

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-graduação em Química

**“APLICAÇÃO DE NANOTUBOS DE CARBONO NO
DESENVOLVIMENTO DE SENSORES AMPEROMÉTRICOS
PARA COMPOSTOS FENÓLICOS”**

RAFAEL MELO CARDOSO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Orientador

PROF. DR. RODRIGO ALEJANDRO ABARZA MUNOZ

Co-Orientador

DR. RODRIGO HENRIQUE DE OLIVEIRA MONTES

Uberlândia, março de 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Química

Programa de pós-graduação em química

Aplicação de nanotubos de carbono no
desenvolvimento de sensores amperométricos para
compostos fenólicos

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

Aluno: Rafael Melo Cardoso

Orientador: Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz

Área de concentração: Química Analítica

março

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C268a
2016 Cardoso, Rafael Melo, 1988-
 Aplicação de nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores
 amperométricos para compostos fenólicos / Rafael Melo Cardoso. -
 2016.
 98 f. : il.

 Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Munoz.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Química.
 Inclui bibliografia.

 1. Química - Teses. 2. Química analítica - Teses. 3. Nanotubos de
 carbono - Teses. 4. Antioxidantes - Teses. I. Munoz, Rodrigo Alejandro
 Abarza. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
 Graduação em Química. III. Título.



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 232/PPQUI.

DATA: 03/03/2016

DISCENTE: Rafael Melo Cardoso

MATRÍCULA: 11412QMI005

TÍTULO DO TRABALHO: Aplicação de nanotubos de carbonos no desenvolvimento de sensores amperométricos para compostos fenólicos.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de sensores eletroquímicos e métodos analíticos nas áreas de energia e meio-ambiente.

Às quatorze horas do dia três de março do ano dois mil e dezesseis, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Wallans Torres Pio dos Santos, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Rodrigo Amorim Bezerra da Silva e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, do Instituto de Química da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) 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 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). 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 aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do

mantido

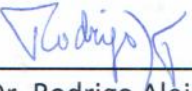
trabalho

será

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. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 45 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Wallans Torres Pio dos Santos
UFVJM


Prof. Dr. Rodrigo Amorim Bezerra da Silva
IQUFU


Orientador(a): Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz – IQUFU

Abreviações

ANP – Agência Nacional de Petróleo

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BIA – “*Batch injection analysis*” – Análise por injeção em batelada

CE – “*Counter electrode*” – Eletrodo auxiliar

CME – “*Chemically modified electrode*” – Eletrodo quimicamente modificado

CNT – “*Carbon nanotubes*” – nanotubos de carbono

CONAMA – Conselho Nacional de Agricultura e Meio Ambiente

CT – “*Catechol*” - Catecol

CV – “*Cyclic voltammetry*” – Voltametria cíclica

DMF – “*Dimethylformamide*” – Dimetilformamida

E_{pa} – Potencial de pico anódico

FAO – “*Food and Agriculture Organization of the United Nations*”

FIA – “*Flow injection analysis*” – Análise por injeção em fluxo

GC – “*Glassy carbon electrode*” – Eletrodo de carbono vítreo

HPLC – “*High performance liquid chromatography*” – Cromatografia líquida de alta eficiência

HQ – “*Hydroquinone*” - Hidroquinona

LD-MWCNT – “*Larger diameter- multi walled carbon nanotubes*” – nanotubos de carbono de paredes múltiplas de maior diâmetro

LOD – “*Limit of detection*” – Limite de detecção

LSV – “*Linear sweep voltametry*” – Voltametria de varredura linear

MWCNT – “*multi-walled carbon nanotubes*” – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas

PY – “*Pyrogallol*” - Pirogalol

RE – “*Reference electrode*” – Eletrodo de referência

RSD – “*Relative standart deviation*” – Desvio padrão relativo

SD-MWCNT – “*Smaller diameter- multi walled carbon nanotubes*” – nanotubos de carbono de paredes múltiplas de menor diâmetro

SWCNT – “*Single-walled carbon nanotubes*” – Nanotubos de carbono de parede simples

TAF – “*Theoretical analytical frequency*” – Frequência analítica teórica

Tampão BR – “*Britton-Robinson buffer*” – Tampão Britton-Robinson

TBHQ – “*tert-Butylhydroquinone*” – tert-butil-hidroquinona

WE – “*Working electrode*” – Eletrodo de trabalho

ΔE_p – Diferença de potencial de pico entre par de picos redox

“Whether you think you can, or you think you can't--you're right.”

Henry Ford

Dedicatória

A minha avó Célia (in memoriam) pela confiança e carinho em mim sempre depositados.

Agradecimentos

A Deus, por me prover todas as oportunidades e desafios de minha vida e oferecer proteção e segurança.

Aos meus pais Antônio e Elizete por ensinar a escolher os meus caminhos e ajudar a traçá-los, sempre oferecendo amizade honesta e amor incondicional.

A minha namorada Gabriela pela companhia sempre paciente e presente.

A minha irmã, pela amizade sincera e leal.

Aos amigos conterrâneos do peito, que juntos passamos por várias etapas e muitas virão.

Ao meu orientador Rodrigo Muñoz, que sempre em mim depositou confiança, expirando respeito e consideração, sendo um orientador presente e perseverante, além de um bom amigo.

Ao meu co-orientador Rodrigo Montes pela amizade e todo conhecimento a mim transmitido, sendo um sempre um exemplo de determinação e preparo.

Ao professor Eduardo Richter pelos ensinamentos e disposição na construção do conhecimento.

Ao professor Edson no qual comprimento os demais professores do IQ-UFU que sempre colaboraram para o meu crescimento.

Aos amigos do NuPE, Rafael (Pisqua), Eduardo (Dudu), Rafael Dornellas, Luiz André, David, Helieder, Jéssica, Ana Paula, Thiago Tormin, Dalyelli, André Luiz, Poliana Freire, Poliana Pereira, Almir, Laiz, Jhonys, Thiago, Jian., Michelle, Gracy, Daniela, Rodrigo Franco e Weberson, pela convivência e aprendizado no laboratório além da amizade acolhedora no dia-a-dia, dentro e fora do laboratório e nos momentos de descontração e discussões construtivas, proporcionando uma atmosfera positiva e produtiva de trabalho.

A Capes e a Fapemig Pelo Apoio Financeiro

Ao instituto de química (IQ-UFU) pelo espaço concedido e pela oportunidade de realizar os projetos de pesquisa desenvolvidos até então e seus servidores que o fazem funcionar com dedicação.

A banca pelo aceite de participação nesta defesa de tese e pelas enormes contribuições oferecidas que ajudarão a enriquecer este trabalho.

Lista de Figuras

Figura 1: Linha temporal com metas e ações no desenvolvimento de CME [3].....	3
Figura 2: Nanotubos de carbono de paredes simples (SWCNT); Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT).	5
Figura 3: Diferentes morfologias dos CNTs: a) armchair; b) zigzag; c) quirais [15].	6
Figura 4: Esquema representando de sítios eletroativos de nanotubos de carbono em eletrodos modificados [18] (figura adaptada).	7
Figura 5: Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. E_i : potencial inicial; E_f : potencial final, E_s : potencial de inversão; WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar [41].	10
Figura 6: Perturbação aplicada em um sistema amperométrico com potencial fixo [41].	11
Figura 7: Representação de uma célula BIA: (A) eletrodo de trabalho; (B) eletrodo auxiliar; (C) eletrodo de referência; (D) ponteira da micropipeta; (E) orifício para preenchimento da célula; (F) barra de agitação; (G) dreno [43].	12
Figura 8: Descrição das etapas na injeção de uma amostra na superfície do eletrodo sólido (A) estado antes da injeção; (B) momento em que a solução contida na ponteira é deslocada em direção ao eletrodo; (C) último contato do conteúdo injetor em contato com o eletrodo; (D) dispersão/diluição do conteúdo no grande banho de eletrólito; (E) superfície do eletrodo volta às suas condições da linha base.	13
Figura 9: Mecanismo de oxidação do fenol, obtendo os produtos <i>-orto</i> (CT) ou <i>-para</i> (HQ), e seus mecanismos reversíveis de oxi-redução [71].....	16
Figura 10: Mecanismo de oxi-redução reversível do TBHQ[105].....	19
Figura 11: Mecanismo de oxidação irreversível do Pirogalol em condições ácidas[115].	20
Figura 12: Reação de transesterificação de triglicerídeos[131].....	22
Figura 13: Esquema de preparo de amostras dopadas a partir de seguidas diluições em álcool e etanol.	27
Figura 14: Rota de funcionalização com grupos carboxílicos.....	28

Figura 15: Eletrodo auxiliar (CE – fio de platina), eletrodo de trabalho (WE) e eletrodo de referência, utilizados neste trabalho.	29
Figura 16: Esquema representativo para a modificação do eletrodo de carbono vítreo com filme de MWCNT.....	30
Figura 17: (A). Aparato BIA montado com pipeta eletrônica Eppendorf e 3 eletrodos inseridos; (B) Sistema BIA no suporte de sustentação de acrílico com orifício para contato, RE (Ag/AgCl/KCl _{sat}) e CE (fio de platina) inseridos na tampa de polietileno, e WE (GC/LD-MWCNT/SD-MWCNT) inserido na posição <i>wall-jet</i> à ponteira inserida.	32
Figura 18: Célula eletroquímica de 10 mL utilizada nos testes voltamétricos.	33
Figura 19: Voltamogramas cíclicos com velocidade de varredura de 50 mVs ⁻¹ do estudo de pH na presença de 1 mmol L ⁻¹ de pirogalol pH aproximadamente 2 com HClO ₄ e pHs, 3, 4, 5, 6 e 7 com tampão Britton-Robinson em (A), GC, (B) LD-MWCNT e (C) SD-MWCNT e gráficos de potencial de pico vs pH em LD-MWCNT (D) e SD-MWCNT (E).	38
Figura 20: Voltamogramas cíclicos na presença de 1 mmol L ⁻¹ (A) HQ, (B) TBHQ, (C) CT e (D) PY em GC não modificado (—) e eletrodos modificados com SD-MWCNT (—) e LD-MWCNT (---) em eletrólito HClO ₄ 0.1 mol L ⁻¹ . Velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹	39
Figura 21: Corrente de pico vs raiz da velocidade de varredura na presença de em 1mmol L ⁻¹ de (A) HQ; (B) TBHQ; (C) CT em diferentes superfícies: GC (○), LD-MWCNT (△) e SD-MWCNT (□).	41
Figura 22: (A) Corrente do primeiro pico de oxidação vs (Velocidade de varredura) ^(1/2) para eletrodo de GC (○) e LD-MWCNT (△) que apresentam ampla faixa linear R > 0,99 de 5-800mV s ⁻¹ ; e em SD_MWCNT (□) apresentando duas faixas lineares: de 5-100 mV s ⁻¹ R > 0,97 e de 300-800 mV s ⁻¹ R > 0,99; (B) Corrente do segundo pico vs (Velocidade de varredura) ^(1/2) para eletrodo de Carbono vítreo (○) e LD-MWCNT (△) que também possuem ampla faixa linear R >0,99 de 5-1000 mV s ⁻¹ ; e SD_MWCNT (□) apresentando duas faixas: 5-100 mV s ⁻¹ , R > 0,98; 300-800 mV s ⁻¹ R > 0,99.	42
Figura 23: Log ν vs E _{pico} em todos processos para HQ (A), TBHQ (B) e CT (C) em diferentes eletrodos de GC (○), LD-MWCNT (△) e SD-MWCNT (□). Regressão linear em velocidades superiores a 400mV s ⁻¹ , indicadas pela linha reta de regressão.	43

Figura 24: Variação da separação pico-a-pico (ΔE_{pico}) em diferentes velocidades de varredura obtidas por voltametria cíclica em GC (\ominus), SD-MWCNT (\boxminus) e LD-MWCNT (\boxplus) na presença de 1 mmol L ⁻¹ de (A) HQ, (B) TBHQ, (C) CT e (D) PY.	45
Figura 25: Otimizações para CT de: (A) volume de injeção injetados em eletrodo Carbono Vítreo com velocidade de injeção = 156 $\mu\text{L s}^{-1}$; (B) Otimização da velocidade de injeção da pipeta em Carbono Vítreo com volume injetando 100 μL . Potencial aplicado 0,6 V. Condições utilizadas 100 μL e velocidade 7.	47
Figura 26: Otimizações para PY de: (A) volume de injeção em eletrodo carbono vítreo com velocidade de injeção 7 = 156 $\mu\text{L s}^{-1}$; (B) Otimização da velocidade de injeção mantendo o volume injetando de 150 μL . Potencial de trabalho: 0,6 V.	48
Figura 27: Voltamogramas hidrodinâmicos com I_{pico} vs E_{aplicado} de injeções em triplicata em diversos potenciais em GC (\ominus), SD-MWCNT (\boxminus) e LD-MWCNT (\boxplus) na presença de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CT (A), HQ (B), TBHQ (C) e PY (D).	49
Figura 28: Amperogramas registrados aplicando 0,5 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HQ; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\odot), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).	51
Figura 29: Amperogramas registrados aplicando 0,7 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 0,5; b) 1,0; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 300; h) 500; i) 600; j) 800 e k) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HQ; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\odot), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).	53
Figura 30: Amperogramas registrados aplicando 0,5 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1.0; b) 10; c) 25; d) 50; e) 100; f) 300; g) 500; h) 600; i) 800 e j) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\odot), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).	55
Figura 31: Amperogramas registrados aplicando 0,7 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1.0; b) 10; c) 25; d) 50; e) 100; f) 300; g) 500; h) 600; i) 800 e j) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\odot), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).	56

Figura 32: Amperogramas registrados aplicando 0,6V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CT; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).58

Figura 33: Amperogramas registrados aplicando 0,9 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CT; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD_MWCNT (\triangle) e SD_MWCNT (\square).59

Figura 34: Amperogramas registrados aplicando 0,5 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PY; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).61

Figura 35: Amperogramas registrados aplicando 0,9 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PY; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).62

