptivos.

1.5.2 Amperometria

Um sensor amperométrico mede uma corrente a um potencial aplicado fixo (amperometria convencional), isto é, para um ponto na curva de corrente-potencial. Um sensor voltamétrico registra vários pontos em uma região selecionada do perfil corrente-potencial. Portanto, um sensor amperométrico é um sensor voltamétrico para um potencial fixo [54].

Na técnica amperométrica convencional (potencial constante), o eletrodo de trabalho é normalmente mantido num potencial constante adequado, no qual ocorre a oxidação ou redução eletroquímica de compostos eletroativos de interesse. Este tipo de detecção é amplamente utilizado, conforme relatado na literatura [55-62]. Esta técnica apresenta elevada detectabilidade devido à possibilidade de medição de correntes

baixíssimas (e, portanto de baixas concentrações) devido à virtual ausência de corrente capacitiva.

Uma limitação desta técnica é a falta de repetibilidade devido à adsorção de alguns subprodutos e/ou impurezas na superfície do eletrodo. Como por exemplo, na determinação eletroquímica de fenóis [63], diclofenaco [64-66] e ácido úrico [67-71], entre outros, onde ocorre a contaminação ou a passivação do eletrodo, comprometendo, assim, a taxa de transferência de carga entre o eletrodo e a espécie analítica de interesse. Além disto, também podem aparecer sinais eletroquímicos provenientes de subprodutos de reações que interferem no sinal de interesse na análise. Para a obtenção de resultados reprodutíveis durante a análise, a superfície do eletrodo deve ser limpa com frequência, quer pelo polimento mecânico ou por um procedimento de limpeza eletroquímica [72].

A amperometria também pode ser usada no modo pulsado. Esta técnica pode diminuir ou evitar os problemas em relação à contaminação ou passivação, ou ambos, da superfície do eletrodo de trabalho. No entanto, a aplicação de dois pulsos de potenciais somente possibilita a limpeza eletroquímica do eletrodo, sendo que, em muitos casos é necessário aplicar três ou mais pulsos de potenciais para realizar, além da limpeza eletroquímica, a ativação do eletrodo de trabalho com o intuito de alcançar uma boa estabilidade do sinal eletroquímico ao longo da análise [73]. Superfícies de eletrodo constantemente limpas e eletroquimicamente ativas no transcorrer da análise podem aumentar consideravelmente a obtenção de respostas estáveis, reprodutíveis e relacionáveis com a concentração do analito na solução (faixa linear de trabalho).

1.5.3 Análise por Injeção em Batelada (BIA, do inglês *Batch Injection Analysis*)

O desenvolvimento de sistemas automatizados, com alta velocidade, boa precisão, de baixo custo e com possibilidade de uso em campo se tornou essencial na química analítica devido à crescente demanda por análises rápidas de um grande número de amostras.

Em 1991, Wang e Taha [74] introduziram um procedimento analítico inovador batizado como análise por injeção em batelada (BIA, do inglês *batch injection analysis*), a qual é considerada uma forma alternativa de realização de testes rápidos. A técnica BIA envolve a injeção de uma alíquota (normalmente 100 μL) de amostra, através da ponteira de uma micropipeta, diretamente na superfície do eletrodo de trabalho (considerado como configuração wall-jet) que está imerso em um grande volume de solução. São observadas respostas transientes (picos, semelhante a um sistema FIA), refletindo a passagem da zona de amostra sobre a superfície do eletrodo de trabalho. Este procedimento possui características atraentes e semelhantes às observadas em sistemas em fluxo, como: alta velocidade de análise, sensibilidade e reprodutibilidade. Além disso, o sistema BIA apresenta algumas vantagens em relação a FIA, como eliminação de problemas relacionados com bombas ou válvulas, vazamentos, presença de bolhas no sistema, descarte excessivo de eletrólitos e adaptação do sistema a análises em campo (fora do ambiente de laboratório) [75]. Como desvantagem do BIA em relação ao FIA podemos citar a menor versatilidade na manipulação de soluções (diluições, pré-concentrações, extrações ou reações em linha).

O primeiro sistema BIA proposto por Wang e Taha [74] empregava detecção amperométrica e foi basicamente utilizada para explicar os conceitos de injeção em batelada. Tal sistema, esquematizado na Figura 5, consiste em uma célula eletroquímica

construída em acrílico. Neste sistema, o eletrodo de trabalho (A) é posicionado em um orifício na parte inferior da célula em posição invertida à habitual. Uma pipeta padrão (B) é posicionada em um orifício localizado na parte superior da célula (tampa), exatamente em frente ao centro do eletrodo de trabalho. Uma braçadeira é usada para segurar a pipeta, garantindo um posicionamento reprodutível e rápido após cada preenchimento. A distância entre a ponta da pipeta e o centro do eletrodo de trabalho foi ajustada movendo o eletrodo para cima ou para baixo. Em dois outros orifícios na tampa são posicionados os eletrodos de referência (C) e auxiliar (D) e um quarto orifício (E) é usado para introduzir o eletrólito, que pode ou não ser mantido sob agitação (F). Um dreno (G) foi adaptado próximo à base da célula.

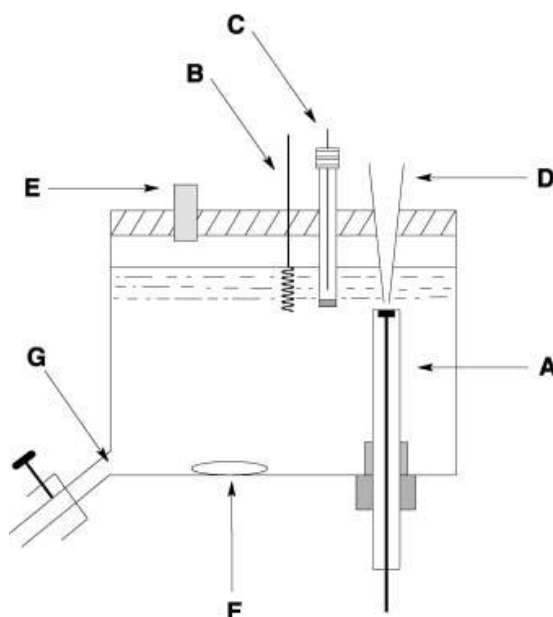


Figura 5: Diagrama esquemático de uma célula BIA: **A)** Eletrodo de Trabalho; **B)** Eletrodo Auxiliar; **C)** Eletrodo de referência; **D)** Ponteira de micropipeta; **E)** Orifício; **F)** Agitador; **G)** Drenagem. [75]

Os conceitos de um sistema BIA podem ser explicados usando as etapas apresentadas na Figura 6. Quando uma pequena alíquota de amostra (na ordem de alguns microlitros) é injetada sobre a superfície do eletrodo de trabalho ocorre a formação de uma zona que dispersa a caminho do detector, com transporte reprodutível e dispersão controlada no tempo e espaço. Isso resulta em um pico de resposta transiente seguido por uma rápida queda do sinal para a linha base em virtude do efeito de lavagem (“washing out”) da configuração “wall-jet” [76], como pode ser observado na Figura 6. A magnitude desse sinal é proporcional à concentração da amostra.

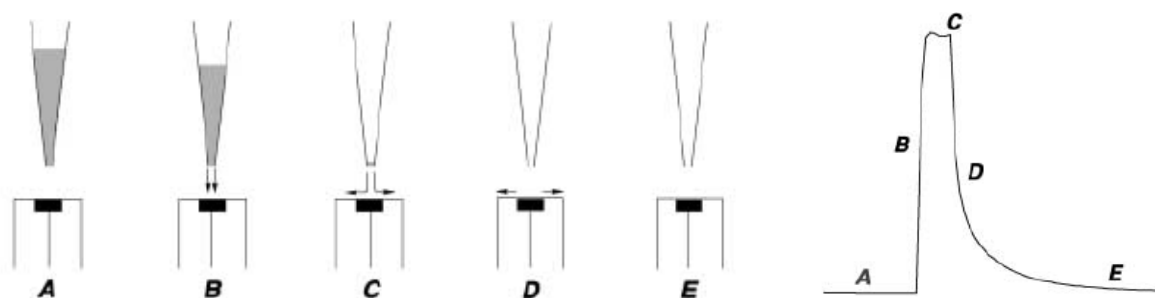


Figura 6: Etapas de um sistema BIA. **A)** Antes da injeção; **B)** Transporte durante a injeção; **C)** Final da injeção; **D)** Dispersão; **E)** Equilíbrio final. [75]

Nos primeiros estudos [74,77-80], as injeções foram feitas com uma micropipeta de operação manual e o sucesso deste procedimento era altamente dependente do operador. A introdução de pipetas eletrônicas, com dispersão programável [81,82], tornou esta operação reprodutível, mesmo para usuários inexperientes. Tais pipetas eletrônicas (automáticas) permitem a obtenção de resultados com boa precisão e melhor exatidão devido à alta reprodutibilidade do movimento do pistão [81].

O sucesso da técnica BIA tem sido atribuído à combinação de dois fatores: o princípio hidrodinâmico da superfície “wall-jet” e a alta diluição das amostras na solução presente na célula. As primeiras células desenvolvidas para BIA continham

volume relativamente grande (250 a 700 mL), garantindo assim a alta diluição das amostras (maior que 10000 vezes) injetadas em volumes na ordem de microlitros [75]. Posteriormente, foi demonstrado que experimentos empregando BIA com detecção amperométrica poderiam ser realizados com sucesso em células de menor volume, pois o efeito de memória devido ao acúmulo do analito na célula não foi observado [83]. Isso foi atribuído à hidrodinâmica singular do sensor “wall-jet”, que elimina a necessidade de uma enorme diluição. Este aspecto foi apresentado e discutido por Gunasingham *et al.* [84, 85], que demonstrou que para configuração “wall-jet” o volume efetivo da célula é determinado basicamente pelo tamanho do sensor, o diâmetro de injeção, a viscosidade e a vazão da solução, mas não pelo volume da célula. As células de volume menor mantêm as características atraentes daquelas de volume maior (≥ 200 mL), como alta velocidade das análises, precisão, simplicidade e utilização de pequenas quantidades de amostras e reagentes. A diminuição no volume da célula também contribui para o desenvolvimento de sistemas BIA portáteis.

1.5.4 BIA com detecção Amperométrica

Nos trabalhos disponibilizados na literatura que utilizam a técnica BIA, é possível perceber que a detecção amperométrica ganhou a preferência dos pesquisadores. Geralmente, para esses sistemas, o diagrama do sinal de corrente em função da distância entre eletrodo e a ponteira apresenta um aspecto típico não linear. Para distâncias muito pequenas ($\sim 0,5$ mm), a corrente é pequena e, então, aumenta até aproximadamente 2 mm. Acima deste valor, o sinal de corrente volta a diminuir. Tal fenômeno pode ser explicado de forma semelhante a da hidrodinâmica da célula wall-jet [86]. No emprego de distâncias muito pequenas entre a ponteira da micropipeta e a

superfície do eletrodo, os efeitos de retorno (fluxo reverso) são grandes e o perfil wall-jet não pode ser seguido nessa condição. Em distâncias maiores ocorre um aumento da dispersão da zona de amostra.

Um transiente de corrente BIA típico tem uma resposta constante durante um curto período de tempo, no máximo de corrente (ver Figura 6). Isto reflete a sensibilidade máxima sendo atingida, para qual um volume mínimo de injeção é requerido. Esse volume mínimo pode ser conhecido analisando os gráficos do máximo de corrente em função do volume injetado. De acordo com Brett *et al.* [86], os diagramas do intervalo de tempo (que corresponde ao patamar de corrente) em função do volume injetado são muito mais ilustrativos, fornecendo linhas retas com intersecções que correspondem ao volume mínimo necessário para atingir o patamar de corrente e, dessa forma, atingir a detectabilidade máxima.

Outro parâmetro a ser considerado em sistemas BIA é a velocidade de injeção ou vazão (V_f). Segundo a literatura há uma relação linear entre $V_f^{3/4}$ e a corrente limite (I_{Lim}) de acordo com a Equação 1 [87, 88]:

$$I_{Lim} = 1,43 \text{ nFR}_1^{3/4} V_f^{3/4} D^{2/3} v^{-5/12} a^{-1/2} c_\infty \quad \text{Equação 1}$$

Onde,

R_1 : raio do eletrodo de disco;

D : coeficiente de difusão das espécies eletroativas;

c_∞ : a concentração dessas espécies no seio da solução;

v : viscosidade da solução;

a : diâmetro da saída da ponteira.

Os parâmetros n e F apresentam seus significados usuais. Em BIA, o patamar de corrente (I_{\max}), deve ser igual a I_{Lim} quando o potencial aplicado ao eletrodo está na região de corrente limite. Sendo assim, I_{\max} deve apresentar uma relação linear com $V_f^{3/4}$ [86, 89].

Outra característica singular na operação de sistemas BIA/amperometria consiste na possibilidade do uso de soluções de amostras livres de eletrólito suporte [85, 86, 90]. Nessa operação, uma alíquota da amostra é injetada direta e rapidamente na célula, criando uma zona fina de amostra sobre o eletrodo. Neste caso, o uso de eletrólito suporte em concentrações relativamente altas no interior da célula ajuda a garantir uma queda ôhmica desprezível entre os eletrodos de trabalho e referência [86]. Esta característica demonstra que sistemas BIA apresentam um grande potencial para análises de amostras reais em que a pré-adição de eletrólito torna-se supérflua ou, ainda, para análises em meios de alta resistência (não-aquosos), conforme foi descrito para células wall-jet [84, 85]. Todavia, é importante ter em mente que, em casos não favoráveis, a variação na dupla camada elétrica pode gerar diferenças significativas nos sinais e uma queda ôhmica alta pode deslocar consideravelmente o potencial em que a reação redox de interesse ocorre.

2. OBJETIVOS DO TRABALHO

Este trabalho apresenta dois principais objetivos:

- 1° → O desenvolvimento de um método simples para a determinação simultânea de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível utilizando a técnica VC;
- 2° → O desenvolvimento de um método simples e rápido empregando BIA-AMP para a determinação de EtOH em amostras de álcool combustível e gasolina.

Neste contexto, alguns parâmetros foram estudados, tais como:

- O comportamento eletroquímico do EtOH e MetOH usando eletrodo de ouro em meio de NaOH;
- Técnica VC: Potencial inicial, de inversão e final e velocidade de varredura;
- Técnica BIA: Agitação, vazão e volume da amostra a ser injetada;
- Detecção AMP: Pulsos de potenciais a serem aplicados e tempo de aplicação de cada pulso;
- Validação dos métodos propostos: seletividade, repetibilidade, limites de detecção e quantificação e comparação dos resultados aos obtidos com um método considerado padrão.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (Dinâmica, Vetec, Proquimios) e foram utilizados sem purificação prévia.

3.2 Soluções

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada (resistividade superior a 18 MΩ cm) obtida de sistema de purificação Milli-Q.plus (Millipore).

Solução de Hidróxido de Sódio 0,5 mol L⁻¹: A solução foi preparada a partir de 20,0 g de hidróxido de sódio. O reagente foi transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 1000,0 mL e o volume completado com água deionizada.

Solução padrão contendo uma mistura de Etanol e Metanol: A solução foi preparada adicionando 1400 µL de Etanol (99,5 %) e 600 µL de MetOH (100 %) em um vial de 2,00 mL (concentração = 70 % (v/v) de EtOH e 30 % (v/v) de MetOH).

3.3 Preparo das Amostras

As amostras foram adquiridas em postos de combustíveis na cidade de Uberlândia. Uma amostra de gasolina e três amostras de EtOH combustível foram analisadas. Na análise das amostras de EtOH combustível, uma simples diluição em meio de eletrólito NaOH 0,50 mol L⁻¹ foi realizada. Na análise da gasolina, um

procedimento de extração foi necessário e a fase aquosa foi, posteriormente, diluída com NaOH. A determinação de EtOH e MetOH nas amostras foi realizada pelo método da curva analítica.

Amostras de Etanol combustível

Tabela 1: Forma de preparo das amostras de EtOH combustível analisadas no presente trabalho

Amostras	Volume de EtOH combustível (μL)	Volume de MetOH (μL)	Volume de H₂O (μL)
EA20	1600	—	400
EM20	1600	400	—
EM14	1720	280	—
EM8	1840	160	—
EM5A8	1740	100	160

EA20 = Etanol combustível adulterado com 20 % (v/v) de H₂O

EM20 = Etanol combustível adulterado com 20 % (v/v) de Metanol

EM14 = Etanol combustível adulterado com 14 % (v/v) de Metanol

EM8 = Etanol combustível adulterado com 8 % (v/v) de Metanol

EM5A8 = Etanol combustível adulterado com 5% (v/v) de Metanol e 8% (v/v) de H₂O

Amostras de gasolina

Primeiramente fez-se a extração do EtOH da gasolina misturando-se 10 mL de gasolina com 10 mL de H₂O destilada. Agitou-se levemente a solução e após alguns minutos ocorreu uma separação completa das duas fases. A fase aquosa (FA)

corresponde a uma mistura de água e EtOH e a fase não-aquosa (FNA) corresponde a uma solução de gasolina pura. Cada fase foi guardada em recipientes distintos.

Tabela 2: Forma de preparo das amostras de gasolina analisadas no presente trabalho

Amostras	Volume de Gasolina (μL)	Volume de EtOH (μL)	Volume de MetOH (μL)
GØ	150 (FA)	—	—
GM30	1400 (FNA)	—	600
GEM15	1400 (FNA)	300	300

GØ = Gasolina comum sem adulteração

GM30 = Gasolina sem EtOH e adulterada com 30% (v/v) de MetOH

GEM15 = Gasolina com 15% (v/v) de EtOH + 15% (v/v) de MetOH

3.4 Instrumentação

3.4.1 Sistema Eletroquímico

As medidas amperométricas e de voltametria cíclica foram realizadas utilizando-se o potenciostato/galvanostato $\mu\text{Autolab}$ Tipo III (Eco Chemie – Metrohm).

3.4.2 Análises Cromatográficas

As análises comparativas por CG foram realizadas utilizando o equipamento CG – 2014 (Shimadzu Gás Chromatograph) equipado com um detector de ionização em chama (FID). As condições de operação de CG foram as seguintes:

- Temperatura do forno: 40 °C;
- Temperatura do injetor: 180 °C;
- Temperatura do detector: 210 °C;

- Vazão do gás de arraste (N_2): 1 mL min^{-1} ;
- Solvente: n-heptano;
- Padrão interno: acetona (2 % (v/v));
- Volume injetado: $2 \mu\text{L}$.

3.4.3 Células Eletroquímicas

Nas medidas voltamétricas, utilizou-se uma célula convencional de vidro de 10 mL (becker). Os três eletrodos (EA, ER e ET) foram posicionados na célula com auxílio de garra de fixação.

Nos estudos em BIA foi utilizada uma célula eletroquímica cilíndrica de acrílico (diâmetro interno = 7 cm, altura = 5 cm, volume = $\approx 200 \text{ mL}$) semelhante à descrita em trabalho publicado anteriormente [91]. As injeções das soluções foram realizadas com uma micropipeta eletrônica motorizada (Eppendorf® Multipette stream). A Figura 7 ilustra um diagrama esquemático da célula BIA usada.

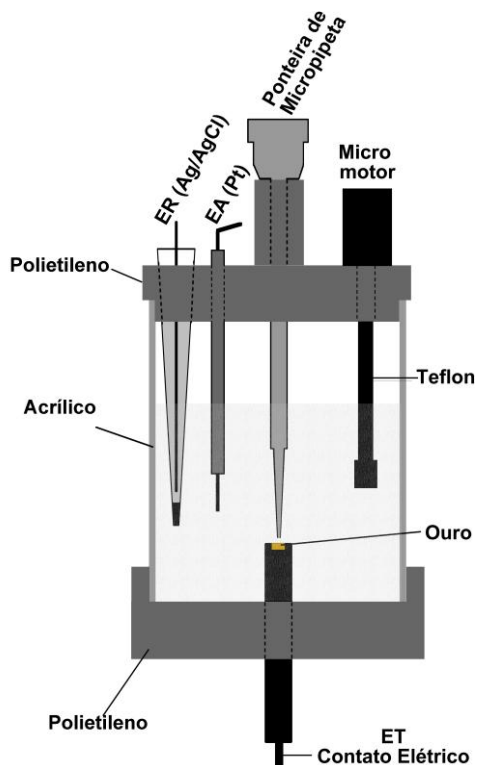


Figura 7: Esquema da célula utilizada nas análises em BIA. Volume total da célula = 190 mL

Duas tampas de polietileno foram firmemente instaladas no topo e no fundo do cilindro de acrílico. No topo, a tampa de polietileno continha quatro furos para posicionar os eletrodos auxiliar e de referência, a ponta da micropipeta (posicionada no centro da tampa) e o micro motor DC (3 – 12 V; usado em secador de cabelo ou brinquedos elétricos), que foi utilizado para a agitação da solução. O eixo do micro motor foi adaptado com uma haste de teflon.

Para a alimentação do micro motor, uma fonte universal de tensão variável (3 a 12 V) foi utilizada sendo que a velocidade de agitação depende da voltagem selecionada. A agitação proposta pode ser facilmente empregada em análises “in situ”

(substituição da fonte por pilhas comuns) e diferentes micro motores disponíveis comercialmente podem ser utilizados para esta finalidade.

A tampa inferior continha um único furo (que era precisamente posicionado no centro da tampa), no qual foi inserido o eletrodo de trabalho. A distância entre a ponteira da micropipeta eletrônica e o centro do eletrodo de trabalho foi ajustada em torno de 2 mm, como recomendado em trabalhos anteriores [75], em uma configuração do tipo wall-jet.

Na Figura 8 é apresentada a imagem da célula BIA construída.



Figura 8: Imagem da célula BIA utilizada nos estudos.

3.4.4 Eletrodo de Trabalho

Utilizou-se um eletrodo de ouro comercial, adquirido da empresa Metrohm com 3,0 mm de diâmetro, nas medidas voltamétricas e amperométricas. Na limpeza deste eletrodo usou-se o polimento manual com alumina (granulometria 0,3 μm) e posterior procedimento de limpeza com água deionizada. Como teste para verificar se o procedimento de limpeza da superfície do eletrodo foi adequado, assim como para a sua ativação, voltamogramas cíclicos sucessivos foram registrados em meio do eletrólito de NaOH 0,5 mol L⁻¹ (até a obtenção de estabilidade), na faixa de potencial entre -0,25 e +1,20 V com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

3.4.5 Eletrodo de Referência

Em todos os experimentos utilizou-se um mini eletrodo de referência Ag/ AgCl (KCl_{sat.}), preparado no próprio laboratório pela eletrodeposição de AgCl em um fio de Ag através da eletrólise de uma solução de HCl 0,10 mol L⁻¹ [92], sob corrente constante de +0,2 mA, durante 2 h, utilizando o Potenciostato/ Galvanostato da Autolab modelo μ Autolab tipo III.

3.4.6 Eletrodo Auxiliar

Utilizou-se um fio de platina como eletrodo auxiliar.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Determinação simultânea de EtOH e MetOH em álcool combustível usando voltametria cíclica (VC)

Antes do início deste projeto, o grupo do Laboratório de Instrumentação Analítica e Eletroquímica Aplicada já vinha trabalhando com eletrodo de ouro em meio alcalino ($\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e FIA (Análise por Injeção em Fluxo) com o objetivo de quantificar proteínas totais em saliva humana [48]. Durante este trabalho, diversos testes também foram realizados para verificar a possibilidade de detecção de EtOH em saliva em condição semelhante à detecção das proteínas totais. Nestes estudos foi verificado que em determinada faixa de potencial, o sistema (eletrodo de ouro em meio alcalino) apresentava sinal somente para EtOH e o MetOH não era eletroativo ou sua detectabilidade era muito inferior ao do EtOH. A partir desses resultados, estudos para determinação simultânea de EtOH e MetOH foram realizados utilizando a técnica VC. Os resultados são apresentados a seguir.

4.1.1 Comportamento eletroquímico do EtOH e MetOH empregando eletrodo de ouro em meio alcalino

Na literatura podem ser localizados trabalhos onde o foco é a determinação de EtOH usando técnicas eletroquímicas. Como eletrodos de trabalho podem ser usados materiais como cobre [29, 30, 93], ouro [94] e platina [95, 96]. Uma condição normalmente explorada para que a análise seja possível é o uso de meio alcalino. Nestes trabalhos, o eletrólito adotado foi uma solução de $\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$. No presente

trabalho, esta condição foi mantida, mas a concentração foi diminuída para $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pois os resultados obtidos foram similares.

A Figura 9 mostra o voltamograma cíclico ($E_i = +0,60 \text{ V}$; $E_s = -0,25 \text{ V}$; $E_f = +1,20 \text{ V}$) obtido com um eletrodo de ouro em meio de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ antes (—) e após a adição de $0,5 \text{ \% (v/v)}$ de EtOH (- - -) e $0,5 \text{ \% (v/v)}$ de MetOH (·····). A Figura 10 apresenta o mesmo estudo, mas com inversão na direção inicial da varredura de potencial ($E_i = +0,60 \text{ V}$; $E_s = +1,20 \text{ V}$; $E_f = -0,25 \text{ V}$).

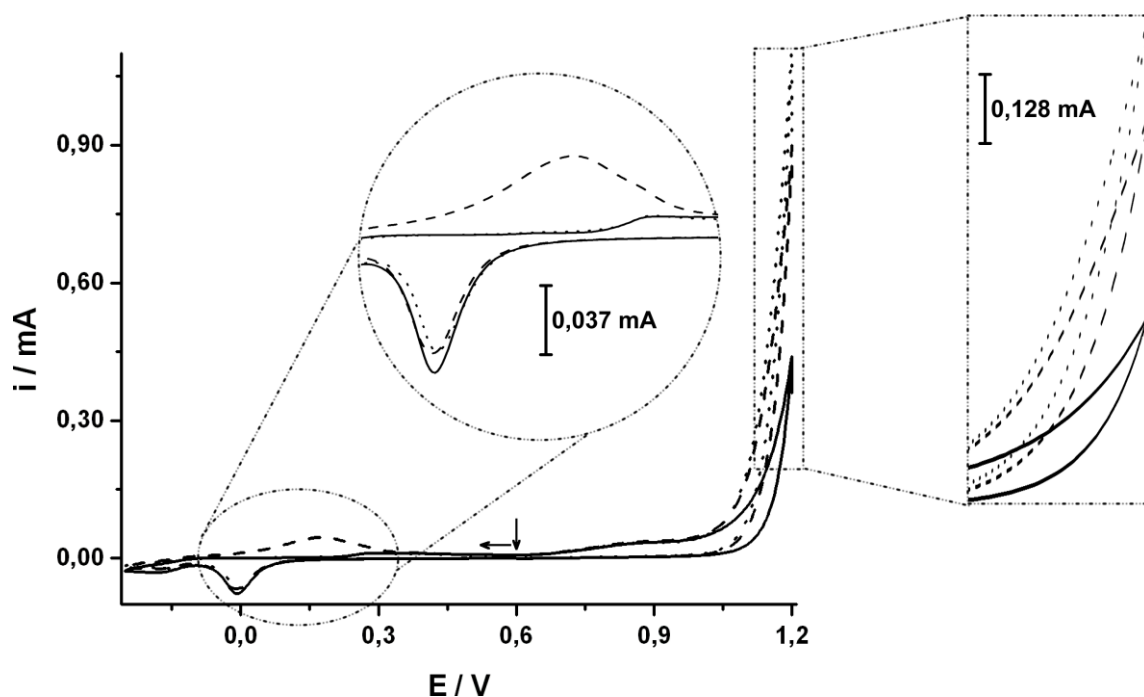


Figura 9: Voltamogramas cíclicos obtidos usando eletrodo de ouro em meio de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ sem (—) e com a adição de $0,5 \text{ \% (v/v)}$ de EtOH (- - -) ou $0,5 \text{ \% (v/v)}$ de MetOH (·····). $E_i = +0,60 \text{ V}$; $E_s = -0,25 \text{ V}$; $E_f = +1,20 \text{ V}$; Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; Incremento de potencial: 5 mV .