Figura 36: (A) Amperograma para teste de recuperação de amostras de biodiesel por BIA em 0,9 V utilizando eletrodo modificado com SD-MWCNT: injeções em triplicata de a) 0,05, b) 0,1 c) 0,15, d) 0,25, e) 0,40 e f) 0,5 ppm de pirogalol e de amostras de biodieseis de algodão dopadas com 50 ppm A1); dopadas com 25 ppm A2); canola dopadas com 50 ppm C1); dopadas com 25 ppm C2); soja dopadas com 50 ppm S1); dopadas com 25 ppm S2). (B) Curvas de calibração para concentrações de PY crescentes (\circ), decrescentes (\triangle) e decrescentes após injeção de amostras (\square).64

Lista de Tabelas

Tabela 1: Reagentes sólidos e líquidos usados neste trabalho, com procedência e pureza.	26
Tabela 2: Valores de I_p de oxidação, E_p de oxidação e ΔE_p registrados por voltametria cíclica para eletrodo GC limpo e modificados com MWCNT's.	40
Tabela 3: Figuras de mérito para testes realizados em eletrodo GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT para HQ.	54
Tabela 4: Figuras de mérito para testes realizados em eletrodo GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT para TBHQ.	57
Tabela 5: Figuras de mérito para testes realizados em eletrodo GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT para CT.	60
Tabela 6: Figuras de mérito para testes realizados em eletrodo GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT para PY.	63
Tabela 7: Índices de recuperação obtidos para método proposto de recuperação de pirogalol em amostras de biodiesel de algodão, canola e soja.	64

Resumo

Este trabalho investiga o desenvolvimento de sensores eletroquímicos empregando eletrodos de carbono vítreo modificados com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT's) de diferentes diâmetros (110-170 nm x 5-9 μm correspondente ao LD-MWCNT e 6-9 nm x 5 μm correspondente ao SD-MWCNT), tratados quimicamente com ácidos concentrados, em análises voltamétricas e amperométricas na oxidação eletroquímica de hidroquinona (HQ), terc-butil-hidroquinona (TBHQ), catecol (CT) e o pirogalol (PY). A resposta eletroquímica para todos compostos fenólicos em eletrodos de carbono vítreo modificados com materiais nanoestruturados apresentou uma pequena diminuição no sobrepotencial das reações de oxidação. Além disso, as distâncias entre potenciais de pico do par redox, o ΔE_{pico} foram consideravelmente reduzidos para LD-MWCNT e ainda mais para SD-MWCNT em comparação com o eletrodo não modificado. Testes voltamétricos evidenciaram um aumento substancial de corrente resposta de até três vezes para a oxidação de HQ, TBHQ e PY em GCE modificado com SD-MWCNT. Medições amperométricas acopladas a sistema BIA realizadas em dois potenciais de trabalho diferentes para cada analito também revelaram o melhor desempenho de SD-MWCNT na detecção dos antioxidantes estudados, com aumento de até quatro vezes na sensibilidade, com destaque para a detecção em menores potenciais $E=0,5\text{V}$ para HQ, TBHQ e PY e $E=0,6\text{V}$ para CT. Os resultados analíticos obtidos em menor potencial foram, respectivamente para HQ, TBHQ, CT e PY: amplas faixas lineares de trabalho de 1 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, baixos limites de detecção de 0,014 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0,011 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0,034 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0,013 $\mu\text{mol L}^{-1}$, baixos desvios padrão relativos de 0,9 % / 3,5 % / 1,3 % / 2,8 %, elevada frequência analítica teórica de 1368,9 injeções h^{-1} / 820,7 injeções h^{-1} / 1018,7 injeções h^{-1} / 987,8 injeções h^{-1} , empregando sistema de análise por injeção em batelada (BIA). Além disso, um método amperométrico para a determinação de PY em biodiesel usando eletrodo modificado com SD-MWCNT foi desenvolvido e aplicado a amostras de biodiesel de soja, canola e algodão fortificadas com o antioxidante, obtendo-se valores de recuperação de 95%.

Palavras-chave: biodiesel, antioxidantes, nanotubos de carbono, sensores, eletroanálise.

Abstract

This work investigates the development of electrochemical sensors employing glassy-carbon electrodes modified with multi-walled carbon nanotubes (MWCNT). Two different diameters (110-170 nm x 5-9, μm corresponding to LD-MWCNT, and 6-9 nm x 5 μm , corresponding to SD-MWCNT), chemically treated with concentrated acids, subjected to amperometric and voltammetric analyses for the electrochemical oxidation of hydroquinone (HQ), *tert*-butylhydroquinone (TBHQ), catechol (CT), and pyrogallol (PY). The electrochemical response for all phenolic compounds in glassy-carbon electrode modified with nanostructured materials showed a small decrease in the overpotential of oxidation reactions (<80 mV). Furthermore, the values of ΔE_{peak} (distance between peak potential of the redox pair) were substantially reduced at LD-MWCNT and even more at SD-MWCNT compared to the unmodified electrode. Voltammetric tests showed a substantial increase (three fold) in oxidation current for the HQ, TBHQ, and PY on the modified electrode with SD-MWCNT. Amperometric measurements coupled to BIA system conducted in two different working potentials for each analyte also revealed the best performance of SD-MWCNT (increase up to four fold in sensitivity) for the detection of studied antioxidants, especially for the detection at lower potentials (0.5 V to HQ, TBHQ and PY and 0.6 V to CT). The analytical results obtained at lower potentials were respectively for HQ, TBHQ, CT and PY: large linear concentration ranges from 1 to 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$; low limits of detection, 0.014 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0.011 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0.034 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0.013 $\mu\text{mol L}^{-1}$; low relative standard deviation values, 0.9% / 3.5% / 1.3% / 2.8% , high theoretical analytical frequency, 1368,9 injections h^{-1} / 820,7 injections h^{-1} / 1018,7 injections h^{-1} / 987,9 injections h^{-1} , employing the batch-injection analysis system. Moreover, an amperometric method for the determination of PY was developed and applied for biodiesel samples (produced from soybean, canola and cottonseed oils) spiked with the antioxidant, and recovery values of 95% were obtained.

Keywords: biodiesel, antioxidants, carbon nanotubes, sensors, eletroanalysis.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Eletrodos Quimicamente Modificados (CME)	2
1.2. Nanotubos de Carbono	4
1.2.1. CME com CNTs	6
1.3. Técnicas Eletroanalíticas	8
1.4. Análise por injeção em Batelada	12
1.5. Antioxidantes fenólicos	14
1.5.1. Hidroquinona e Catecol	15
1.5.2. <i>Terc</i> -butil hidroquinona	18
1.5.3. Pirogalol	19
1.6. Biodiesel	21
1.7. Objetivos	24
2. MATERIAIS E MÉTODOS	25
2.1. Reagentes	26
2.2. Preparo de amostras e soluções	27
2.2.1. Preparo de amostras de Biodiesel	27
2.3. Funcionalização dos MWCNT	28
2.4. Eletrodos de trabalho, referência e auxiliar	28
2.4.1. Preparo de WE modificados com MWCNT	30
2.5. Instrumentação	31
2.5.1. Sistema BIA	31
2.6. Técnicas eletroquímicas	33
2.6.1. Voltametria	33
2.6.2. Amperometria acoplada a sistema BIA	34
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
3.1. Considerações iniciais da caracterização dos MWCNTs	37
3.2. Resultados Eletroquímicos	38
3.2.1. Voltametria cíclica	38
3.2.1.1. Efeito do pH	38

3.2.1.2.	Voltamogramas cíclicos das espécies analíticas	39
3.2.1.3.	Variação da velocidade de varredura	41
3.2.2.	Amperometria acoplada a BIA	46
3.2.2.1.	Otimizações.....	46
3.2.2.2.	Parâmetros analíticos.....	50
4.	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	65
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

PUBICAÇÕES EM REVISTAS CIENTÍFICAS DURANTE O MESTRADO

Cardoso, R. M., Montes, R. H. O., Lima, A. P.; Dornellas, R. M.; Nossol, E.; Richter, E. M., Munoz, R. A. A., Multi-walled carbon nanotubes: size-dependent electrochemistry of phenolic compounds. *Electrochimica acta*, 2015, 176 , p 36-43.

Dias, A. A.; Cardoso, T. M. G.; Cardoso, R. M.; Duarte, L. C.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Coltro, W. K. T., Paper-based enzymatic reactors for batch injection analysis of glucose on 3d printed cell coupled with amperometric detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 226, p: 196-203.

APRESENTAÇÕES EM ANAIS DE CONGRESSOS DURANTE O MESTRADO

Cardoso R.M., Richter E. M., Muñoz R. A. A. Estudo eletroquímico do pirogalol em eletrodos modificados com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e sua determinação em biodiesel. **XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – MG**, de 10 a 12 de Novembro de 2014, Poços de Caldas – MG.- trabalho premiado no setor de eletroquímica..

Cardoso T. M. G., Dias A. A., Cardoso R. M., Tormin T. F., Muñoz R. A. A., Richter E. M., Coltro W. K. T., Microrreatores De Papel Para Ensaio Enzimáticos Com Sistema de Injeção Em Batelada e detecção amperométrica. **IV Workshop em Microfluídica**, de 24 e 25 de Julho de 2014, Campinas SP.

Cardoso R. M., The effect of multi-walled carbon nanotube dimensions on the electrochemical oxidation of phenolic compounds .**16th Spring Meeting of the International Society of Electrochemistry**, de 22 à 26 de Março de 2015, Angra dos Reis – RJ, Brasil.

Cardoso R. M. Dornellas, R. M., Nossol, E., Richter, E. M., Munoz, R. A. A. Determination of pyrogallol in biodiesel using a reduced graphene oxide modified electrode. **XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, de 17 a 21 de agosto de 2015 Uberlândia – MG.

Serqueira D. S., Pereira J. F., Cardoso R. M., Richter E.M., Rodrigo A. A. Muñoz. Development of electrochemistry method for DMcT determination in biodiesel. **XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, de 17 a 21 de agosto de 2015 Uberlândia – MG.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Eletrodos Quimicamente Modificados (CME)

Superfícies heterogêneas imprevisíveis sendo transformadas em superfícies quimicamente previsíveis foram primeiramente empregadas nas ciências de separações em 1975 com Moses e colaboradores [1], nas quais modificações químicas foram utilizadas em um eletrodo, surgindo o termo Eletrodos Quimicamente Modificados (CME – do inglês, *chemically modified electrode*). Neste estudo pioneiro, espécies sintéticas foram covalentemente ligadas na interface do eletrodo, tendo como principal objetivo o pré estabelecimento e controle da natureza físico-química da interface eletrodo-solução como uma forma de alterar a reatividade e seletividade do sensor base [2, 3]. Antes disto, em 1974, as modificações químicas já haviam mostrado sua utilidade no estudo de Lane e Hubbard [4]. Neste caso, eletrodos metálicos (Pt ou Sb) tratados com diferentes íons (F^- , Cl^- , Br^- e I^-) quimiossorvidos na superfície possuem diferentes comportamentos eletroquímicos em termos de capacidade da superfície de atuar como uma ponte eletrônica [4].

Desde então o desenvolvimento de CME vem crescendo exponencialmente com diversas finalidades, dentre elas: estudos básicos de eletrocatalise [5], cinética de transferência de elétrons [6], permeação de membranas, síntese eletroorgânica e fotoeletroquímica, e eletroanálise [7]; sempre visando melhorias no desempenho em alguns aspectos como estabilidade e alcance destes sensores [1, 3, 7, 8].

No desenvolvimento de um sensor e/ou CME deve-se levar em consideração as características analíticas desejadas para os mesmos. Diante disso, é possível um histórico, em linhas gerais, de diversas modificações [3].

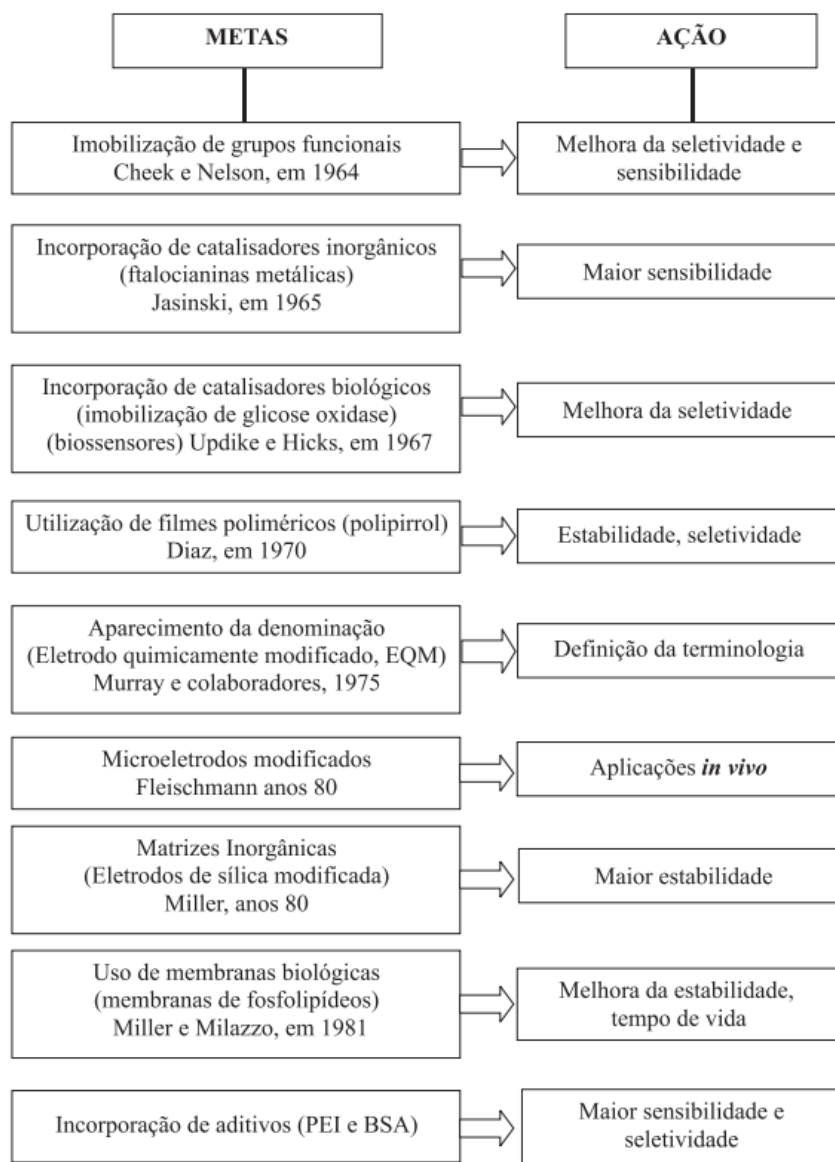


Figura 1: Linha temporal com metas e ações no desenvolvimento de CME [3].