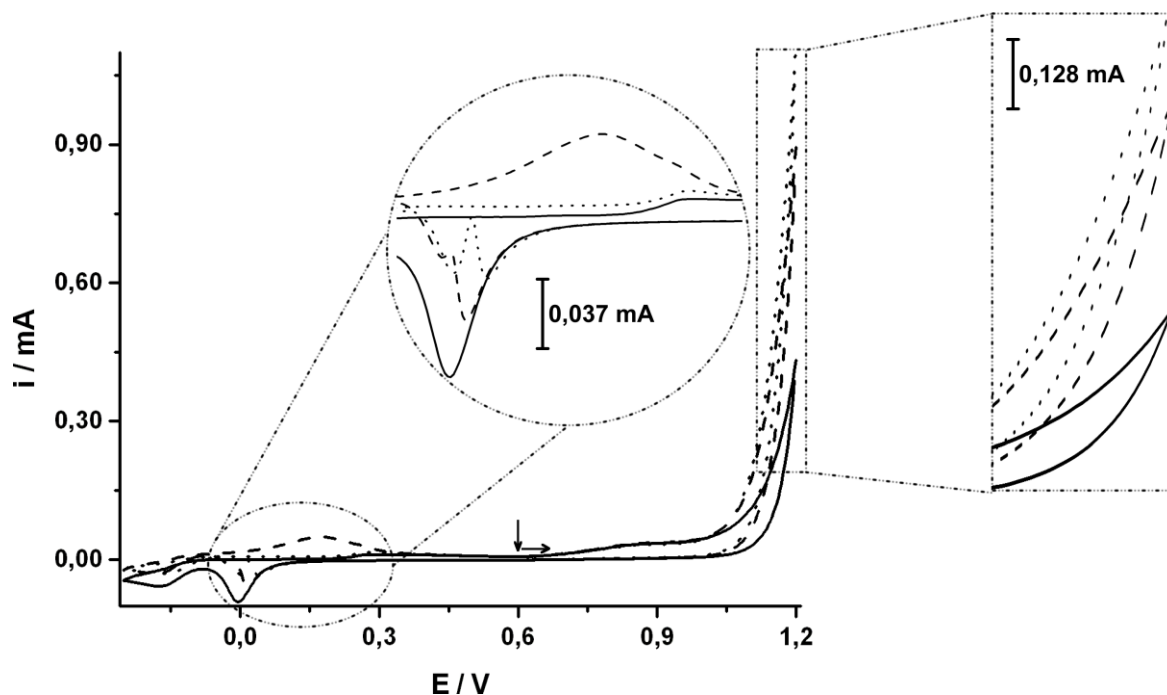


Figura 10: Voltamograma cíclico obtido usando eletrodo de ouro em meio de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ sem (—) e com a adição de 0,5 % (v/v) de EtOH (- - -) ou 0,5 % (v/v) de MetOH (·····). $E_i = +0,60 \text{ V}$; $E_s = +1,20 \text{ V}$; $E_f = -0,25 \text{ V}$; Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; Incremento de potencial: 5 mV .

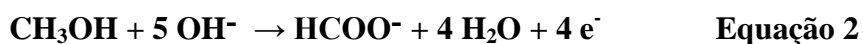
Nos voltamogramas cíclicos obtidos na presença de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, um pico anódico é observado em potenciais mais positivos do que $+0,70 \text{ V}$, o que corresponde à formação de óxido de ouro. Na varredura inversa, um pico catódico é observado próximo a $+0,00 \text{ V}$, o que correspondente à redução do óxido de ouro formado em potenciais mais positivos que $+0,70 \text{ V}$ [35]. Na presença de EtOH, um pico de oxidação é observado próximo a $+0,19 \text{ V}$ e outro em potenciais superiores a $+1,00 \text{ V}$. Por outro lado, o MetOH somente é oxidado em potenciais superiores a $+1,00 \text{ V}$, sendo eletroinativo em $+0,19 \text{ V}$ nesta condição experimental (em concentrações muito superiores, o MetOH pode apresentar sinal nesta região de potencial). Este

comportamento eletroquímico é observado independentemente do sentido inicial de varredura.

Outra diferença no comportamento eletroquímico pode ser observada somente se o sentido inicial de varredura for em direção a potenciais mais positivos (formação do óxido de ouro antes da varredura em direção a potenciais mais negativos). Na presença de EtOH ou MetOH, o pico de redução do óxido de ouro próximo a +0,00 V varia consideravelmente, o que se deve a interação do EtOH e MetOH com o óxido de ouro formado. Em resumo, pode-se concluir que em +0,19 V, apenas o EtOH é eletroativo e em potenciais próximos a +0,00 V e maiores do que +1,00 V, ambos os compostos são eletroativos. Além disto, em +1,20 V, o sinal para a oxidação do MetOH é consideravelmente maior do que na oxidação do EtOH.

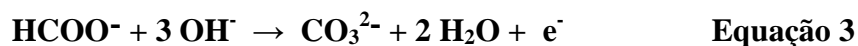
Reação da Eletro Oxidação do Metanol na Superfície do Eletrodo de Ouro em Meio Alcalino

Nos voltamogramas cíclicos apresentados em meio de NaOH 0,5 mol L⁻¹ foi possível observar um aumento significativo da corrente de oxidação em potenciais muito positivos (maiores que +1,00 V) para soluções contendo MetOH. Nesta condição, segundo a literatura [34], a reação de oxidação do MetOH envolve inicialmente a formação de íons formiato de acordo com a Equação 2.



Essa reação ocorre imediatamente antes do pequeno aumento de corrente observado no voltamograma contendo somente o branco (NaOH 0,5 mol L⁻¹) que é referente à formação de AuO e/ou oxidação do eletrólito gerando oxigênio. Em

potenciais mais positivos, o voltamograma cíclico mostra uma corrente mais elevada de oxidação (em torno de +1,20 V), que é atribuído à oxidação do formiato a carbonato de acordo com a Equação 3.



Reação da Eletro Oxidação do Etanol na Superfície do Eletrodo de Ouro em Meio Alcalino

Diferentemente do MetOH que na faixa de concentração estudada somente é oxidado em potenciais acima de +1,00 V, o EtOH é oxidado em duas regiões distintas na janela de potencial e faixa de concentração estudados. Segundo a literatura [94, 97], em torno de +0,20 V, o EtOH é parcialmente oxidado a acetato podendo formar também acetaldeído em uma etapa intermediária. Esta etapa ocorre sobre o eletrodo de ouro sem a prévia formação de AuO [94] e o composto tem a tendência de adsorver na superfície do eletrodo e levar a perda de atividade do mesmo. A reação em questão é apresentada na Equação 4.



Em potenciais acima de +1,00 V também foi observado (assim como para o MetOH) um aumento significativo da corrente de oxidação para soluções contendo EtOH, o que pode ser atribuído a formação de dióxido de carbono [94] ou de carbonatos [98].

4.1.2 Estudos para determinação simultânea de MetOH e EtOH usando voltametria cíclica

A partir dos resultados apresentados, estudos para verificar a possibilidade de determinação simultânea de EtOH e MetOH foram realizados. A estratégia usada neste trabalho foi a detecção de EtOH em +0,19 V (sem interferência de MetOH) e detecção de ambos os álcoois em +1,20 V. A subtração da corrente detectada nas duas regiões de potenciais pode ser considerada como sendo a corrente proveniente da oxidação de MetOH ($I_{\text{MetOH}} = I_{+1,20 \text{ V}} - I_{+0,19 \text{ V}}$).

A Figura 11 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos antes e após a adição sucessiva de alíquotas de 10 μL de EtOH (99,5%) à célula eletroquímica contendo 10 mL de NaOH 0,5 mol L^{-1} e 0,1 % (v/v) de MetOH.

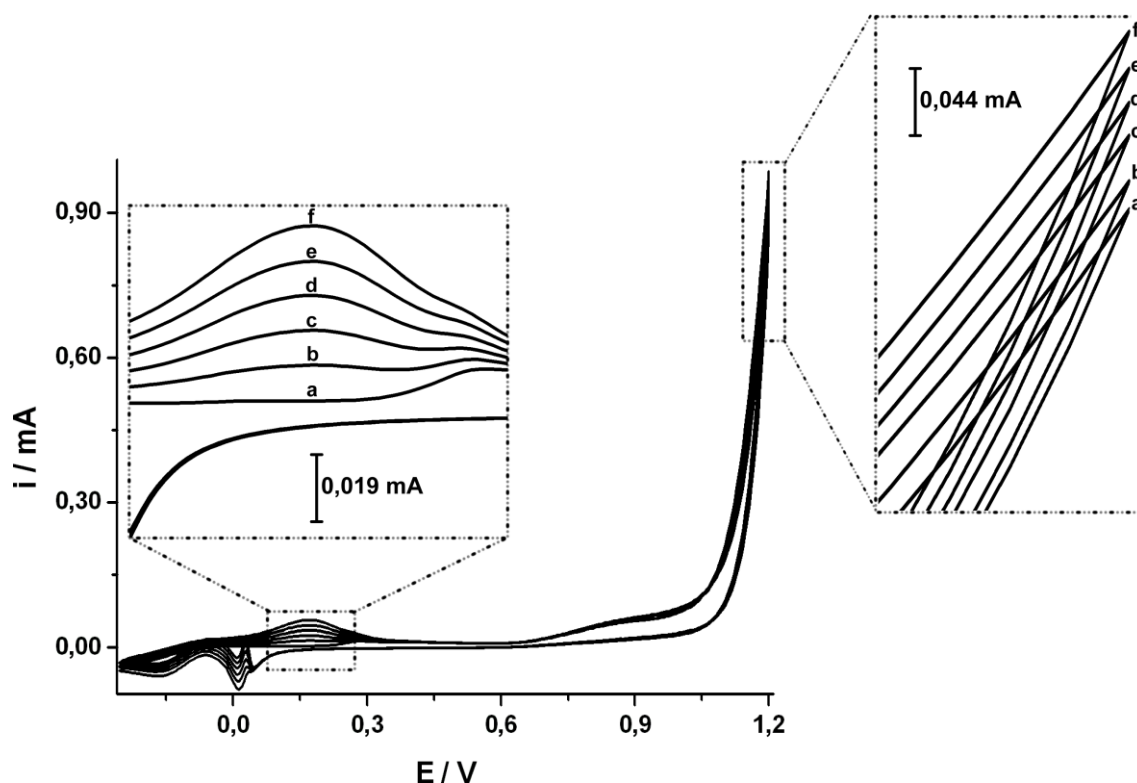


Figura 11: Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções contendo concentrações crescentes de EtOH (a – f: 0 a 0,5 % (v/v)) em meio de NaOH 0,5 mol L^{-1} contendo

0,1 % (v/v) de MetOH; $E_i = +0,60$ V; $E_s = +1,20$ V; $E_f = -0,25$ V; Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; Incremento de potencial: 5 mV.

Estudos prévios demonstraram que a presença de MetOH em baixa concentração no eletrólito suporte gerou melhor linearidade entre concentração e corrente de oxidação de EtOH em +1,20 V. Além disto, o fator de correção (discutido posteriormente neste texto) também passou a apresentar menor desvio padrão relativo (DPR) nesta condição. A Figura 12 apresenta as curvas analíticas obtidas a partir da oxidação do EtOH em +0,19 e +1,20 V numa faixa de concentração entre 0,1 e 0,5 % (v/v).

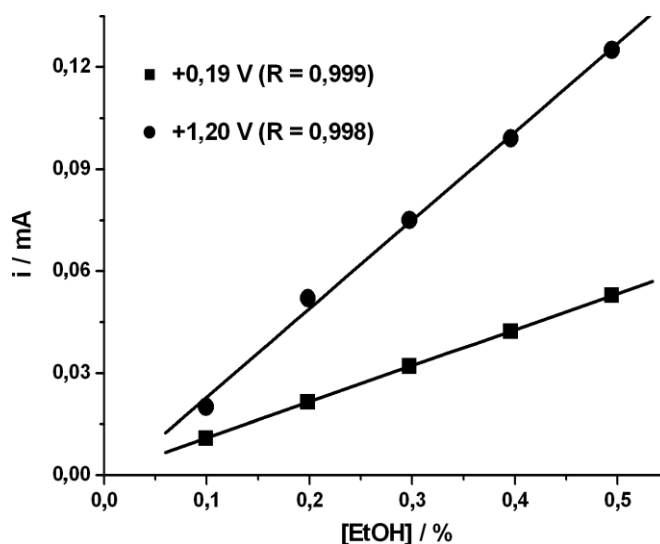


Figura 12: Curvas analíticas obtidas com as correntes de oxidação de EtOH em +0,19 e +1,20 V a partir dos voltamogramas cíclicos da Fig. 11.

As seguintes equações foram obtidas:

- +0,19 V → $Y \text{ (mA)} = 0,00033 + 0,10606 C \text{ (\%, v/v)}$
- +1,20 V → $Y \text{ (mA)} = -0,00308 + 0,26011 C \text{ (\%, v/v)}$

Os coeficientes de correlação obtidos foram 0,999 e 0,998 em +0,19 e +1,20 V, respectivamente. Observando a Figura 12 é possível perceber que a corrente de

oxidação do EtOH não possui a mesma intensidade em +0,19 e +1,20 V e a simples subtração de corrente ($I_{\text{MetOH}} = I_{+1,20 \text{ V}} - I_{+0,19 \text{ V}}$) não dá acesso a corrente proveniente da oxidação do MetOH. A estratégia usada para contornar esta limitação é semelhante à usada em trabalhos do grupo realizados anteriormente na determinação simultânea de paracetamol e cafeína [99] ou ácido ascórbico e aspirina [100]. Assim, os resultados apresentados nas Figuras 11 e 12 também foram usados para calcular o fator de correção (e verificar se é constante) existente entre as correntes de oxidação do EtOH detectadas nos potenciais de +1,20 e +0,19 V, que pode ser calculado a partir da equação 5:

$$\text{Fator de correção} = I_{\text{EtOH em } +1,20 \text{ V}} / I_{\text{EtOH em } +0,19 \text{ V}} \quad \text{Equação 5}$$

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 3: Variação do *fator* ($I_{\text{EtOH em } +1,20 \text{ V}} / I_{\text{EtOH em } +0,19 \text{ V}}$) em função da concentração de EtOH.

EtOH (% (v/v))	$I_{+1,20 \text{ V}}$ (mA)	$I_{+0,19 \text{ V}}$ (mA)	*Fator de correção
0,1	0,026	0,011	2,36
0,2	0,052	0,021	2,43
0,3	0,075	0,032	2,34
0,4	0,099	0,042	2,34
0,5	0,125	0,053	2,37

$$\text{*Fator} = I_{+1,20 \text{ V}} / I_{+0,19 \text{ V}}$$

Os resultados apresentados na Tabela 3 demonstram que o *fator de correção* ($I_{\text{EtOH em } +1,20 \text{ V}} / I_{\text{EtOH em } +0,19 \text{ V}}$) a ser usado para identificar a corrente proveniente da oxidação do MetOH em +1,20 V é relativamente constante na faixa de concentração

estudada (entre 0,1 e 0,5 % (v/v)). Nesta faixa de concentração de EtOH, o valor médio foi calculado em $2,37 \pm 0,04$, o que corresponde a um desvio padrão relativo de 1,7 %.

A determinação simultânea proposta somente é viável na faixa de concentração de MetOH onde também existe uma relação linear entre concentração e a corrente de oxidação do MetOH em +1,20 V. A Figura 13 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos antes e após a adição sucessiva de alíquotas de 3 μL de MetOH (100 % (v/v)) à célula eletroquímica contendo 10 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹ e 0,1 % (v/v) de MetOH.

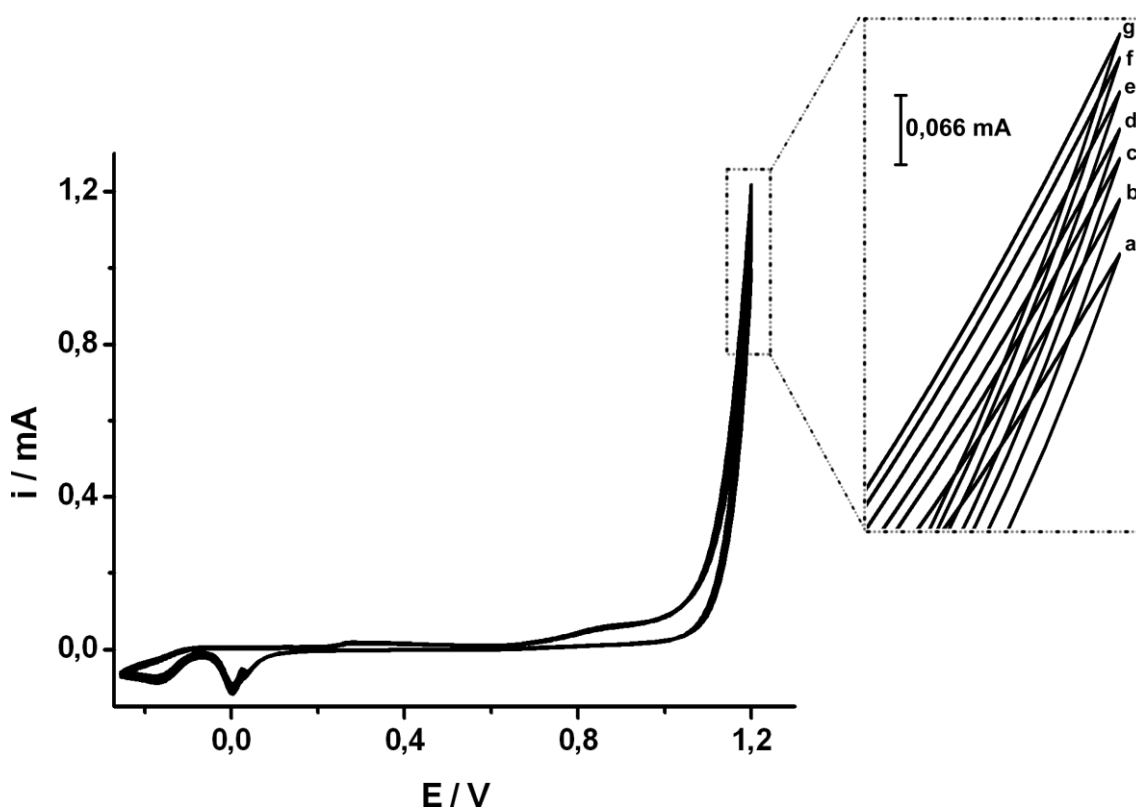


Figura 13: Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções contendo concentrações crescentes de MetOH (b – g: 0,03 a 0,18 % (v/v)) em meio de NaOH 0,5 mol L⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH (a); $E_i = +0,60$ V; $E_s = +1,20$ V; $E_f = -0,25$ V; Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹; Incremento de potencial: 5 mV.

A Figura 14 apresenta a curva analítica obtidas a partir da oxidação do MetOH em +1,20 V numa faixa de concentração entre 0,03 e 0,18 % (v/v).

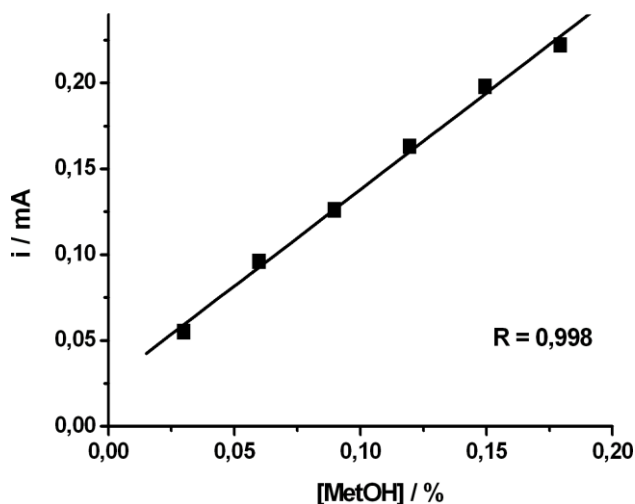


Figura 14: Curva analítica obtida com as correntes de oxidação de MetOH em +1,20 V a partir dos voltamogramas cíclicos da Figura 13.

A seguinte equação foi obtida:

- +1,20 V \rightarrow $Y \text{ (mA)} = 0,02544 + 1,12548 C \text{ (\%, v/v)}$

O coeficiente de correlação obtido foi 0,998, comprovando assim a linearidade do MetOH na faixa de concentração de 0,03 a 0,18 % (v/v).

4.1.3 Estudo da Repetibilidade do método

Para avaliar a repetibilidade do método, uma série de 8 varreduras sucessivas com uma solução contendo simultaneamente 0,14 e 0,06 % (v/v) de EtOH e MetOH, respectivamente, foram realizadas usando as condições otimizadas anteriormente.

O método apresentou uma boa repetibilidade, com desvio padrão relativo de 0,4 % em +0,19 V e de 1,8 % em +1,20 V.

4.1.4 Curva Analítica para determinação simultânea de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível

A Figura 15 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos antes e após a adição sucessiva de alíquotas de 10 μL de uma solução contendo simultaneamente EtOH e MetOH (70 e 30 % (v/v), respectivamente) à célula eletroquímica contendo 10 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹ e 0,1 % (v/v) de MetOH.

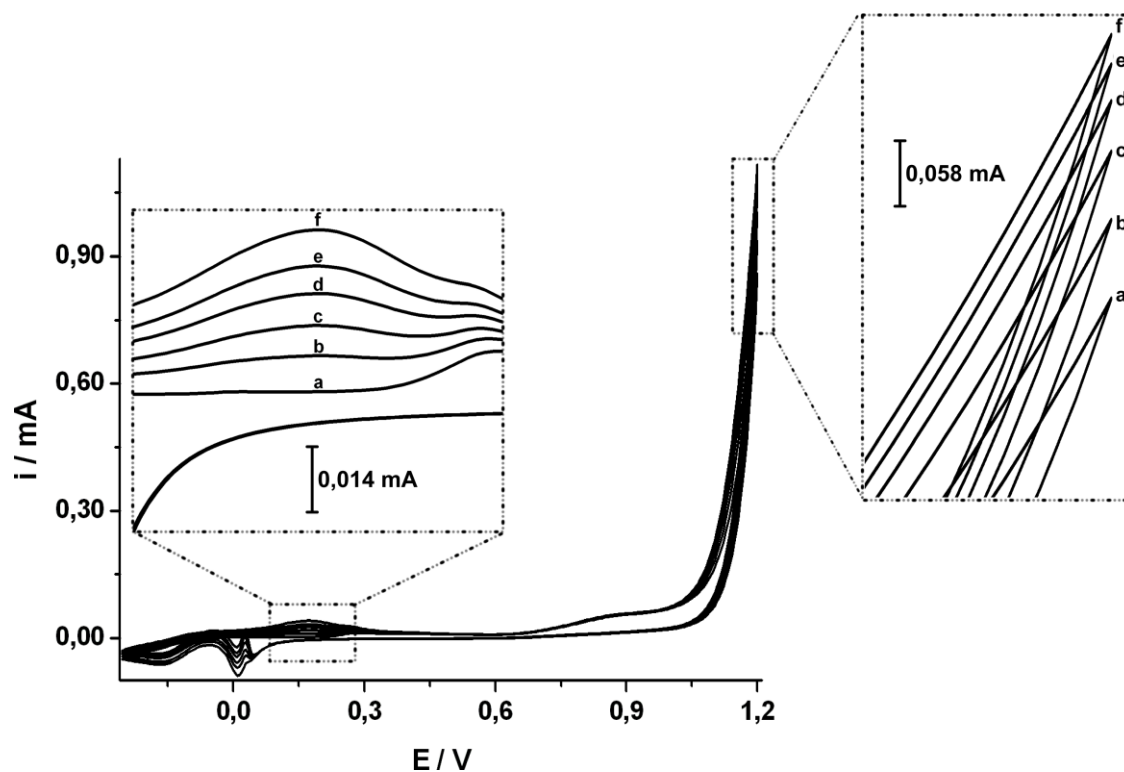


Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções contendo concentrações crescentes (b – f) de EtOH (0,070 a 0,346% (v/v)) e MetOH (0,030 a 0,149% (v/v)) em meio de NaOH 0,5 mol L⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH (a). $E_i = +0,60 \text{ V}$; $E_s = +1,20 \text{ V}$; $E_f = -0,25 \text{ V}$; Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; Incremento de potencial: 5 mV. Eletrodo de trabalho: ouro.

A Figura 16 apresenta a curva analítica obtida para EtOH com os valores de correntes em +0,19 V (detecção de EtOH somente) dos voltamogramas cíclicos da Figura 15.

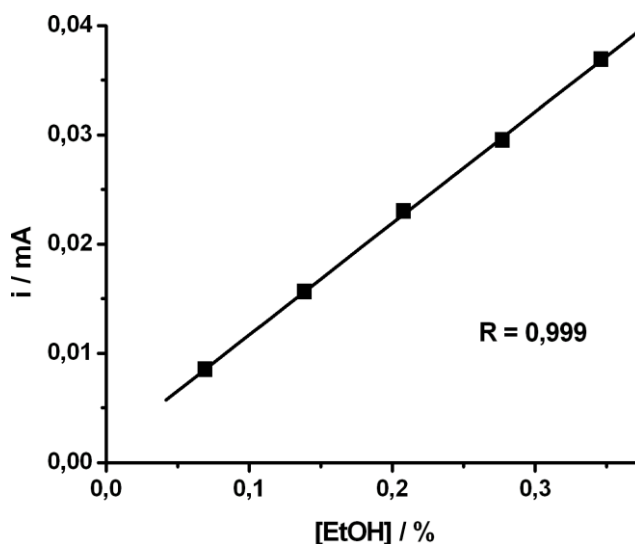


Figura 16: Curva analítica obtida para EtOH em meio de NaOH 0,5 mol L⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH. Dados obtidos a partir da Figura 15.