Eletrodos sólidos, como sensores em eletroanálise, podem oferecer adsorção frente a moléculas orgânicas ou produtos de suas oxidações, ou até mesmo interferentes que operariam em potenciais próximos aos potenciais de oxidação/redução do analito de interesse. O uso de CME surge como uma alternativa no melhoramento de sensores eletroquímicos, atenuando sensibilidade e/ou seletividade – características que são atribuídas por meio de um ou mais dos seguintes fenômenos: pré-concentração, eletrocatalise e exclusão de interferentes [3, 7].

O melhor procedimento para modificação deve ser utilizado visando o material a ser modificado. Os principais métodos de modificação são por: ligação covalente; filmes poliméricos; materiais compósitos; e por adsorção [3, 7]. O método de ligação covalente, como

sugerido, implica em uma ligação covalente entre grupos funcionais presentes na superfície do eletrodo com o material modificador, e atribui estabilidade, porém requer tempo experimental.

Os filmes poliméricos são amplamente utilizados atribuindo diversas características, aumentando reatividade, seletividade, porém podem se mostrar instáveis [9].

Os materiais resultantes da mistura de dois compostos com características diferentes são conhecidos como eletrodos compósitos modificados [10], resultando em um material com características físicas e eletroquímicas específicas, podendo gerar lixiviação do material redox inserido e resistividade, e podem ter sua superfície totalmente renovada com polímeros sem danificar o eletrodo.

Por fim, a modificação por adsorção se baseia na incorporação do material por contato com dissolução do material no solvente adequado, de maneira que o preparo do eletrodo apresenta simplicidade de execução [11] e estabilidade satisfatória, podendo contribuir para efeitos de eletrocatalise [12], porém podem apresentar formação de uma monocamada podendo assim limitar a faixa de resposta linear.

Nos diversos materiais das modificações, de qualquer tipo que seja, o material escolhido deve ser cuidadosamente escolhido, onde os nanotubos de carbono apresentam características positivas quando se trata de modificações de superfícies. Suas propriedades mecânicas e eletrônicas no ponto de vista eletroquímico são promissoras no desenvolvimento de sensores baseados neste novo material.

1.2. Nanotubos de Carbono

A primeira aparição de nanotubos de carbono (CNT – do inglês *carbono nanotubes*) ocorreu em 1971, atribuída a Endo [13] e colaboradores, por meio de uma pirólise de hidrocarbonetos. Porém, foi pouco focado no trabalho já que este se tratava de uma tecnologia de produção de fibras de carbono e não houve muito impacto. Em 1991, novas estruturas nanométricas denominadas nanotubos de carbono foram mostradas por Iijima [14] alguns anos após a descoberta do fulereno. Foi observada que na presença de vapor de carbono em altas temperaturas e atmosfera de hélio ocorreria a formação de tubos de carbono de escala nano, compostos por folhas de grafeno enroladas na forma de um cilindro fechado, ligados entre si [14].

Os nanotubos de carbono são designados em duas classes: de parede simples, (SWCNT, do inglês *single-walled carbon nanotubes*), no qual contém apenas uma folha de grafeno

enrolada; e paredes múltiplas (MWCNT - do inglês *multi-walled carbono nanotubes*) com um conjunto de cilindros com espaçamento entre suas camadas, exemplificados na Figura 2.

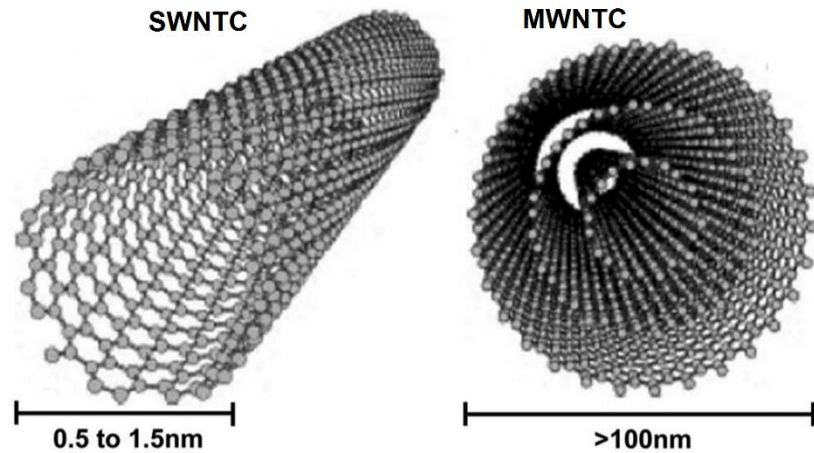


Figura 2: Nanotubos de carbono de paredes simples (SWCNT); Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT).

Suas propriedades condutoras são vastamente estudadas. A depender do tipo de quiralidade e diâmetro, apresentarão diferentes propriedades eletrônicas e mecânicas, pois a maneira como a folha de grafite é enrolada origina diferentes bandas de valência e condução dos diferentes tipos como exemplificado na Figura 3.

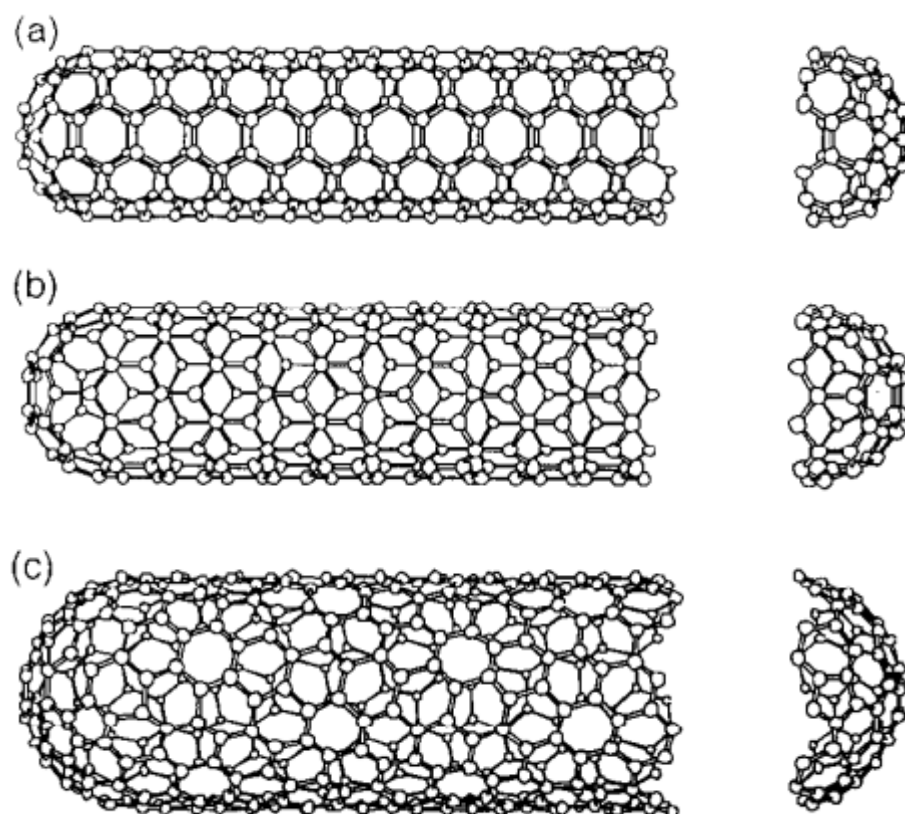


Figura 3: Diferentes morfologias dos CNTs: a) armchair; b) zigzag; c) quiral [15].

Os diversos cilindros podem apresentar diferentes quiralidades nos quais a configuração armchair é a que apresenta melhor condução elétrica, sendo considerada com condutividade semelhante a um metal, diferente de outras quiralidades que podem ser consideradas semicondutores [16]. Geralmente, nanotubos de carbono possuem uma boa condução elétrica e uma alta resistência mecânica dentre outras propriedades que os levam a ser vastamente aplicados no ramo da ciência e tecnologia.

1.2.1. CME com CNTs

O primeiro uso de eletrodos com nanotubos de carbono na literatura foi desenvolvido com Britto e colaboradores [17], porém foi somente com Joseph Wang [11] e colaboradores que o tema foi visto com mais atenção, já que a modificação demonstrou significativo ganho de corrente em medidas voltamétricas e substancial melhora na contenção da adsorção de moléculas orgânicas [11]. A partir disto, foi amplamente reportado na literatura [18] tendo em vista suas propriedades de aumentar a transferência eletrônica (possível eletrocatalise), que

resulta na melhora de sensores eletroanalíticos com maiores sensibilidades, maiores áreas ativas, e maiores resistências a incrustações na superfície [11, 12, 19-21]

O comportamento eletrocatalítico dos CNTs vem sendo atribuído à presença de sítios de fronteiras planares localizados nas extremidades dos tubos e regiões defeituosas destes materiais [12, 18-23], esquematicamente representados na Figura 4.

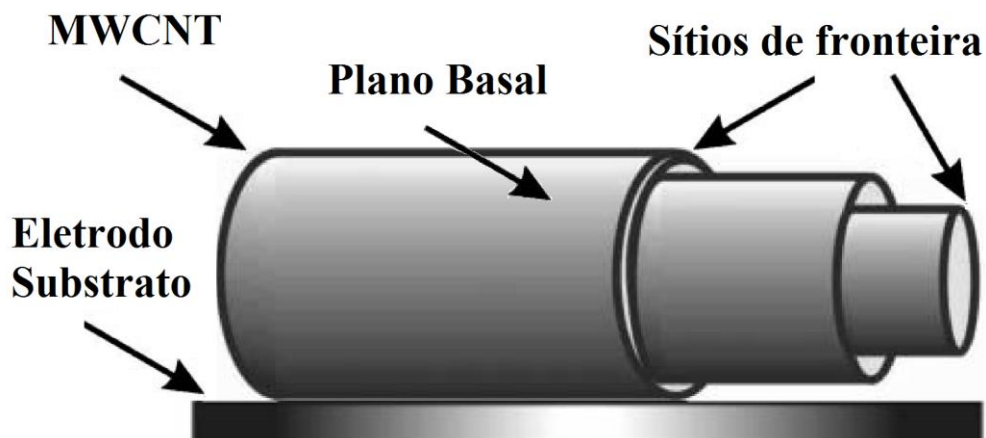


Figura 4: Esquema representando de sítios eletroativos de nanotubos de carbono em eletrodos modificados [18] (figura adaptada).

Entretanto, impurezas metálicas podem ser também responsabilizadas por estes efeitos eletrocatalíticos [24, 25]. Outra possível explicação para os menores potenciais operacionais de redução/oxidação seria a migração do comportamento difusional planar para eletrodo sólido para um comportamento difusional lamelar no CME com CNT, já que este novo eletrodo pode ser considerado um filme lamelar poroso condutivo [25-28].

Em uma análise aprofundada dos efeitos eletrocatalíticos de nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNT), uma investigação acerca do tamanho destes e de seus pré-tratamentos oxidativos foi reportada na literatura [29]. Neste trabalho a partir de diferentes MWCNT (pequenos: 1-5 μm de comprimento e $30 \pm 15 \text{ nm}$ de diâmetro; grandes: 5-20 μm de comprimento e 30 ± 15 de diâmetro), funcionalizados de três diferentes formas ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ por 3 e 6 horas e HNO_3 por 6 horas), os autores verificaram que quanto maior o tempo de exposição nas funcionalizações, maiores as proporções de defeitos estruturais presentes, medidos via espectroscopia de RAMAN, frequentemente associados à propriedades eletrocatalíticas [29]. Os resultados obtidos frente a oxidação dos analitos foram maiores reversibilidades dos picos presentes no processo redox (menores ΔE_{pico}) e maior sensibilidade

(ganho de até 200%) em detecções amperométricas para os eletrodos modificados contendo MWCNT de menores diâmetros. Dados que corroboram com resultados obtidos quanto à proporção de defeitos estruturais, mostrando melhor cinética de transferência eletrônica no caso de MWCNT menores em relação aos de maiores tamanhos.

Eletrodos modificados com MWCNT vêm sendo reportados frequentemente com sucesso em suas aplicações na eletroanálise em amostras biológicas e farmacêuticas, como o caso da utilização para determinação de compostos fenólicos como isoproterenol [30, 31], paracetamol [31], epinefrina [32], noropinefrina [33], levodopa [34, 35], e carbidopa [34] em amostras farmacêuticas e fluidos biológicos.

1.3. Técnicas Eletroanalíticas

Em um sistema de análise, independente da instrumentação, o objetivo é obter métodos analíticos com vasto alcance [36]. Dentre os parâmetros deste alcance alguns como sensibilidade, frequência analítica, portabilidade, simplicidade e baixo custo são características dos métodos eletroanalíticos, cada vez mais utilizados em pesquisa, aplicação e detecção das mais variadas espécies químicas.

Rotineiramente, nos diversos ramos da indústria, o controle de qualidade é um parâmetro importante em uma linha de produção, e além de atuar no controle interno de seus produtos, normas vigentes em cada país determina valores tolerantes de algum produto, como por exemplo, no Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) através de resoluções [37], define concentrações máximas de uma gama de compostos orgânicos ou inorgânicos lançados em efluentes como o glifosato, extensamente utilizado em agricultura, em $65 \mu\text{g L}^{-1}$ ou compostos fenólicos que reagem com a 4-aminoantipirina com limite máximo de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$. A ANVISA [38] também possui regras de vigilância sanitária controlando aditivos em alimentos ou embalagens alimentícias, como limites de 5 ppm para Arsênio, e 1 ppm para bário e cádmio presentes em materiais plásticos utilizados como recipientes.

Uma grande fatia dos métodos usados no controle de qualidade é representada pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês *High Performace Liquid Cromatography*, HPLC) com detecção UV-Vis, uma vez que esta técnica se mostra extremamente robusta e seletiva, parâmetros analíticos bastante relevantes em um método. Porém, podem apresentar algumas desvantagens como alto custo, baixa frequência analítica, tratamento prévio de amostras complexas até mesmo geração de resíduos.