A curva analítica foi linear no intervalo entre 0,070 ae 0,346 % (v/v) e a seguinte equação foi obtida:

$$Y \text{ (mA)} = 0,00144 + 0,10222 C \text{ (% (v/v))} ; \quad R = 0,999$$

A Figura 17 apresenta a curva analítica para MetOH. As correntes usadas para a construção da curva analítica do MetOH foram obtidas da seguinte forma (a partir da Figura 15):

$$I_{\text{MetOH}} = I_{+1,20\text{V}} - (I_{+0,19\text{V}} \times \textit{fator}) \quad \textbf{Equação 7}$$

O fator usado nesta equação foi calculado nos estudos apresentados na Figura 11 e Tabela 3. A curva foi linear no intervalo de 0,030 a 0,149 % (v/v) e a seguinte equação foi obtida:

$$Y \text{ (mA)} = 0,03003 + 1,1094 C \text{ (\% (v/v))}; \quad R = 0,993$$

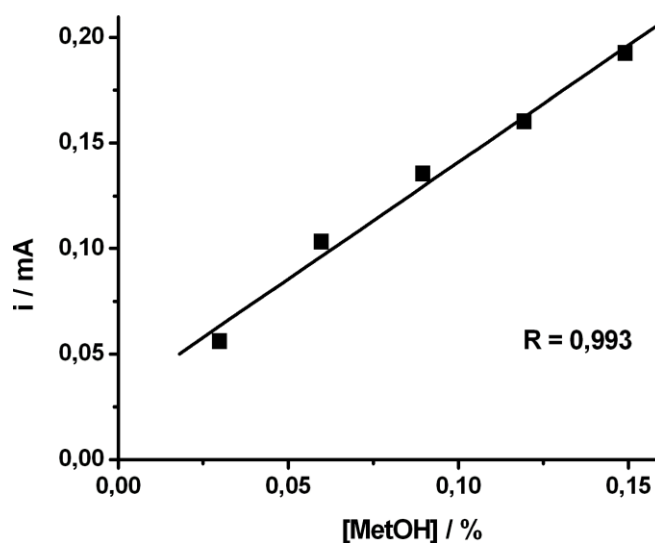


Figura 17: Curva analítica obtida para o MetOH em meio de NaOH 0,5 mol L⁻¹ contendo 0,1 % (v/v) de MetOH. Dados obtidos a partir da Figura 15.

O LD e LQ foram calculados, respectivamente, em 0,028 e 0,093% (v/v) para EtOH e em 0,045 e 0,149 % (v/v) para MetOH.

O método proposto foi aplicado na determinação simultânea de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível obtidas em postos de combustíveis locais e os resultados foram comparados aos obtidos por CG. A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos empregando o método proposto e o comparativo.

Tabela 4: Resultados obtidos na determinação de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível por cromatografia gasosa (CG) e voltametria cíclica (VC).

Amostras	Concentração adicionada	[EtOH] [*] / % (v/v)		[MetOH] [*] / % (v/v)	
		CG	VC	CG	VC
1a	0	97 ± 3	100 ± 5	< LD	2 ± 2
1b	5 % (v/v) MetOH + 8 % (v/v) H ₂ O	63 ± 10	86 ± 8	3 ± 2	6 ± 1
2a	0	97 ± 4	100 ± 3	< LD	1 ± 2
2b	8 % (v/v) MetOH	86 ± 5	92 ± 6	8 ± 2	8 ± 2
3a	0	97 ± 3	96 ± 2	< LD	< LD
3b	14 % (v/v) MetOH	81 ± 6	84 ± 7	14 ± 2	14 ± 2

^{*}Média de três análises

Pelos resultados apresentados na Tabela 4 constata-se que o método proposto apresenta resultados similares aos obtidos por CG. Os resultados obtidos por ambos os métodos foram comparados estatisticamente usando o “teste t de Student” [101]. Os resultados médios ($n = 3$) de ambos os métodos não apresentam diferença significativa em um nível de confiança de 95 %. O $t_{\text{calculado}}$ foi inferior ao t_{tabelado} (2,78) em todas as determinações de MetOH. Em relação ao EtOH, na amostra 1b, o $t_{\text{calculado}}$ foi superior ao t_{tabelado} , o que pode ser explicado pela maior quantidade de água presente na amostra, levando ao resultado não satisfatório com a técnica de CG, uma vez que a temperatura utilizada na coluna (40 °C) é inferior à temperatura de ebulição da água.

4.2 Determinação de EtOH em álcool combustível e em gasolina usando BIA com detecção amperométrica

4.2.1 Estudos para definição dos pulsos de potenciais a serem usados

No início do projeto de mestrado, inúmeros estudos foram realizados com o intuito de determinar simultaneamente EtOH e MetOH empregando análise por injeção em fluxo com detecção AMP (FIA-AMP). A determinação seria realizada de uma forma semelhante a outros trabalhos do grupo com amostras farmacêuticas contendo, por exemplo, paracetamol e cafeína [99] ou ácido ascórbico e aspirina [100]. Conforme descrito na parte inicial deste trabalho, o EtOH pode ser detectado próximo a +0,19 V (sem interferência de MetOH) e ambos os compostos em +1,20 V. No entanto, o eletrodo de ouro em meio alcalino apresentou uma corrente capacitiva excessivamente alta quando pulsos de potenciais foram aplicados com esta amplitude (em torno de 1 V), sendo que os resultados obtidos nesta condição não foram reprodutíveis.

Com a implementação do sistema de agitação da solução no sistema BIA (uso de um micro motor DC), os estudos foram direcionados ao desenvolvimento de um método simples que permitisse a determinação de EtOH “in situ” (possibilidade de análise em campo). Usando o método BIA é possível determinar EtOH sem a interferência de MetOH fixando um potencial onde ocorre somente a oxidação do EtOH. A Figura 18 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos em meio de NaOH 0,5 mol L⁻¹ antes (—) e após a adição de 0,5 % (v/v) de EtOH (- - -) ou de 0,5 % (v/v) de MetOH (·····) onde isto pode ser facilmente observado. Este estudo foi realizado em uma faixa de potencial diferente dos resultados apresentados na Figura 9.

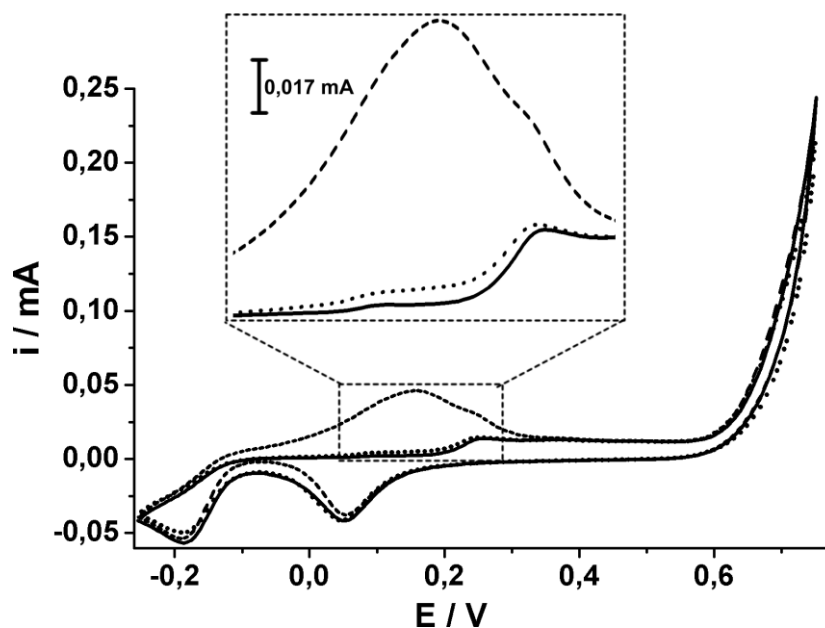


Figura 18: Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de ouro em solução NaOH 0,5 mol L⁻¹ antes (—) e depois da adição de 0,5 % (v/v) de etanol (- - -) ou metanol (····). $E_i = +0,60$ V; $E_s = +0,75$ V; $E_f = -0,25$ V; Velocidade de varredura = 50 mV s⁻¹; Incremento de potencial: 5 mV.

Empregando um sistema BIA com detecção amperométrica na determinação de EtOH, a opção mais simples é a aplicação de um potencial constante na região de potencial onde ocorre a taxa máxima de oxidação do EtOH (+0,18 V vs Ag/ AgCl). Portanto, o potencial constante de +0,18 V foi adotado na determinação de EtOH usando BIA.

A Figura 19A apresenta os resultados obtidos com injeções sucessivas ($n = 10$) de soluções contendo 0,1 % (v/v) (a) ou 0,5 % (v/v) (b) de EtOH no sistema BIA com detecção amperométrica convencional (potencial constante = +0,18 V).

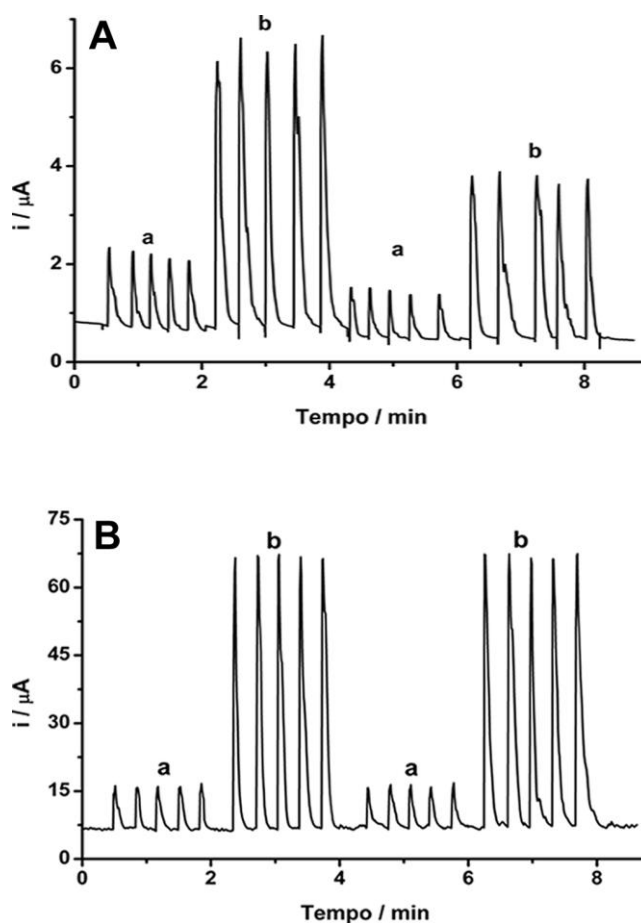


Figura 19: Comparação entre os resultados obtidos por BIA (sob agitação) com detecção amperométrica convencional (A) e amperometria pulsada (B) na injeção sucessiva de soluções contendo 0,1 % (v/v) (a) e 0,5 % (v/v) (b) de EtOH. Potenciais aplicados: (A) apenas +0,18 V; (B) +0,18 V/ 100 ms; +0,70 V/ 300 ms e -0,25 V/ 300 ms; Eletrólito: NaOH 0,5 mol L⁻¹; Vazão: 4 mL min⁻¹; Volume de injeção: 100 μL .

Quando a amperometria convencional (Fig. 19A) foi empregada (+0,18 V vs Ag/ AgCl), a resposta relacionada com a oxidação do EtOH diminuiu progressivamente com injeções sucessivas de soluções contendo 0,1 % (v/v) de EtOH (a) e drasticamente com soluções contendo 0,5 % (v/v) de EtOH (b). O DPR foi calculado em 6,4 e 8,1 %,

respectivamente. Como descrito na literatura [94], o produto da oxidação do EtOH (provavelmente o aldeído correspondente) adsorve fortemente na superfície do ouro e sua acumulação leva à perda de atividade do eletrodo.

No entanto, se a amperometria pulsada é utilizada (Fig 19B), um segundo pulso de potencial (+0,70 V) também pode ser aplicado alternadamente (“constantemente”) em função do tempo e as espécies adsorvidas são oxidadas a dióxido de carbono (procedimento de limpeza), simultaneamente com a formação de AuO na superfície do eletrodo de ouro. Sendo assim, novos experimentos foram realizados empregando amperometria pulsada com aplicação de três pulsos de potenciais sequenciais e cíclicos em função do tempo [94], usando ouro como eletrodo de trabalho e NaOH 0,5 mol L⁻¹ como eletrólito suporte:

- +0,18 V/ 100 ms: oxidação do EtOH e adsorção do produto de oxidação na superfície do eletrodo;
- +0,70 V/ 300 ms: oxidação de espécies adsorvidas (procedimento de limpeza) e formação do AuO;
- -0,25 V/ 300 ms: remoção por redução eletroquímica da camada de AuO (processo de reativação/limpeza do eletrodo).

Após a utilização da amperometria pulsada com a aplicação dos pulsos de potenciais mencionados acima, o sistema começou a apresentar boa reprodutibilidade nas correntes de oxidação do EtOH (Figura 19B), com um DPR calculado em 1,6 e 0,6 % para soluções contendo 0,1 (a) e 0,5 % (v/v) (b) de EtOH, respectivamente.

4.2.2 Comparação entre os resultados obtidos por BIA com e sem agitação da solução na célula

Experimentos BIA podem ser realizados com ou sem agitação da solução presente na célula eletroquímica. No entanto, se for usada detecção AMP com eletrodo de ouro em meio alcalino, a corrente de pico é influenciada consideravelmente pela agitação da solução como se pode observar na Figura 20.

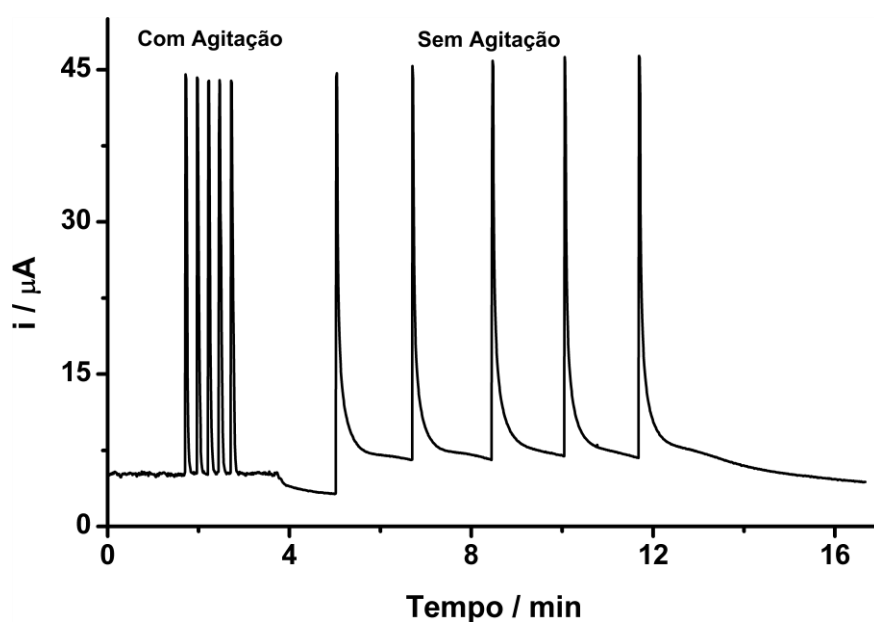


Figure 20: Comparação entre os resultados obtidos por BIA com detecção amperométrica pulsada com e sem agitação da solução. Solução injetada: 0,5 % (v/v) de EtOH; Potenciais aplicados: +0,18 V/ 100 ms, +0,70 V/ 300 ms e -0,25 V/ 300 ms; Eletrólito: NaOH 0,5 mol L⁻¹; Vazão: 4 mL min⁻¹; Volume de injeção: 100 μL.

Com a solução sob agitação (uso de um micro motor DC), uma injeção foi possível a cada 20 s, o que permite alta frequência analítica (~180 injeções h⁻¹). No entanto, com o sistema sem agitação, a frequência analítica foi bem inferior

(~30 injeções h^{-1}), uma vez que foram necessários mais de 100 s para que o pico gerado em cada injeção retornasse à linha base e uma nova injeção fosse possível. Provavelmente, isso ocorre porque a limpeza periódica e o procedimento de ativação são mais eficazes se a solução é agitada constantemente. Neste caso, os produtos gerados durante a etapa de limpeza são rapidamente removidos da superfície do eletrodo de trabalho. É importante ressaltar que o procedimento de agitação proposto neste trabalho (usando um micro motor DC) pode ser facilmente utilizado em análises “*in situ*”. A precisão do sistema BIA é melhor com a solução sob agitação do que estática (DPR = 0,4 e 1,4 %, respectivamente; $n = 5$).

4.2.3 Estudo do sinal amperométrico obtido no sistema BIA-AMP em função da velocidade de injeção e da intensidade da agitação da solução presente na célula eletroquímica

Estudos do efeito da vazão da pipeta eletrônica e da agitação da solução presente na célula BIA sobre as correntes de oxidação do EtOH também foram investigados. A Figura 21 mostra os sinais amperométricos da oxidação do EtOH obtidos em função da variação da velocidade de injeção da pipeta eletrônica (2; 4 e 6 mL min^{-1} - a; b; c, respectivamente), e da agitação da solução (3; 5; 7 e 9 V - A; B; C; D, respectivamente). Até o momento, o grupo ainda não conseguiu implementar uma unidade de medida à velocidade de agitação empregando o micro motor DC.

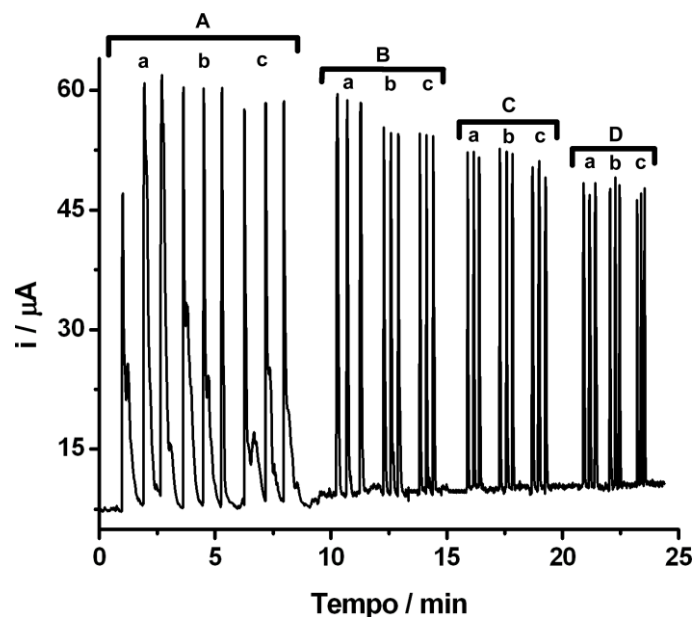


Figura 21: Estudo do efeito da velocidade de injeção (a, b, c) e da velocidade de agitação (A, B, C, D) sobre o sinal de oxidação do EtOH no sistema BIA-AMP. Solução injetada: 0,5 % (v/v) de EtOH ($n = 3$). Velocidade de agitação: aplicação de 3 (A), 5 (B), 7 (C) e 9 (D) V ao micro motor DC; Velocidade de injeção: 2 (a), 4 (b) e 6 (c) mL min^{-1} . Potenciais aplicados: +0,18 V/ 100 ms, +0,70 V/ 300 ms e -0,25 V/ 300 ms; Eletrólito: NaOH 0,5 mol L^{-1} ; Volume de injeção: 100 μL .

Seguem algumas conclusões em relação aos resultados apresentados na Figura 21:

- O aumento na velocidade de agitação da solução na célula gera uma pequena queda na corrente de oxidação do EtOH no sistema, o que, provavelmente, está relacionado com a remoção (por convecção) de parte do EtOH injetado antes de entrar em contato com a superfície do eletrodo. A quantidade removida vai aumentando à medida que aumenta a velocidade de agitação;

- Em velocidades de agitação lentas (Fig. 21 A), a homogeneização da solução é lenta e os resultados gerados não são reprodutíveis (picos deformados), independentemente da velocidade de injeção usada com a pipeta eletrônica;
- Na definição da velocidade de injeção e de agitação a serem usadas nos experimentos foram considerados os parâmetros frequência analítica (que é tanto maior quanto mais rápido o pico retorna a linha base) e repetibilidade do sinal detectado, que depende do número de aquisições de corrente durante um pico transiente;
- A condição adotada foi a da Fig. 21Bb (velocidade de agitação: micro motor DC em 5 V; velocidade de injeção: 4 mL min⁻¹), pois apresentou melhor estabilidade (repetibilidade) de resposta. Nesta condição, um pico transiente tem uma duração em torno de 20 segundos. Como uma aquisição é realizada a cada 700 ms (100 + 300 + 300), um pico de 20 segundos de duração tem em média 28 pontos de aquisição de corrente.

4.2.4 Curvas analíticas para quantificação de EtOH em amostras de combustíveis

A Figura 22 apresenta o amperograma obtido com a injeção de soluções contendo EtOH em ordem crescente (a – e) e decrescente (e – a) de concentração (0,1 a 0,5 % (v/v)). Além disto, também foram injetadas três amostras, adequadamente diluídas, de EtOH combustível (A, B, C) e três de gasolina (D, E, F).

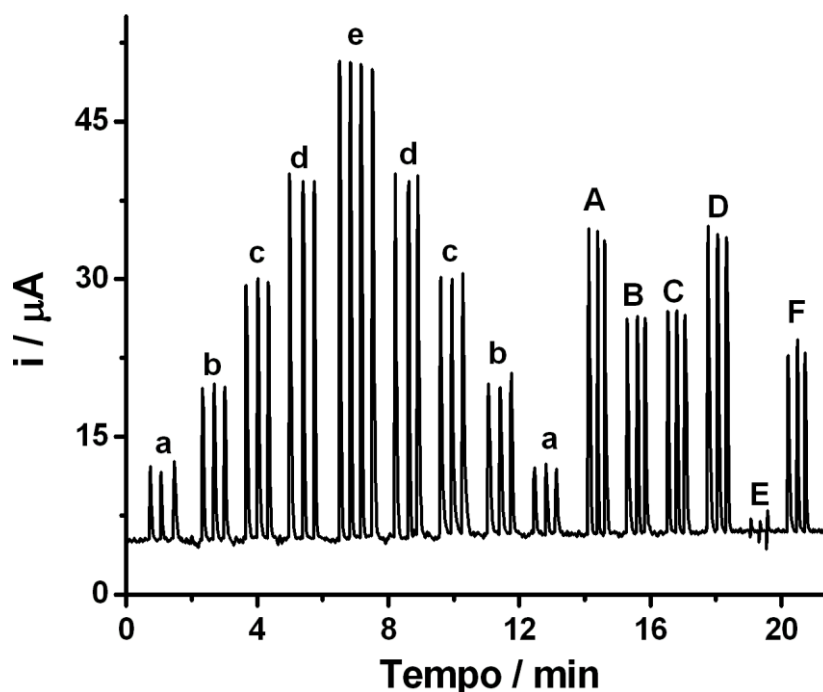


Figura 22: Amperogramas obtidos com o sistema BIA-AMP após injeções de 5 soluções contendo concentrações crescentes e decrescentes de etanol (a – e: 0,1 a 0,5 % (v/v)), 3 amostras de etanol combustível (A – C) e 3 amostras de gasolina (D – F). Eletrólito: NaOH 0,5 mol L⁻¹; Vazão: 4 mL min⁻¹; Volume injetado: 100 μL.

Na construção das curvas analíticas (Figura 23) usou-se o valor médio das correntes de oxidação adquiridas com cada solução padrão contendo EtOH. A curva foi linear na faixa de concentração entre 0,1 a 0,5 % (v/v) de EtOH com um excelente coeficiente de correlação, tanto para as soluções injetadas em ordem crescente ($R = 0,998$) ou decrescente ($R = 0,999$) de concentração. A similaridade das curvas também pode ser observada pelas sensibilidades das duas curvas analíticas (96,4 e 98,0 μA / %).

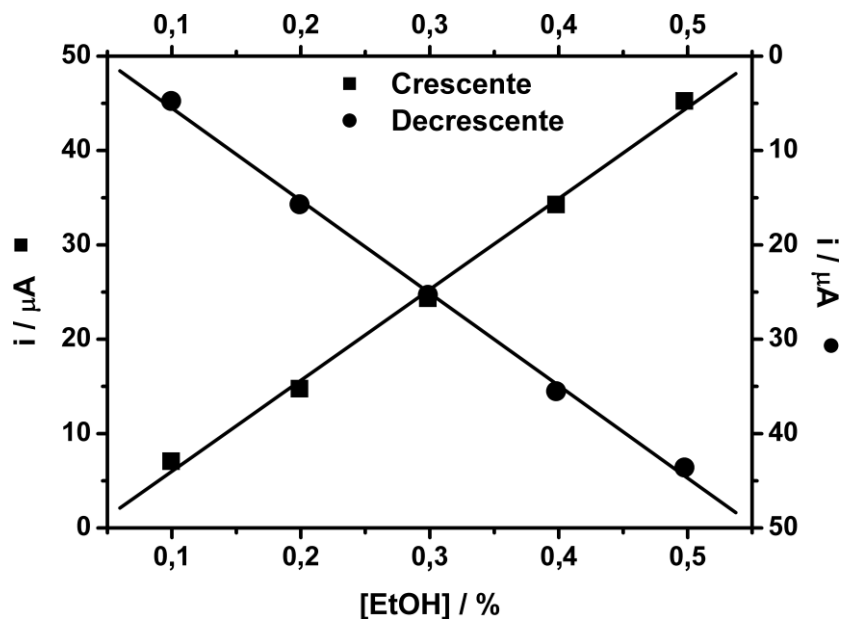


Figura 23: Curvas analíticas obtidas com os dados (correntes de oxidação do EtOH) da Figura.22.

As seguintes equações foram obtidas a partir dos dados apresentados na Figura 23:

Concentrações crescentes: $Y (\mu A) = -3,632 + 96,38191 C (\% (v/v))$ ($R = 0,998$)

Concentrações decrescentes: $Y (\mu A) = -4,222 + 98,01005 C (\% (v/v))$ ($R = 0,999$)

LD e LQ foram calculados, respectivamente, em 0,0011 e 0,0037 % (v/v). O método proposto foi aplicado na determinação de EtOH em amostras de álcool combustível e de gasolina adquiridas em postos de combustíveis locais, sendo que os resultados foram comparados aos obtidos por CG. A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 5: Resultados obtidos ($n = 3$) na determinação de EtOH em amostras de álcool combustível e gasolina por BIA-AMP e CG.