Como uma alternativa, a eletroanalítica inicialmente com a polarografia, oferece soluções não só em eletroanálise, mas também na pesquisa de novos materiais, caracterizações eletrônicas, testes impedométricos, dentre outros, com aplicação das diversas técnicas presentes na instrumentação eletroquímica.

Algumas das características presentes da eletroanalítica são: alta frequência analítica; simplicidade de operação; baixo custo; portabilidade com possibilidade de uso direto na amostra; sensibilidade; possibilidade de especificação química; dentre outras vantagens. Em meio às diversas técnicas, destacam-se a voltametria cíclica e a amperometria, comumente usadas na detecção e/ou estudo de mecanismos e reações redox.

Em uma célula eletroquímica, existem três tipos de transporte de massa em uma interface eletrodo-solução: difusão, migração e convecção [39], que uma vez devidamente controladas de forma racional é possível monitorar as variáveis restantes possibilitando minimizar respostas indesejáveis como carregamento da dupla camada elétrica, responsável pela corrente capacitiva [40], deixando em evidência a corrente faradaica proveniente da transferência eletrônica em estudo.

A voltametria cíclica (em inglês, CV -*Cyclic Voltammetry*), bastante usada em análises quantitativas e qualitativas mediante um composto eletroativo, implica em uma variação no potencial aplicado no eletrodo de trabalho em uma determinada janela, resultando um voltamograma registrado de corrente versus potencial obtido. Normalmente usadas em estudos preliminares de algum analito desconhecido de interesse, capaz de coletar informações quanto à reversibilidade, elétrons envolvidos, adsorção de produtos em variadas superfícies, embora também seja relatado métodos quantitativos precisos na literatura. A Figura 5 ilustra o um experimento utilizando a técnica de voltametria cíclica.

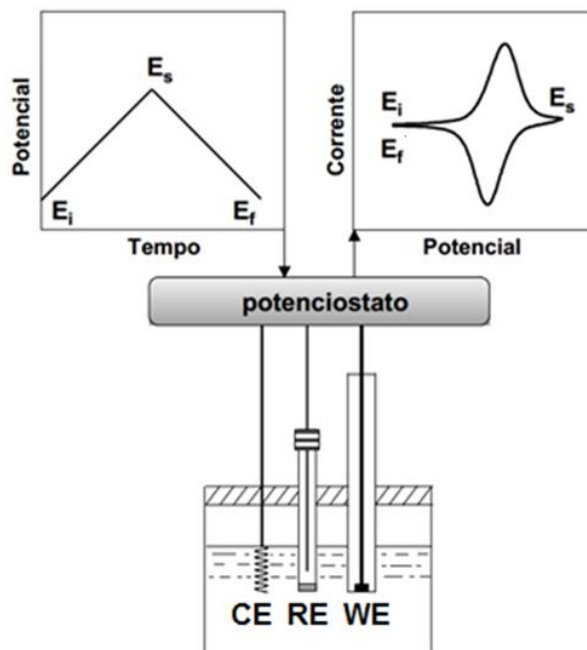


Figura 5: Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. E_i : potencial inicial; E_f : potencial final, E_s : potencial de inversão; WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar [41].

A partir uma diferença de potencial aplicada entre o eletrodo de trabalho (do inglês WE - *working electrode*) e o eletrodo de referência (do inglês RE - *reference electrode*) que deve possuir potencial elétrico conhecido e constante, a corrente resultante medida e tida como um sinal de resposta. Durante a corrida do experimento, a corrente gerada pelo sistema flui entre o WE e o Contra Eletrodo ou eletrodo de auxiliar (CE - *counter electrode*). Um eletrólito inerte se faz necessário na concentração de pelo menos 50 vezes superior [42] à concentração da espécie analítica de interesse, o suficiente para garantir que a velocidade do transporte de massa não sofra alterações para que a relação sinal eletroquímico medido e concentração da espécie analítica de interesse seja linear.

Outra técnica em destaque na instrumentação eletroanalítica é a amperometria, uma técnica cujo potencial é fixo e constante, definido de acordo com potenciais de oxidação/redução de diferentes analitos, com resposta obtida de corrente coletada versus tempo, correlacionados com concentração em técnicas analíticas. A Figura 6 ilustra o perfil de único degrau de potencial aplicado em um sistema amperométrico convencional.

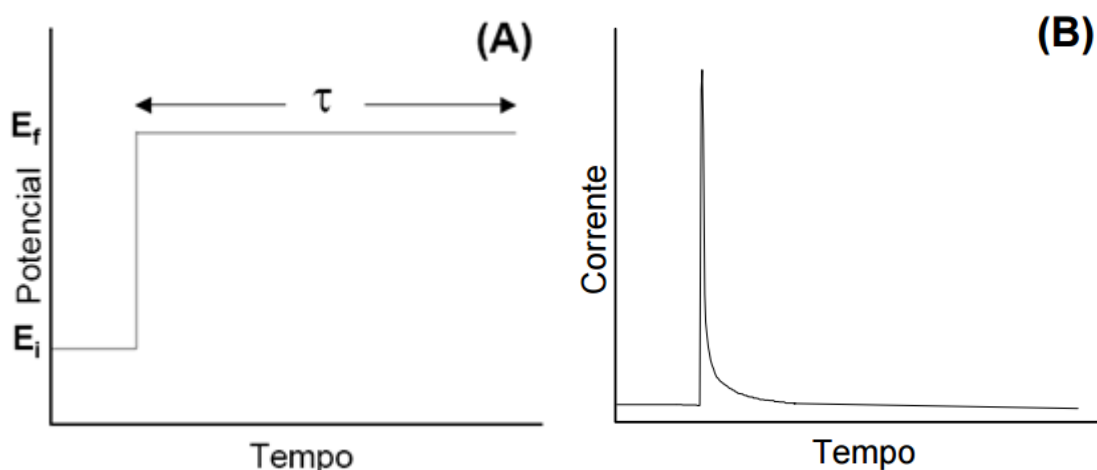


Figura 6: (A) Perturbação aplicada em um sistema amperométrico e (B) resposta de corrente para um experimento de de grau único de potencial.[41].

Sensores amperométricos apresentam diversas vantagens como baixos limites de detecção (LOD), detectando correntes em escalas baixíssimas (μA a nA), que podem ser registradas devido a menor corrente capacitiva no sistema, já que o potencial do eletrodo é mantido fixo. Podemos destacar a desvantagem da seletividade para esta técnica, já que comumente analitos possuem faixas de potenciais que se sobrepõem, sendo indicado trabalhar dentre os potenciais mínimos possíveis.

Em eletroanálise é comumente utilizado com titulações amperométricas, sensores de medições em fluxo acopladas a algum equipamento como HPLC, ou até mesmos em sistemas de Análise por injeção em Fluxo (FIA – do inglês *Flow injection analysis*) que atribuem uma alta frequência analítica ao método.

Tal estratégia de acoplamento, em sistemas de fluxo dinâmico, vem sendo frequentemente reportada na literatura com sucesso [43] e possibilita contornar problemas de adsorção na superfície do eletrodo, à medida que a amostra entra em contato com o eletrodo e dinamicamente é levada pelo fluxo, impedindo uma possível contaminação do eletrodo. Uma outra ferramenta que surge para aprimorar técnicas amperométricas é a Análise de Injeção em Batelada (do inglês *Batch Injection Analysis*, BIA), que vem se mostrando uma ferramenta eficiente e prática para se usar em eletroanálise, possuindo características semelhantes ao FIA, porém descarta a necessidade do uso de válvulas, bombas e tubos de conexão tipicamente usados no sistema FIA (todo sistema é substituído por uma micropipeta eletrônica).

1.4. Análise por injeção em Batelada

Introduzido por Wang e Taha em 1991 [44], a BIA surgiu como uma proposta de ferramenta a ser usada em análises eletroanalíticas. O seu funcionamento ocorre através da injeção de volumes pequenos do analito na superfície do eletrodo de trabalho posicionado na posição *wall-jet* (na posição oposta à pipeta injetora) em um largo volume de eletrólito, como exemplificado na Figura 7.

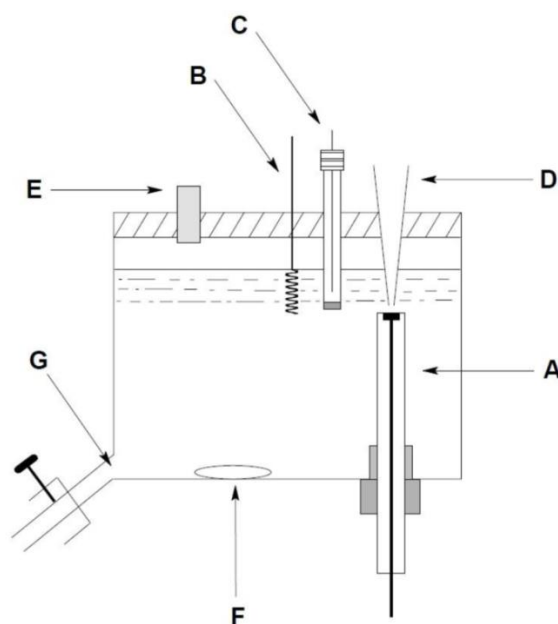


Figura 7: Representação de uma célula BIA: (A) eletrodo de trabalho; (B) eletrodo auxiliar; (C) eletrodo de referencia; (D) ponteira da micropipeta; (E) orifício para preenchimento da célula; (F) barra de agitação; (G) dreno[45] .

Por meio da Figura 8 é possível explicar a fundamentação da medida eletroquímica utilizando uma célula BIA, onde volumes na ordem de microlitros de solução, contendo o analito, são injetados formando uma zona que se dispersa a caminho do eletrodo de forma homogênea e utilizando micropipeta eletrônica [46]. O sinal apresenta a forma de um pico transiente, seguido de um decréscimo deste até a linha base devido ao efeito de “limpeza” (*washing out*) da configuração do tipo *wall-jet* [45], onde o sinal observado será proporcional à concentração do analito em questão.

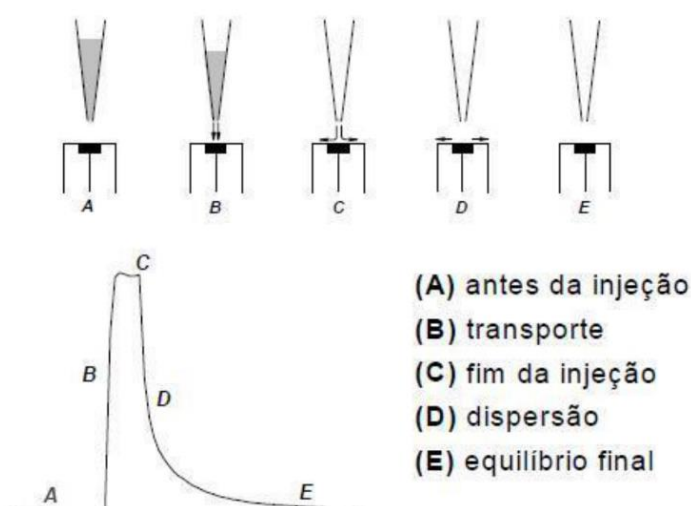


Figura 8: Descrição das etapas na injeção de uma amostra na superfície do eletrodo sólido (A) estado antes da injeção; (B) momento em que a solução contida na ponteira é deslocada em direção ao eletrodo; (C) último contato do conteúdo injetor em contato com o eletrodo; D) dispersão/diluição do conteúdo no grande banho de eletrólito; (E) superfície do eletrodo volta às suas condições da linha base [45].

Alguns aspectos são interessantes em uma célula BIA, como: alta frequência analítica, sensibilidade, simplicidade de operação, baixo custo, alto poder de diluição, já que trata-se de grandes volumes de eletrólito (aproximadamente 300 mL), prevenção da adsorção de moléculas na superfície do eletrodo, onde pode-se trabalhar com agitação em casos extremos de adsorção [47]. A distância eletrodo-micropipeta deve ser definida de forma a evitarem possíveis perturbação causada por injeção de eletrólito, causando um sinal indesejável, e se demasiadamente longe esta distância, poderá haver perda de sensibilidade devido a difusão da solução injetada no eletrólito, que é um dos pontos fortes do sistema BIA. Esta distância varia de 1-2 mm.

O sistema BIA é comumente acoplado a técnicas amperométricas com eletrodo de trabalho de diamante dopado com boro [48, 49], atingindo frequências analíticas de até 300 injeções hora⁻¹, eletrodo de ouro [47] com até 150 injeções hora⁻¹. Também são reportados trabalhos utilizando BIA com utilização de técnicas voltamétricas [50, 51].

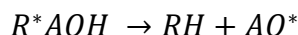
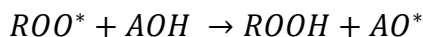
1.5. Antioxidantes fenólicos

De acordo com Halliwell e Gutteridge (1990), o termo antioxidante refere-se a uma substância que, quando presente em baixas concentrações em comparação com os níveis de um substrato oxidável, significativamente impede ou inibe a oxidação deste substrato [52].

Berthollet em 1797 e depois Davy e colaboradores em 1817 foram os primeiros cientistas a estudarem a retardação das reações oxidativas de alguns compostos (inibidores de oxidação), propondo a teoria do “envenenamento catalisador”, que foi completada posteriormente pela teoria radicalar de peroxidação. Depois, Duclaux demonstrou que o oxigênio atmosférico é o principal fator responsável pela oxidação de ácidos graxos livres [53]. Durante alguns processos de oxidação, mesmo sem respiração, formas ativas de oxigênio são formadas, incluindo formação de radicais entre outras espécies reativas de oxigênio [54], causando nos diversos organismos ou produtos uma degradação indesejável.

Substratos lipídicos insaturados são os primeiros compostos a sofrerem com a deterioração em alimentos e cosméticos. Suas misturas são compostas por tri-, di- e monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, glicolipídeos, fosfolipídeos, esteróis entre outras substâncias. Uma série de processos podem contribuir para suas degradações como polimerização, hidrólise ou isomerizações, destruindo triacilglicerídeos essenciais e vitaminas (A, D, E e K) de um alimento, alterando suas características alimentícias ou até mesmo um possível malefício na ingestão. No caso do combustível biodiesel suas propriedades como ponto de fulgor, viscosidade entre outras características podem ser alteradas quando sujeitos a condições oxidativas.