Amostras	Adicionado	BIA (% (v/v))	CG (% (v/v))
Álcool combustível	-	89 ± 1	91 ± 2
Álcool combustível	20 % (v/v) de H ₂ O	65 ± 2	59 ± 10
Álcool combustível	20 % (v/v) de MetOH	67 ± 1	69 ± 2
Gasolina comum	-	22 ± 1	23 ± 6
Gasolina pura	30 % (v/v) de MetOH	< LD	< LD
Gasolina pura	15 % (v/v) de EtOH + 15 % (v/v) de MetOH	16 ± 2	13 ± 3

MetOH: metanol; EtOH: etanol.

Pelos resultados apresentados na Tabela 5 constata-se que o método BIA-AMP apresenta resultados similares aos obtidos por CG. Os resultados obtidos por ambos os métodos foram comparados estatisticamente usando o “teste t de Student” [101]. Os resultados médios ($n = 3$) de ambos os métodos não apresentam diferença significativa em um nível de confiança de 95 %. O $t_{\text{calculado}}$ foi inferior ao t_{tabelado} (2,78) em todas as determinações.

5. CONCLUSÕES

Durante o desenvolvimento do presente trabalho foram realizados estudos visando o desenvolvimento de novos métodos para determinação simultânea de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível usando VC e determinação rápida de EtOH em álcool combustível e gasolina empregando BIA-AMP. Em relação aos resultados obtidos, as seguintes conclusões podem ser feitas:

Voltametria Cíclica

A técnica é simples e eficiente na determinação simultânea de EtOH e MetOH em amostras de álcool combustível. Os resultados foram obtidos usando uma solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ e MetOH 0,1 % (v/v) como eletrólito suporte e ouro (diâmetro = 3,0 mm) como eletrodo de trabalho. Nestas condições, EtOH é seletivamente quantificado em +0,19 V (sem interferência do MetOH) e em +1,20 V ambos os compostos são oxidados. MetOH é quantificado mediante o uso das seguintes equações:

$$fator = I_{\text{EtOH em } +1,20\text{V}} / I_{\text{EtOH em } +0,19\text{V}} \qquad I_{\text{MetOH}} = I_{+1,20\text{V}} - (I_{+0,19\text{V}} \times fator)$$

Os resultados obtidos na análise das amostras foram concordantes com os resultados obtidos empregando-se um método comparativo (CG). No entanto, o método proposto é mais simples, rápido e utiliza instrumentação de custo inferior.

Análise por Injeção em Batelada

A técnica BIA-AMP é uma metodologia eficiente na determinação de EtOH em álcool combustível e gasolina, mesmo na presença de MetOH, o que pode ser considerada uma vantagem em relação aos métodos eletroquímicos publicados anteriormente. A análise é possível mediante o uso de um único reagente (NaOH

0,5 mol L⁻¹) e ouro (diâmetro = 3,0 mm) como eletrodo de trabalho. O método proposto é simples, rápido (180 injeções h⁻¹), de baixo custo e pode ser facilmente empregado em análises fora do ambiente de laboratório.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pereira, P.A.P., and Andrade, J.B., *Fontes, reatividade e quantificação de metanol e etanol na atmosfera*. Química Nova, 1998. **21**(6): p. 744-754.
2. Othmer, K., *Encyclopedia of Chemical Technology*. 1980, John Wiley & Sons: New York. p. 338.
3. Othmer, K., *Encyclopedia of Chemical Technology*. 1981, John Wiley & Sons: New York. p. 398.
4. Carvalho, L., *Açúcar e álcool - Agribusiness*, in *A Granja - O Brasil Agrícola*. 2008, Editora Centaurus: São Paulo. p. 32.
5. Cole, V., and Noble, A.C., *Fermented beverage production*. Flavor chemistry and assessment, ed. Lea, A.G.H. and Piggott, J.R. Vol. 14. 1995, London: Blackie Academic Professional. 19.
6. Macedo, I.C., *Greenhouse gas emissions and energy balances in bio-ethanol production and utilization in Brazil*. Biomass and Bioenergy, 1998. **14**(1): p. 77-81.
7. Garcia, L.F., Conejero, M.A., and Neves, M.F. *Biodiesel: Um olhar para o futuro com base nos 30 anos de proálcool*. in *XLV Congresso da Sober*. 2007. Londrina.
8. Sax, N.I., ed. *Dangerous properties of industrial materials*. 4th ed. Vol. 1. 1975, Van Nostrand Reinhold Company: Princeton: New Jersey. p. 908.
9. Takeshita, E.V., *Adulteração de gasolina por adição de solvente: análise dos parâmetros físico-químicos*, *Dissertação de Mestrado*, in *Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos*. 2006, Universidade Federal de Santa Catarina: Florianópolis.
10. Dagostin, A.P.D., *Estudo da contaminação da gasolina com solvente de borracha*. *Dissertação de Mestrado*, 2003. Universidade Federal de Santa Catarina: Florianópolis.
11. Teixeira, L.S.G., Guimarães, P.R.B., Pontes, L.A.M., Almeida, S.Q., Assis, J.C.R., Unifacs, Viana, R.F., ANP, *Studies on the effects of solvents on the physicochemical properties of automotive gasoline*. Society of Petroleum Engineers, 2001. **69587**: p. 1-6.
12. Wiedmann, L.S.M., *Curso em qualidade de combustíveis automotivos: Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas na caracterização da*

- gasolina, in 2º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás. 2003: Rio de Janeiro, RJ.
13. Sugimoto, L., *Uma chance de por fim à gasolina adulterada*. Jornal da Unicamp, 2005 [acessado em 30/01/2012]; Disponível em: <http://www.unicamp.br>.
 14. Pontual, F., *Adulteração de Etanol ainda alta*. Energia Hoje, 2009 [acessado em 30/01/2012]; Disponível em: <http://www.energiahoje.com>.
 15. Carneiro, H.S.P., *Determinação de adulteração de etanol combustível com metanol através de análise multivariada do FT-MIR e FT-NIR*, Dissertação de Mestrado, in Instituto de Química. 2008, Universidade de Brasília: Brasília.
 16. Ari, Ş., Çaç, I., and Kayabaşı, H., *Bilateral Complete Optic Atrophy and Hemorrhagic Infarction of the Putamen Caused by Methanol Intoxication*. Annals of Ophthalmology, 2007. **39**(3): p. 249-252.
 17. Kaphalia, B.S., Carr, J.B., and Ansari, G.A.S., *Increased Endobiotic fatty acid methyl esters following exposure to methanol*. Fundamental and Applied Toxicology, 1995. **28**(2): p. 264-273.
 18. Agencia Auto Informe, *Como identificar combustível adulterado*. 2006 [acessado em 30/01/2012]; Disponível em: <http://www.autoinforme.com.br>.
 19. *Distribuidoras são lacradas por vender álcool adulterado*. 2010 [acessado em 30/01/2012]; Disponível em: www.globo.com/bomdiabrasil.
 20. *Standard test method for determination of MTBE, ETBE, DIPE, tertiary-amyl alcohol and C1 to C4 alcohols in gasoline by gas chromatography*. 2003, American Society of Testing and Materials, D 4815-03: West Conshohocken, PA, USA.
 21. Femandes, H.L., Raimundo, I.M.Jr., Pasquini, C., and Rohwedder, J.J.R., *Simultaneous determination of methanol and ethanol in gasoline using NIR spectroscopy: Effect of gasoline composition*. Talanta, 2008. **75**(3): p. 804-810.
 22. de Oliveira, F.S., Teixeira, L.S.G., Araujo, M.C.U., and Korn, M., *Screening analysis to detect adulterations in Brazilian gasoline samples using distillation curves*. Fuel, 2004. **83**(7-8): p. 917-923.
 23. Carneiro, H.S.P., Medeiros, A.R.B., Oliveira, F.C.C., Aguiar, G.H.M., Rubim, J.C., and Suarez, P.A.Z., *Determination of ethanol fuel adulteration by methanol*

- using partial least-squares models based on Fourier transform techniques.* Energy & Fuels, 2008. **22**(4): p. 2767-2770.
24. Pereira, R.C.C., Skrobot, V.L., Castro, E.V.R., Fortes, I.C.P., and Pasa, V.M.D., *Determination of gasoline adulteration by principal components analysis-linear discriminant analysis applied to FTIR spectra.* Energy & Fuels, 2006. **20**(3): p. 1097-1102.
 25. Skrobot, V.L., Castro, E.V.R., Pereira, R.C.C., Pasa, V.M.D., and Fortes, I.C.P., *Identification of adulteration of gasoline applying multivariate data analysis techniques HCA and KNN in chromatographic data.* Energy & Fuels, 2005. **19**(6): p. 2350-2356.
 26. Muncharoen, S., Sitanurak, J., Tiyaongpattana, W., Choengchan, N., Ratanawimarnwong, N., Motomizu, S., Wilairat, P., and Nacapricha, D., *Quality control of gasohol using a micro-unit for membraneless gas diffusion.* Microchimica Acta, 2009. **164**(1-2): p. 203-210.
 27. Opekar, F., Cabala, R., and Kadlecova, T., *A simple contactless impedance probe for determination of ethanol in gasoline.* Analytica Chimica Acta, 2011. **694**(1-2): p. 57-60.
 28. Rocha, M.S., and Simoes-Moreira, J.R., *A simple impedance method for determining ethanol and regular gasoline mixtures mass contents.* Fuel, 2005. **84**(4): p. 447-452.
 29. Paixao, T.R.L.C., Cardoso, J.L., and Bertotti, M., *The use of a copper microelectrode to measure the ethanol content in gasohol samples.* Fuel, 2007. **86**(7-8): p. 1185-1191.
 30. Paixao, T.R.L.C., Corbo, D., and Bertotti, M., *Amperometric determination of ethanol in beverages at copper electrodes in alkaline medium.* Analytica Chimica Acta, 2002. **472**(1-2): p. 123-131.
 31. Neuburger, G.G., and Johnson, D.C., *Pulsed coulometric detection of carbohydrates at a constant detection potential at gold electrodes in alkaline media.* Analytica Chimica Acta, 1987. **192**(2): p. 205-213.
 32. Schiavon, G., Comisso, N., Toniolo, R., and Bontempelli, G., *Pulsed amperometric detection of ethanol in breath by gold electrodes supported on ion exchange membranes (solid polymer electrolytes).* Electroanalysis, 1996. **8**(6): p. 544-548.

33. Neuburger, G.G., and Johnson, D.C., *Comparison of the pulsed amperometric detection of carbohydrates at gold and platinum-electrodes for Flow-Injection and Liquid-Chromatographic systems*. Analytical Chemistry, 1987. **59**(1): p. 203-204.
34. Borkowska, Z., Tymosiak-Zielinska, A., and Shul, G., *Electrooxidation of methanol on polycrystalline and single crystal gold electrodes*. Electrochimica Acta, 2004. **49**(8): p. 1209-1220.
35. de Lima, R.B., and Varela, H., *Catalytic oxidation of ethanol on gold electrode in alkaline media*. Gold Bulletin, 2008. **41**(1): p. 15-22.
36. Holze, R., Luczak, T., and Beltowskabrzezinska, M., *The kinetic isotope effect in the oxidation of aliphatic-alcohols on a gold electrode*. Electrochimica Acta, 1994. **39**(4): p. 485-489.
37. Holze, R., Łuczak, T., and Beltowska-Brzezinska, M., *The electro-oxidation of unsaturated alcohols on a gold electrode*. Electrochimica Acta, 1994. **39**(7): p. 991-994.
38. Kahyaoglu, A., Beden, B., and Lamy, C., *The electrocatalytic oxidation of glycerol on gold and platinum-electrodes in aqueous-media*. Electrochimica Acta, 1984. **29**(10): p. 1489-1492.
39. Cataldi, T.R.I., Casella, I.G., and Centonze, D., *Effect of Ca(II), Sr(II), and Ba(II) on the pulsed amperometric detection of alditols and carbohydrates at a gold electrode in alkaline solutions*. Analytical Chemistry, 1997. **69**(23): p. 4849-4855.
40. Johnson, D.C., Dobberpuhl, D., Roberts, R., and Vandeberg, P., *Pulsed amperometric detection of carbohydrates, amines and sulfur species in ion chromatography - the current state of research*. Journal of Chromatography, 1993. **640**(1-2): p. 79-96.
41. Lacourse, W.R., and Johnson, D.C., *Optimization of wave-forms for Pulsed Amperometric Detection (PAD) of carbohydrates following separation by Liquid-Chromatography*. Carbohydrate Research, 1991. **215**(1): p. 159-178.
42. Lacourse, W.R., and Johnson, D.C., *Optimization of wave-forms for Pulsed Amperometric Detection of carbohydrates based on pulsed Voltammetry*. Analytical Chemistry, 1993. **65**(1): p. 50-55.