Desta forma os antioxidantes fenólicos desde os naturais, por exemplo, os tocoferóis extraídos do destilado de óleos naturais [55] até os sintéticos, foram foco de diversos estudos já que possuem uma elevada capacidade antioxidante. A presença do anel aromático na estrutura de antioxidantes primários atribui grande capacidade de estabilizar intermediários por ressonância e podem apresentar uma atividade toxicológica em organismos vivos dependendo de sua estrutura. Sua capacidade doadora de prótons da hidroxila [56] regenerando assim a molécula alvo [57], transformando-se em radicais livres que se estabilizam e impendem a propagação das reações de oxidação [58]. Após o derivado fenólico ser transformado em radical livre, a auto-estabilização ocorre entre moléculas do antioxidante, como demonstrado na equação abaixo.



onde:

ROO^* e R^* – radicais livres

AOH – antioxidante e AO^* – antioxidante como átomo de hidrogênio ativo

Suas aplicações são vastas, com enfoque na indústria alimentícia [59], muito usados na conservação de alimentos uma vez que não tóxicos e pode-se incluir em uma dieta de prevenção de processos oxidativos patológicos [60], indústria farmacêutica [61], desde uso na medicina como precursores de outras moléculas, na manutenção da estabilidade oxidativa do combustível renovável biodiesel [62-66] e em tecnologia de forma geral.

Estão presentes nos processos da indústria em diversas áreas e rejeitados no lençol freático [67]. Sendo assim, é regulamentado por lei no Brasil de acordo com o Conselho Nacional do Meio Ambiente [37], o CONAMA, o limite máximo de concentração de fenóis totais em $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ (C_6H_5OH) em qualquer corpo d'água.

Geralmente, a oxidação de compostos fenólicos produz radicais fenoxil, instáveis e que podem ser oxidados a quinonas ou podem reagir entre eles para formar dímeros que depois polimerizam em compostos poliaromáticos [68]. Os vários estudos realizados a este propósito baseiam-se em técnicas eletroquímicas [69]. A sua facilidade em oxidar-se será de grande importância para a sua eficiência como antioxidantes, onde estudo eletroquímico dos seus potenciais redox são de suma importância [69-72].

1.5.1. Hidroquinona e Catecol

A Hidroquinona (HQ) ou 1,4-dihidroxibenzeno, de fórmula estrutural $C_6H_4(OH)_2$, possui peso molecular de $110,1 \text{ g mol}^{-1}$, aparência cristalina branca, pontos de fusão e ebulição de 172°C e 287°C , respectivamente, possuindo duas hidroxilas ligadas a um anel benzênico em posição *-para*. Foi primeiramente obtida a partir da destilação de ácidos químicos em 1820 por Pelletier e Caventou e tem sua procedência natural em madeiras, tabacos, óleos naturais e outros produtos; hoje é obtida por várias rotas [73].

O Catecol (CT) ou 1,2-dihidroxibenzeno, de fórmula estrutural $C_6H_4(OH)_2$, possui peso molecular de $110,1 \text{ g mol}^{-1}$, aparência cristalina e marrom, pontos de fusão e ebulição de 105°C

e 245,5°C, respectivamente, e suas hidroxilas ligadas ao anel benzênico estão direcionadas na posição *-orto*, o que faz do CT um isômero da hidroquinona e também do resorcinol (1,3-dihidroxibenzeno). Foi primeiramente isolado em 1839 por Edgar Hugo Emill Reinch, e tem sua procedência natural em algumas plantas, sendo hoje obtidos por diversas rotas. Uma destas rotas é a oxidação do Fenol, que pode gerar ambos os isômeros HQ ou CT ilustrados na Figura 9, produtos nos quais são conhecidos por possuírem processos eletroquimicamente reversíveis envolvendo 2 elétrons e 2 prótons.

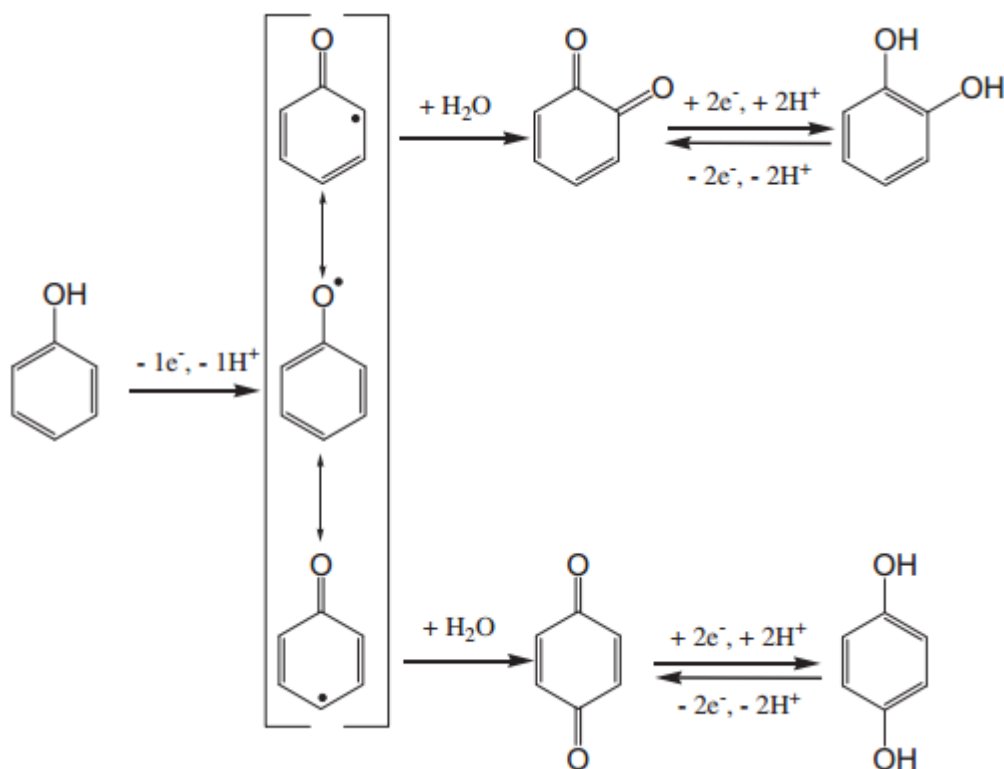


Figura 9: Mecanismo de oxidação do fenol, obtendo os produtos *-orto* (CT) ou *-para* (HQ), e seus mecanismos reversíveis de oxi-redução [73].

Suas aplicações são vastas nas diversas áreas devido ao seu forte poder redutor, atuando na revelação de filmes, atuando como um antioxidante, indústria de cosméticos no clareamento de peles [74] para a HQ, que outrora foi banido pela agência reguladora *Food and Drug Administration (FDA)*[75], por ter sido provada sua atividade cancerígena quando em contato com a pele em testes com pequenos roedores [76]. Também estão presente nas indústrias de polímeros atuando como um estabilizador de polimerização, impedindo a propagação, obtendo controle sobre esta e também atuando como intermediário em reações de produção de compostos orgânicos utilizados em pesticidas [77] entre outras áreas. Seus resíduos são

dispensados em lençóis freáticos, onde se faz necessário o desenvolvimento de métodos para análise deste composto.

Na literatura estão previstos vários procedimentos para detecção destes dois isômeros dentre eles utilizando detecção por fluorescência [78], quimioluminescência [79], espectrofotometria [80], extração em fase sólida [81], radiólise de pulso [82], cromatografia de camada delgada [83], UV-VIS [84], eletroforese capilar [85] e Cromatografia Líquida de Alta Performance (*HPLC – High Performance Liquid Chromatography*) com detecção UV-VIS [86].

Técnicas cromatográficas com os diversos detectores disponíveis são vastamente utilizadas na indústria e no controle de qualidade. mas são morosas, apresentando alto gasto de reagentes e, conseqüentemente, um alto custo operacional, desde materiais até o operador. A eletroanálise vem como uma alternativa em soluções analíticas, pois apresenta alta frequência analítica, simplicidade de operação, baixo custo, geração de poucos resíduos, limites de detecção baixos e capacidade de substituir a função dos métodos de separação por apresentar possibilidades de especificação e análises simultâneas.

Tais características da eletroanalítica se mostram presentes, já que diversos métodos eletroquímicos são comumente reportados na literatura para detecção destes dois isômeros sem necessidade de prévias separações utilizando técnicas amperométricas [87], técnicas voltamétricas [88] e, na sua grande maioria, métodos que envolvem modificação de eletrodo [74, 77, 87-92].

Cunha e colaboradores desenvolveram um método utilizando diamante dopado com boro como eletrodo de trabalho usando amperometria acoplado a BIA na detecção de HQ. O eletrólito usado foi 0,1 mol L⁻¹ de H₂SO₄ apresentando boa repetibilidade com desvio padrão relativo (RSD – *relative standard deviation*, de 0,45% , n = 20) , ampla faixa linear (10-2000 µmol L⁻¹ , R = 0,9999) e baixo limite de detecção (0,016 µmol L⁻¹) [87].

Em um trabalho desenvolvido por Wang e colaboradores, um eletrodo de pasta de carbono eletropolimerizado com ácido glutâmico atuando como um eletrodo de trabalho foi aplicado para detecção simultânea de CT e HQ por voltametria atingindo limite de detecção de HQ, na presença de 0,1 µmol L⁻¹ CT, igual a 1 µmol L⁻¹, limite de detecção de CT, na presença de 0,1 µmol L⁻¹ HQ, foi de 0,8 µmol L⁻¹ [90].

Utilizando nanotubos de carbono para modificar a superfície de um eletrodo GC, Zhang e colaboradores mostraram o potencial eletrocatalítico dos nanotubos, através de voltametria de pulso diferencial os autores conseguiram definir seus picos de oxidação possibilitando assim a análise simultânea para esses dois analitos. A faixa linear de trabalho para HQ é ampla ao longo

de um intervalo de 1 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ CT com o limite de detecção de 0,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e a corrente de pico de oxidação do CT é linear em uma faixa de 0,6 até 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ HQ com limite de detecção 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ [91].

1.5.2. *Terc*-butil hidroquinona

A *terc*-butil hidroquinona (TBHQ) é um derivado da hidroquinona substituído com um grupo *terc*-butil, possui aspecto cristalino branco com peso molecular de 166,22 g mol⁻¹, pontos de fusão e ebulição de 127-129 °C e 273 °C, respectivamente. Levemente solúvel em água e moderadamente solúvel e óleos e gorduras, não forma complexo com cobre[57].

Um composto sintético introduzido na década de 70 e aprovado em 1972 como antioxidante na indústria alimentícia é o grande representante de antioxidantes primários utilizados neste ramo ao lado de BHA (2,3-*terc*-butil-4-hidroxianisol) e BHT (2,6-ditert-butil-p-cresol), e é considerado o melhor também para usar em óleos destinados a frituras devido à sua resistência ao aquecimento e maior eficiência em óleos insaturados, atribuindo estabilidade ao produto final.

Sua utilização no ramo só pode ser autorizada mediante pesquisa acima da segurança do produto e ingestão, onde os níveis diários de ingestão aceitável de acordo com a *Food and Agriculture Organization* (FAO) [93] das Nações Unidas são 0,3, 0,5 e 0,7 mg kg⁻¹ de peso corporal dia⁻¹ de BHT, BHA, e TBHQ, respectivamente. Segundo a ANVISA [38] é permitido adição de 200 mg Kg⁻¹ de BHA e TBHQ e 100 mg/Kg de BHT a óleos e gorduras.

Os métodos utilizados para determinação de TBHQ incluem espectrofotometria UV-visível [94, 95], cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector de fluorescência [96] e UV-VIS [97], extração em ponto Nuvem - HPLC de fase inversa [98, 99] espectrometria de massa por tempo de voo, HPLC (HPLC-TOF-MS) [100], cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa (GC-MS) [101, 102], e métodos eletroquímicos [103-106] com eletrodos modificados [107, 108]. A Figura 10 representa o mecanismo de oxidação do TBHQ.

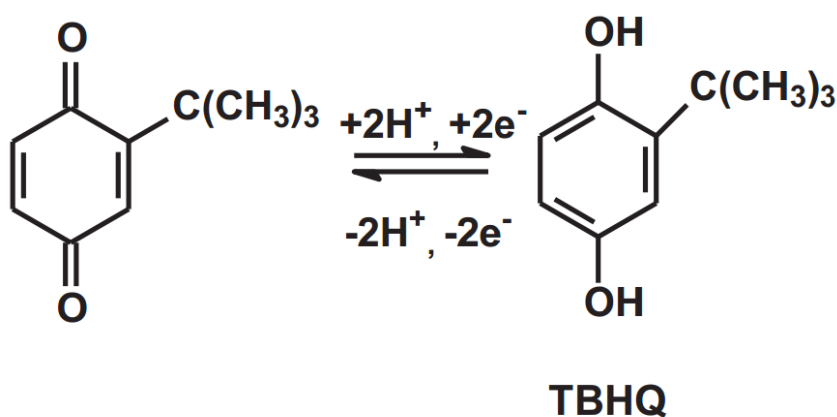


Figura 10: Mecanismo de oxi-redução reversível do TBHQ[107].

Métodos eletroanalíticos representam uma alternativa na solução analítica deste antioxidante, uma vez que trabalhos publicados com detecção eletroquímica se mostram eficientes tanto no parâmetro de faixas lineares até possibilidade de detecções simultâneas.

Tormin e colaboradores propuseram um método amperométrico de análise simultâneo de BHA e TBHQ acoplado a BIA, sem necessidade de preparo complexos de amostras, seguindo apenas diluições, atingindo alta frequência analítica (170 injeções h⁻¹), bons índices de recuperação (100 e 110%) em amostras de biodiesel dopado, apresentando baixos limites de detecção (73 e 75 nmol L⁻¹ BHA e TBHQ, respectivamente), ampla faixa linear (1-1000 µmol L⁻¹) e podem ser facilmente adaptados para determinações no local [103].