43. Dobberpuhl, D.A., and Johnson, D.C., *This research contribution is in commemoration of the life and science of I. M. Kolthoff (1894-1993). Pulsed electrochemical detection at the ring of a ring-disk electrode applied to a study of amine adsorption at gold electrodes*. Analytical Chemistry, 1995. **67**(7): p. 1254-1258.
44. Dobberpuhl, D.A., and Johnson, D.C., *A study of ethylamine at a gold rotating ring-disk electrode using pulsed electrochemical detection at the ring*. Electroanalysis, 1996. **8**(8-9): p. 726-731.
45. Dobberpuhl, D.A., Hoekstra, J.C., and Johnson, D.C., *Pulsed electrochemical detection at gold electrodes applied to monoamines and diamines following their chromatographic separation*. Analytica Chimica Acta, 1996. **322**(1-2): p. 55-62.
46. Vandenberg, P.J., Kowagoe, J.L., and Johnson, D.C., *Pulsed Amperometric Detection of sulfur-compounds - thiourea at gold electrodes*. Analytica Chimica Acta, 1992. **260**(1): p. 1-11.
47. Vandenberg, P.J., and Johnson, D.C., *A study of the voltammetric response of thiourea and ethylene thiourea at gold electrodes in alkaline media*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1993. **362**(1-2): p. 129-139.
48. Silva, R.A.B., Cunha, R.R., Silva, A.T C., Oliveira, A.L.B., Espindola, F.S., Munoz, R.A.A., Richter, E.M., *Development of a Simple and Fast Electrochemical Method to Evaluate Physical Stress in Athletes*. Electroanalysis, 2011. **23**(11): p. 2601 - 2606.
49. Lin, A.S., Lin, J., and Huang, J.C., *Electrochemical oxidation of dissolved carbon monoxide on gold electrode in alkaline medium*. Gold Bulletin, 2007. **40**(1): p. 82-85.
50. Luczak, T., *Structure - reactivity relationships: the oxidation of aliphatic amines on the gold electrode*. Journal of Applied Electrochemistry, 2007. **37**(2): p. 269-274.
51. Rodriguez, P., Feiu, J.M., and Koper, M.T.M., *Unusual adsorption state of carbon monoxide on single-crystalline gold electrodes in alkaline media*. Electrochemistry Communications, 2009. **11**(6): p. 1105-1108.
52. Ticianelli, E.A., Gonzalez, E.R., *Eletroquímica: Princípios e Aplicações*. EDUSP, São Paulo, 1998.

53. Grosser, D.K., *Voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms*. VHC, New York, 1993.
54. Brett, A.M.O., and Brett, C.M.A. , *Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*. Livraria Almedina, Coimbra, 1996.
55. Buratti, S., Brunetti, B., and Mannino, S., *Amperometric detection of carbohydrates and thiols by using a glassy carbon electrode coated with Co oxide/multi-wall carbon nanotubes catalytic system*. *Talanta*, 2008. **76**(2): p. 454-457.
56. Gutierrez, A., Osegueda, S., Gutierrez-Granados, S., Alatorre, A., Garcia, M.G., and Godinez, L.A., *Amperometric Detection and Quantification of 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) Using Dendrimer Modified Electrodes*. *Electroanalysis*, 2008. **20**(21): p. 2294-2300.
57. Hsu, P.F., Ciou, W.L., and Chen, P.Y., *Voltammetric study of polyviologen and the application of polyviologen-modified glassy carbon electrode in amperometric detection of vitamin C*. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2008. **38**(9): p. 1285-1292.
58. Jia, W., Guo, M., Zheng, Z., Yu, T., Wang, Y., Rodriguez, E.G., and Lei, Y., *Vertically Aligned CuO Nanowires Based Electrode for Amperometric Detection of Hydrogen Peroxide*. *Electroanalysis*, 2008. **20**(19): p. 2153-2157.
59. Liu, Y., and Gu, H.Y., *Amperometric detection of nitrite using a nanometer-sized gold colloid modified pretreated glassy carbon electrode*. *Microchimica Acta*, 2008. **162**(1-2): p. 101-106.
60. Richter, E.M., da Silva, J.A.F., Gutz, I.G.R., do Lago, C.L., and Angnes, L., *Disposable twin gold electrodes for amperometric detection in capillary electrophoresis*. *Electrophoresis*, 2004. **25**(17): p. 2965-2969.
61. Varodi, C., Gligor, D., and Muresan, L.M., *Carbon paste electrodes incorporating synthetic zeolites and methylene blue for amperometric detection of ascorbic acid*. *Studia Universitatis Babes-Bolyai Chemia*, 2007. **52**(1): p. 109-117.
62. Zhang, W., Wang, G., Zhang, X., and Fang, B., *Amperometric Detection of Hydrogen Peroxide Using Glassy Carbon Electrodes Modified with Chromium Hexacyanoferrate/Single-Walled Carbon Nanotube Nanocomposites*. *Electroanalysis*, 2009. **21**(2): p. 179-183.

63. de Carvalho, R.M., Freire, R.S., Rath, S., and Kubota, L.T., *Effects of EDTA on signal stability during electrochemical detection of acetaminophen*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2004. **34**(5): p. 871-878.
64. Goyal, R.N., Chatterjee, S., and Agrawal, B., *Electrochemical investigations of diclofenac at edge plane pyrolytic graphite electrode and its determination in human urine*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2010. **145**(2): p. 743-748.
65. Kuhlmann, O., Stoldt, G., Struck, H.G., and Krauss, G.J., *Simultaneous determination of diclofenac and oxybuprocaine in human aqueous humor with HPLC and electrochemical detection*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1998. **17**(8): p. 1351-1356.
66. Manea, F., Ilios, M., Remes, A., Burtica, G., and Schoonman, J., *Electrochemical Determination of Diclofenac Sodium in Aqueous Solution on Cu-Doped Zeolite-Expanded Graphite-Epoxy Electrode*. Electroanalysis, 2010. **22**(17-18): p. 2058-2063.
67. Li, Y.X., Lu, Q.F., Shi, A.B., Chen, Y.L., Wu, S.N., and Wang, L., *Electrochemical Determination of Dopamine in the Presence of Ascorbic Acid and Uric Acid Using the Synergistic Effect of Gold Nanoflowers and L-Cysteamine Monolayer at the Surface of a Gold Electrode*. Analytical Sciences, 2011. **27**(9): p. 921-927.
68. Wang, Y., and Tong, L.L., *Electrochemical sensor for simultaneous determination of uric acid, xanthine and hypoxanthine based on poly (bromocresol purple) modified glassy carbon electrode*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2010. **150**(1): p. 43-49.
69. Xiao, C.H., Chu, X.C., Yang, Y., Li, X., Zhang, X.H., and Chen, J.H., *Hollow nitrogen-doped carbon microspheres pyrolyzed from self-polymerized dopamine and its application in simultaneous electrochemical determination of uric acid, ascorbic acid and dopamine*. Biosensors & Bioelectronics, 2010. **26**(6): p. 2934-2939.
70. Zhang, R., Jin, G.D., Chen, D., and Hu, X.Y., *Simultaneous electrochemical determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid using poly(acid chrome blue K) modified glassy carbon electrode*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2009. **138**(1): p. 174-181.

71. Zhu, S.Y., Li, H.J., Niu, W.X., and Xu, G.B., *Simultaneous electrochemical determination of uric acid, dopamine, and ascorbic acid at single-walled carbon nanohorn modified glassy carbon electrode*. Biosensors & Bioelectronics, 2009. **25**(4): p. 940-943.
72. Chailapakul, O., Ngamukot, P., Yoosamran, A., Siangproh, W., and Wangfuengkanagul, N., *Recent electrochemical and optical sensors in flow-based analysis*. Sensors, 2006. **6**(10): p. 1383-1410.
73. Cai, Y.E., Cai, Y.Q., Shi, Y.L., Mou, S., and Lu, Y.Q., *Optimizing the integrated pulsed amperometric multicycle step waveform for the determination of tetracyclines*. Journal of Chromatography A, 2006. **1118**(1): p. 35-40.
74. Wang, J., and Taha, Z., *Batch Injection Analysis*. Analytical Chemistry, 1991. **63**(10): p. 1053-1056.
75. Quintino, M.S.M., and Angnes, L., *Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool*. Electroanalysis, 2004. **16**(7): p. 513-523.
76. Wang, J., *Injection-Analysis from Flow-Injection Analysis to Batch-Injection Analysis*. Microchemical Journal, 1992. **45**(2): p. 219-224.
77. Chen, L.A., Wang, J., and Angnes, L., *Batch Injection-Analysis with the rotating-disk electrode*. Electroanalysis, 1991. **3**(8): p. 773-776.
78. Wang, J., and Taha, Z., *Batch Injection-Analysis with thermistor sensing devices*. Analytical Letters, 1991. **24**(8): p. 1389-1400.
79. Wang, J., and Taha, Z., *Batch Injection with potentiometric detection*. Analytica Chimica Acta, 1991. **252**(1-2): p. 215-221.
80. Wang, J., Rayson, G. D., and Taha, Z., *Batch Injection-Analysis using fiberoptic fluorometric detection*. Applied Spectroscopy, 1992. **46**(1): p. 107-110.
81. *EDP Plus Motorized Microliter Pipette ± User Guide*. Rainin Instrument Co., Woburn, MA, 1989.
82. Wang, J., Chen, L., Angnes, L. and Tian, B. M., *Computerized pipettes with programmable dispensation for Batch Injection-Analysis*. Analytica Chimica Acta, 1992. **267**(1): p. 171-177.
83. Wang, J., and Chen, L., *Small-volume Batch-Injection Analyzer*. Analyst, 1994. **119**(6): p. 1345-1348.

84. Gunasingham, H., *Large-volume wall-jet cells as electrochemical detectors for high-performance liquid chromatography*. *Analytica Chimica Acta*, 1984. **159**: p. 139-147.
85. Gunasingham, H., Tay, B.T., and Ang, K.P., *Amperometric detection in normal-phase high-performance liquid chromatography with a large volume wall jet cell and silver/silver(I+) reference system*. *Analytical Chemistry*, 1984. **56**(13): p. 2422-2426.
86. Brett, C.M.A., Brett, A.M.O., and Mitoseriu, L.C., *Amperometric Batch Injection-Analysis - Theoretical aspects of current transients and comparison with wall-jet electrodes in continuous-flow*. *Electroanalysis*, 1995. **7**(3): p. 225-229.
87. Brett, C.M.A., and Brett, A.M.O., *Comprehensive Chemical Kinetics*. eds. Bamford, C.H., and Compton, R.G., Elsevier, Amsterdam 1986. **Volume 26, capítulo 5**.
88. Yamada, J., and Matsuda, H., *Limiting diffusion currents in hydrodynamic voltammetry .3. wall jet electrodes*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1973. **44**(2): p. 189-198.
89. Brett, C.M.A., Brett, A.M.O., and Mitoseriu, L.C., *Amperometric and voltammetric detection in Batch Injection-Analysis*. *Analytical Chemistry*, 1994. **66**(19): p. 3145-3150.
90. Brett, C.M.A., *Electrochemical sensors for environmental monitoring. Strategy and examples*. *Pure and Applied Chemistry*, 2001. **73**(12): p. 1969-1977.
91. Tormin, T.F., Gimenes, D.T., Richter, E.M., and Munoz, R.A.A., *Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection*. *Talanta*, 2010. **85**(3): p. 1274-1278.
92. Pedrotti, J.J., Angnes, L., and Gutz, I.G.R., *Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions*. *Electroanalysis*, 1996. **8**(7): p. 673-675.
93. Novakowski, W., Bertotti, M., and Paixão, T.R.L.C., *Use of copper and gold electrodes as sensitive elements for fabrication of an electronic tongue: Discrimination of wines and whiskies*. *Microchemical Journal*, 2011. **99**(1): p. 145-151.
94. Schiavon, G., Comisso, N., Toniolo, R., and Bontempelli, G., *Pulsed amperometric detection of ethanol in breath by gold electrodes supported on ion*

- exchange membranes (solid polymer electrolytes)*. *Electroanalysis*, 1996. **8**(6): p. 544-548.
95. Haemmerle, M., Hilgert, K., Horn, M.A., and Moos, R., *Analysis of volatile alcohols in apple juices by an electrochemical biosensor measuring in the headspace above the liquid*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2011. **158**(1): p. 313-318.
 96. Kutz, R.B., Braunschweig, B., Mukherjee, P., Dlott, D.D., and Wieckowski, A., *Study of Ethanol Electrooxidation in Alkaline Electrolytes with Isotope Labels and Sum-Frequency Generation*. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2011. **2**(17): p. 2236-2240.
 97. Nagaraju, D.H. and Lakshminarayanan, V., *Electrochemically Grown Mesoporous Gold Film as High Surface Area Material for Electro-Oxidation of Alcohol in Alkaline Medium*. *Journal of Physical Chemistry C*, 2009. **113**(33): p. 14922-14926.
 98. Tremiliosi-Filho, G., Gonzalez, E.R., Motheo, A.J., Belgsir, E.M., Leger, J.M., and Lamy, C., *Electro-oxidation of ethanol on gold: analysis of the reaction products and mechanism*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1998. **444**(1): p. 31-39.
 99. Silva, W.C., Pereira, P.F., Marra, M.C., Gimenes, D.T., Cunha, R.R., Silva, R.A.B., Munoz, R.A.A., Richter, E.M., *A Simple Strategy for Simultaneous Determination of Paracetamol and Caffeine Using Flow Injection Analysis with Multiple Pulse Amperometric Detection*. *Electroanalysis*, 2011. **23**(12): p. 2764-2770.
 100. Miranda, J.T., *Determinação simultânea de aspirina e ácido ascórbico em medicamentos usando análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica*. *Dissertação de Mestrado*, in *Instituto de Química*. 2011, Universidade Federal de Uberlândia: Uberlândia.
 101. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., *Princípios de Análise Instrumental*. 5^a ed. 2002, Porto Alegre: Bookman.