A partir da modificação de um eletrodo GC com nanopartículas de ouro, Xiaoyun e colaboradores mostraram um método voltamétrico simultâneo para análise de TBHQ, BHT e BHA, onde devido à modificação, o eletrodo é capaz de definir suficientemente alguns picos possibilitando a análise simultânea. O método proposto foi aplicado com sucesso em amostras de óleo, com faixa linear de 0,10-1,50 g mL⁻¹, 0,20 - 2,20 g mL⁻¹ e 0,20 - 2,80 g mL⁻¹ e limites de detecção iguais a 0,039, 0,080 e 0,079 g mL⁻¹, para BHA, BHT e TBHQ, respectivamente.

1.5.3. Pirogalol

Pertencente à família dos compostos fenólicos [109], o 1,2,3-Trihidroxibenzeno, ou Pirogalol (PY) é um composto orgânico de aparência cristalina branca, sem odor, de peso molecular 126,11 g L⁻¹ solúvel em água e etanol, com ponto de fusão de 131-134 °C e ponto de ebulição 309 °C.

Primeiramente preparado por Scheele, em 1786, por meio do aquecimento do ácido gálico e, mais a frente, isolado e identificado por Bracconot, em 1832 [110], o Pirogalol é, naturalmente, um sub produto da decomposição de ácidos húmicos, podendo estar presentes em chás, tabaco e no café ricos em ácidos químicos.

O PY apresenta uma forte propriedade redutora [111], o que lhe confere características úteis em diversas aplicações como em processamento fotográficos, indústria de cosméticos em tinturas de cabelo [112, 113] onde já se provou ter características cancerígenas [113] sendo proibido na União Europeia e EUA. Também tem sua aplicação na indústria farmacêutica [61, 114], métodos de detecção de oxigênio [111], além de atuar como um ótimo antioxidante [115, 116], inclusive em biodiesel combustível [62-66], onde é indicado como um dos melhores antioxidantes fenólicos usados na conservação deste produto [62].

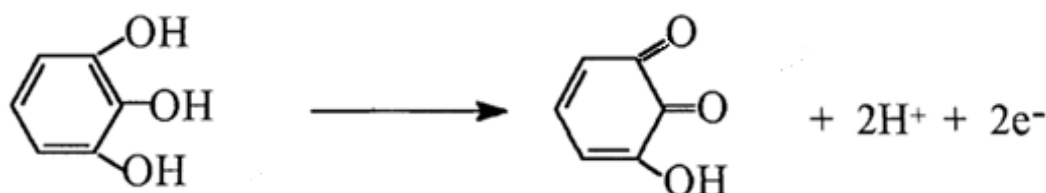


Figura11: Mecanismo de oxidação irreversível do Pirogalol em condições ácidas [117].

Existem diversos métodos previstos na literatura desenvolvidos para detecção do PY e estão listados como métodos colorimétricos [118], espectrometria UV-Visível [119]. HPLC com detecção de arranjo de diodos [120, 121], detecção eletroquímica [122], quimioluminescência [115, 123, 124], eletroquimioluminescência [125], eletroforese capilar [126] e métodos eletroquímicos sem utilização de técnicas de separação [117, 127]. Dentre as técnicas eletroquímicas usadas, a modificação de eletrodos com diversos substratos se mostra bastante eficiente e é possível encontrar alguns artigos na literatura [109, 111, 128-131].

Dentre os métodos conhecidos, a quimioluminescência atinge valores de limites de detecção na casa de $0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$, ou até mesmo a eletroquimioluminescência que chega a atingir $0,016 \mu\text{mol L}^{-1}$ de limite de detecção. Porém, ambas as técnicas são complicadas, normalmente envolvem algumas espécies ativas de oxigênio [127], requerendo custo alto e tempo de análise elevado.

Araujo e colaboradores descreveram um método a partir de um simples preparo de amostras de biodiesel, um procedimento utilizando voltametria de varredura linear (do inglês LSV - *Linear sweep voltammetry*) para detecção de PY com SPE's (*Screen Printed Electrodes*). Em condições otimizadas, o método possui uma faixa linear de $0,8-9,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, com limites

de detecção de $0,49 \mu\text{mol L}^{-1}$, e alcança resultados confiáveis, quando comparado ao método envolvendo HPLC [109].

A utilização de sensores portáteis do tipo 3 em 1 (eletrodos impressos - SPE) também foi reportada por Feng e colaboradores, onde através da pré-anodização de um SPE de carbono, foi desenvolvido um método amperométrico acoplado a um sistema FIA com alcance de $10-1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ de faixa linear de trabalho, limite de detecção de $0,33 \mu\text{mol L}^{-1}$, de simples operação e testado em amostras de água de lago [127].

Métodos com a utilização de modificações também são frequentemente reportados, como apresentado por Bardawy e colaboradores onde através de um filme de polyaminoantraquinona (AAQ) eletropolimerizado em um substrato de platina, sete compostos fenólicos isoladamente foram estudados, entre eles o PY, apresentando um limite de detecção $0,11 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ em duas diferentes condições de modificação, e uma substancial melhora no ganho de corrente de oxidação [129].

A detecção eletroquímica do PY se mostra promissora devido à sua eletroatividade em eletrodos sólidos e mediante necessidade de desenvolvimento de métodos mais eficientes e sensíveis, com alta frequência analítica, com baixo custo e com possibilidade de portabilidade.

1.6. Biodiesel

O biodiesel surge como uma alternativa renovável, com promissoras características para substituir os combustíveis fósseis derivados de petróleo, apresentando propriedades físicas semelhantes sem necessidade de adaptações de motores usados em todo o mundo [132]. Sua obtenção é realizada a partir da transesterificação ou esterificação de oleaginosas vegetais e gorduras animais, que consiste, basicamente, na reação do triacilglicerídeo com álcool na presença de catalizador ácido ou básico [133], presente na Figura 12:

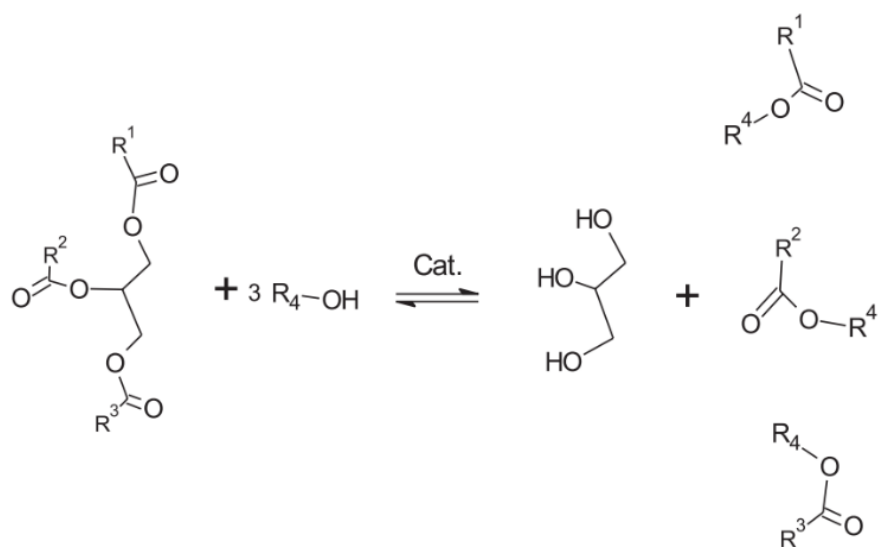


Figura 12: Reação de transesterificação de triglicerídeos[133].

A matéria prima base para a produção deste possui, por característica, abundancia em instaurações, o que confere ao produto final biodiesel uma considerável propensão a degradação oxidativa [65], impossibilitando sua real aplicabilidade já que este material será transportado sujeito a altas temperaturas, contato com superfícies metálicas e tempo de armazenamento, fatores que colaboram para tais processos oxidativos [133]. Sua degradação é provocada por um mecanismo de auto oxidação em cadeia [134], e são propostos na literatura maneiras de contornar tal problemática como preparo de blendas de biodiesel [64] e inserção de anti-oxidantes naturais e sintéticos [62, 63, 65, 66].

Como determinado pela lei nº 11.097 de 13/01/2005 [135] com a finalidade de impulsionar o uso deste, adiciona-se 5% de biodiesel em diesel comercial em todo território nacional, caracterizando as blendas biodiesel-diesel, que devem estar dentro dos parâmetros estipulados pela Agência Nacional de Petróleo, a ANP.

A adição de antioxidantes na conservação de biodiesel é bem comum nas indústrias, sendo que o TBHQ, BHA, PG (Propil galato) são comumente usados juntamente com o PY que está entre os mais utilizados e que apresentam melhores resultados na manutenção da estabilidade oxidativa do combustível [65]. A utilização de métodos eletroanalíticos [103, 108, 109, 136-141] na determinação eletroquímica de antioxidantes em biodiesel apresenta diversas vantagens em relação a técnicas usuais mais utilizadas como HPLC com utilização de diversos detectores [98, 99, 122, 142] e outras técnicas com cromatografia gasosa com detector por espectrometria de massa [102].

A simplicidade de operação é uma característica presente na eletroanalítica, principalmente quando se trata de amostras de matrizes complexas, como é o caso do biodiesel, onde o preparo representa uma etapa crucial na formulação de um método. A versatilidade da detecção eletroquímica neste ponto facilita a instrumentação analítica para utilização em amostras como biodiesel.

No método proposto por Araujo e colaboradores foi desenvolvido um método para análise de TBHQ em biodiesel de soja, com preparo de amostras simples na presença de surfactante, em uma faixa linear de $1,05 - 10 \mu\text{mol L}^{-1}$ por voltametria de onda quadrada atingindo níveis satisfatórios de recuperação de até 95% [137]. Tormin e colaboradores também descrevem um método de análise de BHA em biodiesel com uma etapa de preparo de amostras simples, contendo apenas seguidas diluições. O método amperométrico acoplado a BIA atingiu níveis satisfatórios de recuperação quando comparado com as medidas realizadas em HPLC [138].

Os antioxidantes mais presentes em biodiesel são BHT, TBHQ e PG, e estes possuem uma vasta quantidade de artigos publicados na literatura [103, 108, 136, 137, 140, 141, 143], enquanto o PY não possui uma quantidade significativa de métodos eletroanalíticos descritos [109], o que traz a necessidade de desenvolvimento de novos métodos eletroanalíticos para determinação deste antioxidante em biodiesel.

1.7. Objetivos

Desenvolver e avaliar dispositivos sensoriais eletroquímicos de GC modificado com materiais nanoestruturados de dois MWCNTs com diferentes dimensões, LD-MWCNT com medidas de 100–170 nm x 5–9 μm e SD-MWCNT com dimensão de 6–9 nm x 5 μm (diâmetro x comprimento).

Investigar o perfil voltamétrico e amperométrico de CT, HQ, TBHQ e PY nos diferentes eletrodos (GCE, LD-MWCNT e SD-MWCNT).

Desenvolver e aplicar método analítico para a determinação de PY em amostras de biodiesel utilizando sistema BIA com detecção amperométrica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Reagentes

As soluções usadas neste trabalho foram previamente preparadas aos experimentos, sempre utilizando água deionizada tipo Mili Q (Millipore, Bedford, MA, EUA) com resistividade 18 M Ω cm e todos os reagentes utilizados são de elevado grau de pureza fornecidos por empresas listadas na Tabela 1, com suas respectivas purezas.

Tabela 1: Reagentes sólidos e líquidos usados neste trabalho, com procedência e pureza.

Reagentes líquidos	PROCEDÊNCIA	% (m/m)
Ácido perclórico	Reagen	70
Ácido acético glacial	Synth	99,7
Ácido fosfórico	Reagen	85
Ácido nítrico	Synth	64
Dimetilformamida (DMF)	Vetec	PA
Etanol (EtOH)	Dinâmica	Absoluto
Ácido sulfúrico	Vetec	95
Reagentes sólidos	PROCEDÊNCIA	PUREZA
Hidróxido de sódio	Dinâmica	PA
Ácido bórico	QM	PA
Cloreto de potássio	Proquimios	PA
SD-MWCNT (D x L 6–9 nm x 5 μ m)	Sigma-Aldrich	> 95 %
LD-MWCNT (D x L 100–170 nm x 5–9 μ m)	Sigma-Aldrich	> 95 %
Hidroquinona	Across	< 99%
Catecol	Across	< 99%
Pirogalol	Sigma-Aldrich	< 99%
<i>Terc</i> -butil-hidroquinona	Across	< 98%

2.2. Preparo de amostras e soluções

Eletrólitos suporte utilizados tanto nos testes de pH quanto em testes analíticos foram preparados antes de cada experimento e devidamente estocados. Foram usadas soluções de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão Britton-Robinson (pH 2 a 7) devidamente ajustadas com NaOH,. As soluções estoque na concentração de 10 mmol L^{-1} para cada analito HQ, TBHQ, CT e PY foram previamente preparadas sendo diluídas com eletrólito suporte sempre antes do experimento realizado. A HQ por ser levemente solúvel em água necessitou de 30 minutos de sonicação para atingir total solubilidade.

As dispersões de nanotubos de carbono foram efetuadas em DMF em concentração de 1 mg mL^{-1} sempre preparadas no dia de trabalho e nunca reaproveitadas.

2.2.1. Preparo de amostras de Biodiesel

As amostras de biodiesel de soja, canola e algodão utilizadas neste trabalho foram produzidas no próprio laboratório isentos de qualquer adição de outros antioxidantes e foram utilizadas no teste de recuperação de PY. As alíquotas injetadas foram preparadas mediante seguidas diluições totalizando uma diluição de 363 vezes como exemplificado na Figura 13.

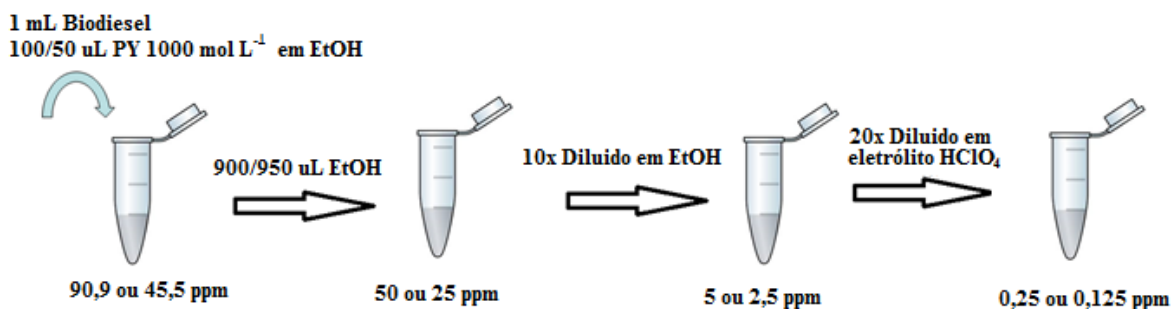


Figura 13: Esquema de preparo de amostras dopadas a partir de seguidas diluições em álcool e etanol.

Uma dopagem com níveis de 90 ou 45 ppm foi realizada adicionando o volume de 50 ou 100 μL de uma solução estoque de 1000 ppm de PY em EtOH em 1 mL de biodiesel contido em um eppendorff de 2 mL. Seguidas diluições em EtOH e eletrólito suporte composto por HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foram realizadas totalizando uma diluição de 90,9/45,5 ppm para 0,25/0,125 ppm (363,3 vezes).

Amostras foram em seguida injetadas em sistema BIA com detecção amperométrica em eletrodo modificado com SD-MWCNT aplicando 0,9 V em condições otimizadas.

2.3. Funcionalização dos MWCNT

Para a funcionalização com grupos carboxílicos, 1 g foi adicionada a uma mistura ácida de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ 3:1 (1000 mL) submetidos a um banho ultrassônico por três horas a 60°C . Após resfriamento até temperatura ambiente, os MWCNT funcionalizados foram adicionados gota a gota em 3000 mL de água deionizada e filtrada a vácuo com elevados volumes de água deionizada adicionados até obtenção de pH neutro [144].

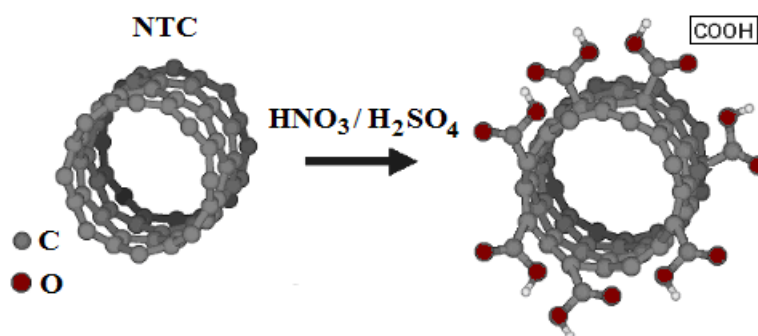


Figura 14: Rota de funcionalização com grupos carboxílicos.

A funcionalização de MWCNT auxilia na formação da dispersão preparada em diversos solventes, já que uma vez não funcionalizados não há formação e uma suspensão homogênea [145], e também evidencia uma melhora em sinal obtido, sugerindo menores resistências na transferência eletrônica [144].

2.4. Eletrodos de trabalho, referência e auxiliar

O eletrodo de trabalho (WE) utilizado foi o eletrodo de carbono vítreo, modificado ou não, de diâmetro de 1,6 mm e adquirido da empresa BASi (West Lafayette, EUA). O filme depositado por contato sempre foi realizado para cada novo dia de análise. A limpeza deste se faz necessário sempre ao fim de cada dia de utilização, utilizando alumina (granulometria 0,3

μm) e enxaguado exaustivamente com água deionizada e posteriormente seco com pano de algodão.

Antes de qualquer análise, voltamogramas cíclicos em eletrólito suporte foram realizados para condicionamento do eletrodo e possível descontaminação ainda existente no eletrodo. O RE foi preparado pela eletrodeposição de AgCl sobre um fio de Ag (30,0 mm x 1,0 mm de diâmetro) através da oxidação (0,3 V versus Ag/AgCl) do fio de prata em meio de HCl 0,1 mol L⁻¹ durante uma hora. Após a eletrodeposição, o fio de Ag/AgCl foi inserido em uma ponteira de micro pipeta de 100 μL , a qual foi obstruída na sua extremidade menor por meio de uma junção porosa (separador de bateria de automóveis) e preenchida com uma solução de KCl_{sat}, constituindo dessa forma o mini-referência [146]. Como eletrodo auxiliar (CE) foi usado um fio de platina, de aproximadamente 3 cm, inserido em uma ponteira de micropipeta de 100 μL . Os eletrodos utilizados estão representados na Figura 15.

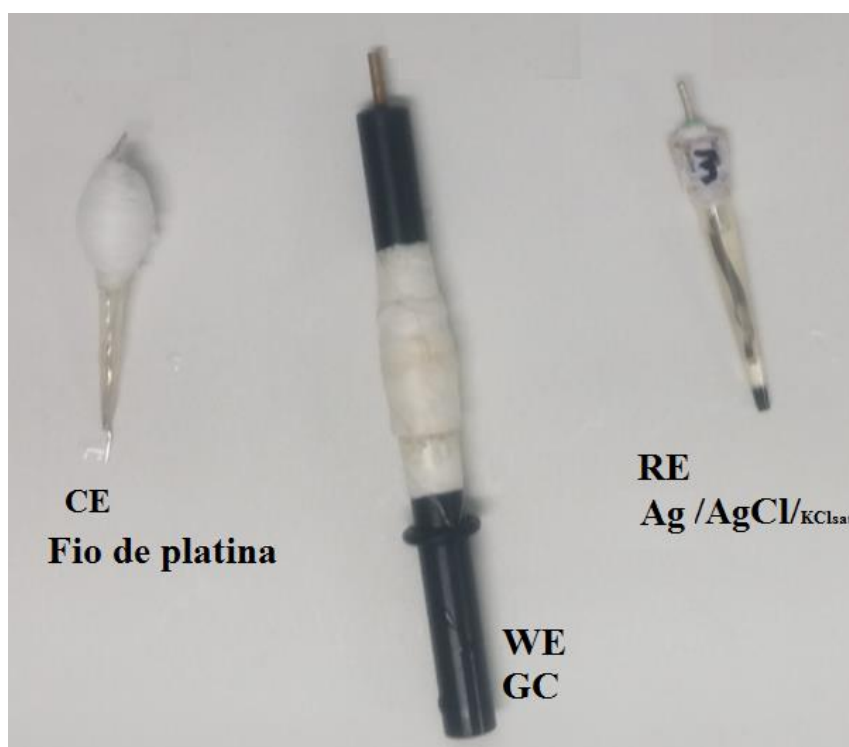


Figura 15: Eletrodo auxiliar (CE – fio de platina), eletrodo de trabalho (WE) e eletrodo de referência, utilizados neste trabalho.

2.4.1. Preparo de WE modificados com MWCNT

A superfície do eletrodo de trabalho de GC foi previamente sujeita a uma limpeza, a partir do polimento com uma suspensão alumina ($0,3\ \mu\text{m}$) em um suporte de feltro, seguido de lavagem com água deionizada, e então sonicada por 5 min em solução hidroetanólica, e seca ao ar.

Uma suspensão contendo MWCNT funcionalizados em dimetilformamida (DMF) foi sujeita a uma sonda localizada de alta frequência por 15 min de pulso (5 s de pulso e 2 s de repouso) com amplitude 35 %, utilizando uma ponteira. Imediatamente após o tempo corrido, $10\ \mu\text{L}$ desta suspensão foram então depositados na superfície do GC, formando uma gota da suspensão em sua interface; posteriormente, o eletrodo foi aquecido por 30 min estufa a 60°C . A Figura 16 ilustra a modificação do eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

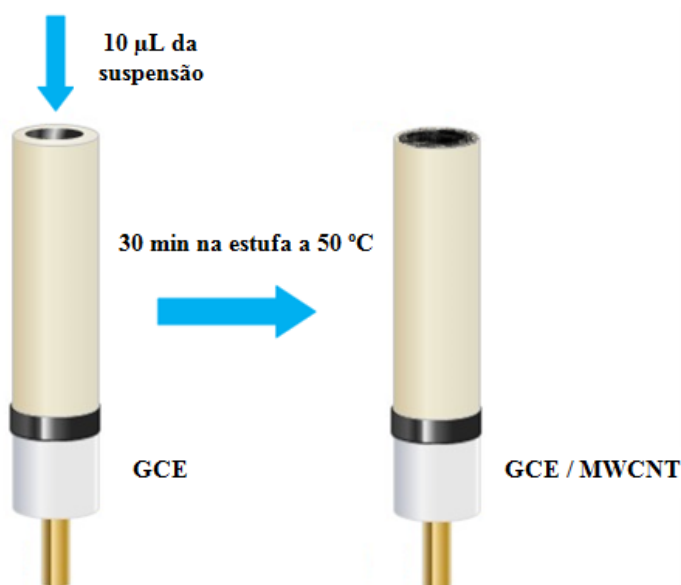


Figura 16: Esquema representativo para a modificação do eletrodo de carbono vítreo com filme de MWCNT de ambos os diâmetros usados.

Após tempo de secagem da modificação é possível observar sutilmente a olho nu a modificação, conferindo ao eletrodo uma leve camada de material carbônico ao longo de sua superfície, que cobre não somente a superfície condutora ativa, mas também o polímero base. Este eletrodo então é lavado levemente com água deionizada, e então sujeito a voltametria cíclica em uma janela de 0 a 1 V em eletrólito HClO_4 com $50\ \text{mV s}^{-1}$ de velocidade de varredura, até obtenção de um voltamograma reproduzível, o que foi obtido com cinco ciclos.

Este método de modificação vem sendo reportado na literatura frequentemente, demonstrando que a adsorção de MWCNT é capaz de produzir eletrodos estáveis e reprodutíveis [147].

2.5. Instrumentação

O preparo das suspensões de MWCNT em DMF foram auxiliados por uma sonda ultrassônica Cole-Parmer, modelo CPX 130 de potência igual a 130 W e frequência de 20 KHz durante 15 minutos (alternando entre 5 segundos ligado e 2 segundos desligado com 35% de amplitude).

Todas as medidas eletroquímicas foram efetuadas em um μ -Autolab Type III (Eco Chemie, Utrecht, Netherlands) acopladas em um computador com o software NOVA >1.11 para aquisição de dados. As análises voltamétricas foram realizadas em um béquer de 10 mL e os testes amperométricos foram efetuados acoplados ao sistema BIA.

2.5.1. Sistema BIA

A célula BIA utilizada foi construída no próprio laboratório com dimensões $\phi_{\text{interno}} = 7,3$ cm; altura = 7,1 cm; volume total = 200 mL.

A célula é um recipiente cilíndrico com base de polietileno com um orifício central de 11,5 mm para inserção do eletrodo de trabalho, e uma tampa finamente instalada também de polietileno possuindo um orifício central para inserção da ponteira injetora na posição *wall-jet* (invertida em relação ao eletrodo de trabalho, e outros 3 orifícios para inserção do eletrodo auxiliar e referência e um orifício livre para possível utilização de um motor agitador.

Um suporte de acrílico com orifício para contato elétrico foi utilizado para dar sustentação à célula e sua pipeta injetora de forma a ficarem estáveis e fixos à bancada. A pipeta injetora usada é uma Eppendorf® Multipette stream com uma ponteira de 1 mL, a qual oferece dez velocidades de injeção diferentes (níveis de 1 a 10), sendo que estes níveis correspondem, respectivamente, às seguintes velocidades de injeção: $v_1 = 28$; $v_2 = 43$; $v_3 = 56$; $v_4 = 75$; $v_5 = 100$; $v_6 = 113$; $v_7 = 156$; $v_8 = 193$; $v_9 = 256$ e $v_{10} = 344 \mu\text{L s}^{-1}$. O posicionamento da ponteira de 1 mL deve cuidadosamente definido afim de obter resultados livres de sinais de eletrólitos e efeitos de transporte de massas que pudessem afetar os resultados. [45]

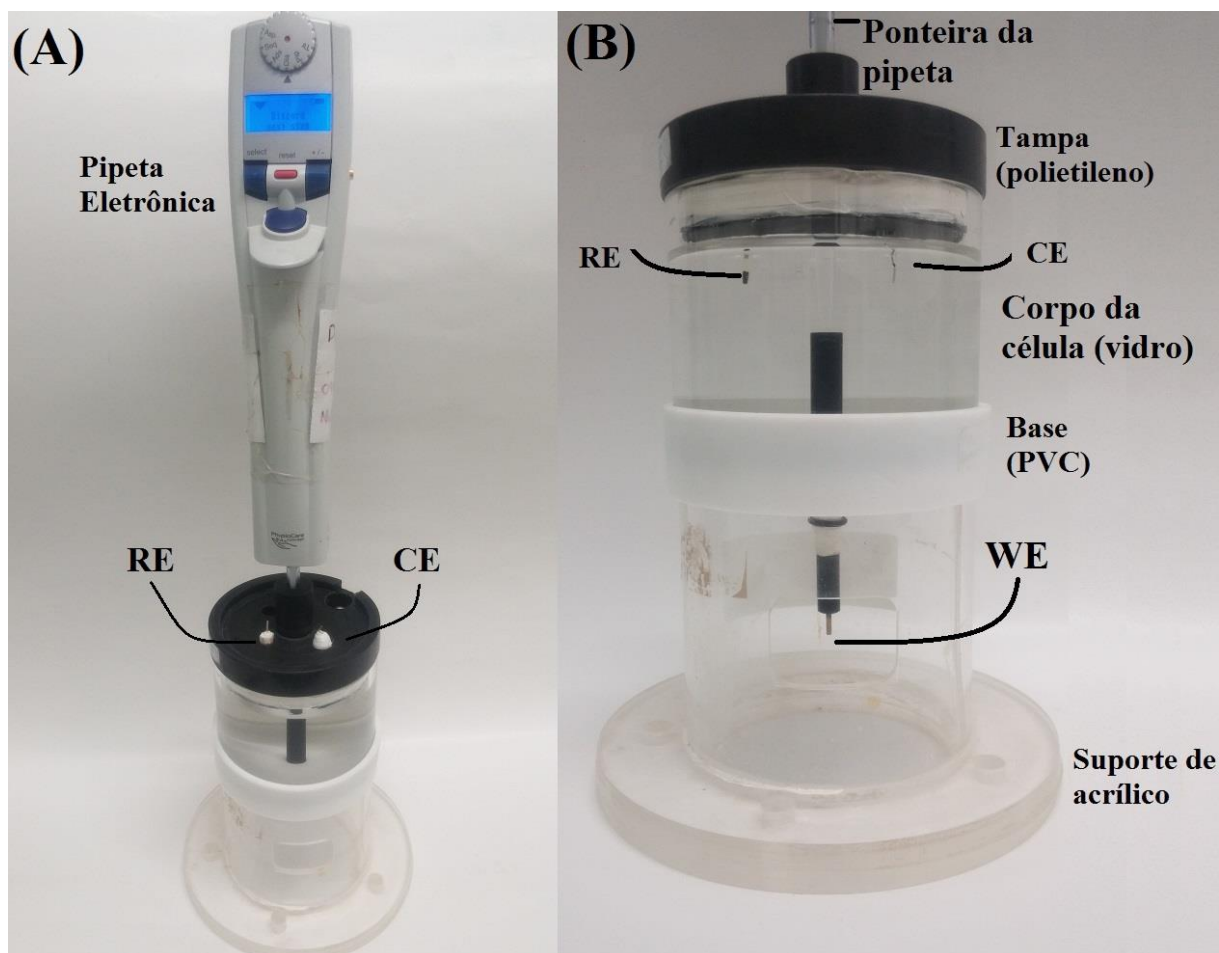


Figura 17: (A). Sistema BIA completo com pipeta eletrônica Eppendorf e 3 eletrodos inseridos; (B) Sistema BIA no suporte de sustentação de acrílico com orifício para contato, RE (Ag/AgCl/KCl_{sat}) e CE (fio de platina) inseridos na tampa de polietileno, e WE (GC/LD-MWCNT/SD-MWCNT) inserido na posição *wall-jet* à ponteira inserida.

Para o bom funcionamento de todo o aparato sempre se faz necessário uma checagem de alguns detalhes que atribuirão uma maior robustez como centralização do eletrodo de trabalho no orifício, utilizando teflon para uma ótima fixação deste e de tampas, juntamente com outros eletrodos de referência e auxiliar. Os cabos de contato sempre devidamente conectados a fim de evitar a movimentação deste durante as medidas, e um suporte metálico com hastes para melhor apoio para a pipeta eletrônica, evitando possíveis variações de posição durante a injeção.

2.6. Técnicas eletroquímicas

Os eletrodos não modificados e modificados de GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT foram sujeitos a testes voltamétricos e amperométricos.

2.6.1. Voltametria

Testes com voltametria cíclica foram realizados em uma célula eletroquímica de 10 mL contendo os 3 eletrodos acima descritos ilustrado na Figura 18.

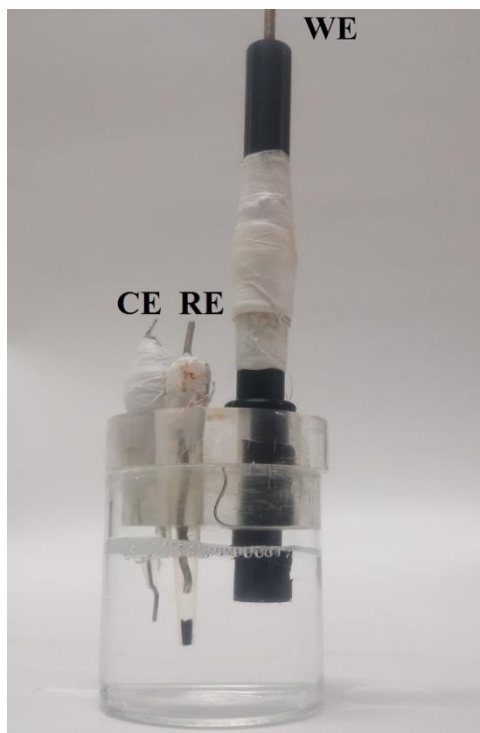


Figura 18: Célula eletroquímica de 10 mL utilizada nos testes voltamétricos.

Os testes voltamétricos iniciais foram usados para obter melhor pH de trabalho e definição de eletrólito, caracterizações voltamétricas, seguidos de teste de variação da velocidade de varredura realizado em eletrodo de carbono vítreo para todos os analitos com uso de uma faixa tamponante de pH entre 3 e 7 usando tampão Britton-Robinson, e Ácido Perclórico 0,1 mol L⁻¹ em solução aquosa. A concentração usada dos analitos foi de 1 mmol L⁻¹, onde os parâmetros avaliados foram principalmente corrente de pico e variação do potencial de oxidação.

Para avaliar o comportamento de cada molécula frente às superfícies estudadas, usando uma janela de potencial de 0 a 1 V e na presença de 1 mmol L⁻¹ em eletrólito otimizado, variou-se a velocidade de varredura (5 – 1000 mV s⁻¹), com finalidade de avaliar se o processo em cada uma das superfícies é difusional ou adsorptivo, como também avaliar as variações nos potenciais dos pares redox para cada analito.

2.6.2. Amperometria acoplada a sistema BIA

Testes amperométricos foram efetuados em uma célula BIA de aproximadamente 300 mL, construída no próprio laboratório. Para injeção da amostra em sistema BIA foi utilizado uma pipeta eletrônica [46] (*Eppendorf Multipette stream*) na posição *wall-jet* a uma distância fixa do eletrodo de trabalho.

Uma otimização de parâmetros como velocidade de despejamento e volume injetado deve ser realizada para obter um melhor sinal de corrente, escapando de sinais provenientes de injeção de eletrólito, obtendo injeções mais reprodutíveis e amenizando da melhor forma possível o ruído no sistema.

A distância da ponteira injetora-eletrodo foi fixada em 1,5 mm na execução de todo este trabalho, pela marcação da profundidade inserida do eletrodo de trabalho na célula BIA.

Após otimização dos parâmetros do sistema BIA, injeções de concentrações crescentes variando de 1 – 1000 µmol L⁻¹ foram feitas para cada analito em cada superfície estudada. O potencial de trabalho da corrida foi fixado mediante estudo prévio de injeções de 50 µmol L⁻¹ em diferentes potenciais, para cada superfície e cada analito, registrando assim os voltamogramas hidrodinâmicos.

A sensibilidade é um fator importante em qualquer medida analítica, e diz respeito à variação do sinal de resposta pela variação de unidade de concentração do analito. Matematicamente, a partir da equação da reta, é possível calcular qual o seu valor se um sistema apresentar um comportamento linear. Se a curva analítica não for linear a sensibilidade variará com a concentração, não apresentando valor único.

A equação abaixo representa uma curva analítica.

$$y = ax + b$$

y – resposta medida (absorbância, altura ou área de pico, etc.);

x – concentração;

a – inclinação da curva de calibração – sensibilidade

b – intersecção com o eixo y, quando $x = 0$

O coeficiente de correlação linear (R) expressa quão linear o sistema se comporta, onde quanto mais próximo de 1 menor é a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor é a incerteza dos coeficientes de regressão estimados.

O limite de detecção calculado segundo recomendado pela ANVISA [148] onde o valor deve ser 3 vezes o desvio padrão relativo (S_b) do sinal ruído dividido pelo coeficiente angular da curva obtida na análise.

$$LOD = \frac{3 \cdot S_b}{a}$$

LOD – Limite de detecção

S_b – Desvio do sinal ruído da linha base ou branco.

a – coeficiente angular (sensibilidade)

O tempo de resposta foi obtido e utilizado para calcular a frequência analítica teórica (TAF - do inglês – “*Theoretical analytical frequency*”). O tempo de resposta representa o tempo em que o sinal analítico vai da linha base até o seu valor máximo seguido de um decréscimo até 5% deste valor. Esta medida traz informações de qual o tempo necessário para que o pico observado retorne a sua linha base em amperometria acoplada a BIA [149] (não leva em consideração o tempo para preenchimento da ponteira da pipeta eletrônica). Este parâmetro foi calculado utilizando a injeção de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ das curvas analíticas obtidas para cada espécie em cada superfície em triplicata assim como suas injeções.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Considerações iniciais da caracterização dos MWCNTs

Os diferentes materiais utilizados nas modificações, LD-MWCNT e SD-MWCNT, foram empregados no desenvolvimento de outros trabalhos do grupo de pesquisa, e foram caracterizados com seus resultados descritos na tese de doutorado de Montes (2015) deste mesmo grupo de pesquisa [150]. Dentre as caracterizações realizadas, a Difração de Raio-X (DRX) e espectroscopia RAMAN investigam as causas dos possíveis efeitos de eletrocatalise dos nanomateriais na oxidação eletroquímica de compostos orgânicos farmacêuticos e corroboram com resultados obtidos neste trabalho para antioxidantes fenólicos.

Com o DRX é possível elucidar se há a existência de impurezas metálicas inseridas na configuração dos MWCNT, uma vez que a presença destes em sua estrutura podem ser os reais responsáveis pelos efeitos eletrocatalíticos observados em modificações contendo MWCNT [24]. Não houve presença de picos relacionados com o óxido de ferro ou ferro em ambos os espectros, ou estão abaixo do limite de detecção do aparelho, o que é uma indicação de que os metais residuais sobre os nanotubos de carbono eram removidos após a funcionalização. Esta técnica também permitiu verificar um maior grau de desordem de nanotubos e a presença de defeitos estruturais em maior proporção para SD-MWCNT.

A espectroscopia RAMAN permite obter uma estimativa na proporção de quantidade de defeitos estruturais dos materiais modificadores (MWCNT) utilizando a razão entre as bandas D e G medidas, onde a banda D corresponde à presença de defeito estrutural sp^3 , sp , presença de heteroátomo e/ou ligação incompleta e a banda G está relacionada à presença de carbono sp^2 [151]. A funcionalização tipicamente provoca um aumento na banda D e uma diminuição na banda G, e consequentemente, a razão I_D/I_G é aumentada, o que é correlacionado com o grau de desordem nanotubo (uma maior proporção de carbono sp^3) e com a presença de mais defeitos estruturais. A maior proporção I_D / I_G foi verificada para as SD-MWCNT (1,86) em comparação com LD-MWCNT (1,38), que indica a maior presença de defeitos estruturais nos nanotubos com menor diâmetro.

Portanto, de acordo com a caracterização feita na tese de Montes (2015) [150], as duas técnicas, DRX e espectroscopia RAMAN apontaram o SD-MWCNT com maior número de defeitos em sua estrutura e maior grau de desordem, o que pode ser correlacionado com o efeito eletrocatalítico observado em CNTs. Além disso, descarta-se o efeito de impurezas metálicas.

3.2. Resultados Eletroquímicos

3.2.1. Voltametria cíclica

3.2.1.1. Efeito do pH

Os voltamogramas cíclicos foram efetuados mediante otimização de eletrólito, onde o pH da medida deve ser devidamente estudado. Foram utilizadas condições previamente otimizadas em estudos contidos na literatura para HQ, TBHQ e CT [103, 152]. Devido à ausência deste estudo na literatura para o PY, foi então efetuado estes estudos que são mostrados na Figura 19.

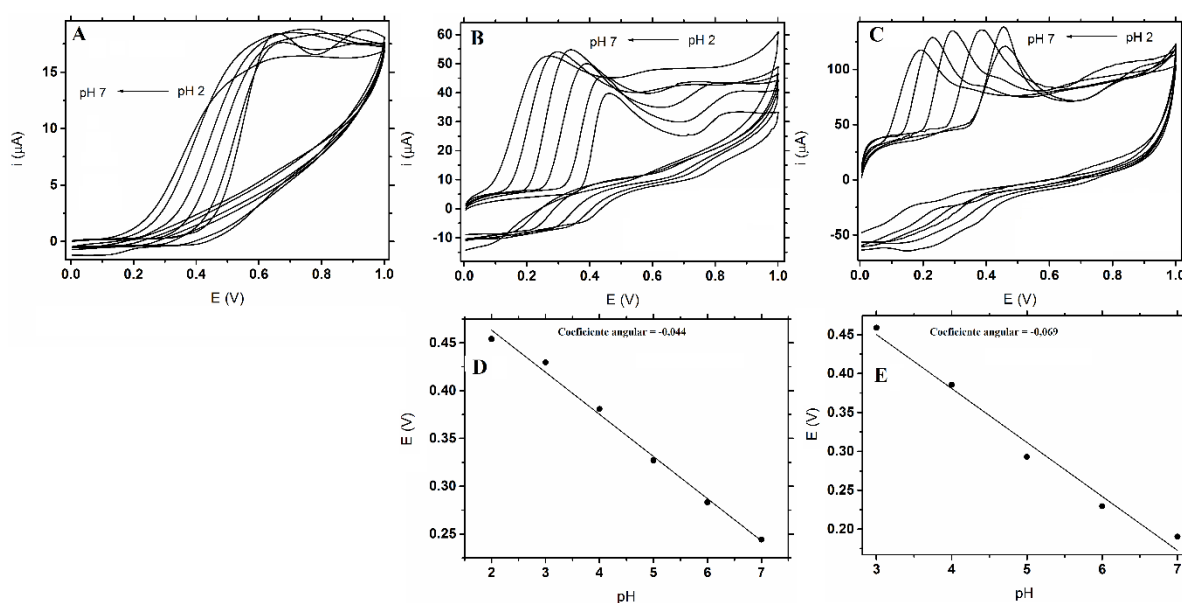


Figura 19: Voltamogramas cíclicos com velocidade de varredura de 50 mVs^{-1} do estudo de pH na presença de 1 mmol L^{-1} de pirogalo pH aproximadamente 2 com HClO_4 e pHs, 3, 4, 5, 6 e 7 com tampão Britton-Robinson em (A), GC, (B) LD-MWCNT e (C) SD-MWCNT e gráficos de potencial de pico vs pH em LD-MWCNT (D) e SD-MWCNT (E).

Para a superfície não modificada GC, os voltamogramas obtidos na variação do potencial não permitiram distinguir muito bem as regiões de oxidação, exceto em $\text{pH} = 2$, o que não aconteceu para modificações com LD-MWCNT e SD-MWCNT, apresentando coeficientes angulares de pH vs potencial de pico de $-0,044 \text{ V}$ e $-0,069 \text{ V}$, respectivamente. Valores próximo de $0,059 \text{ V}$ indicam que o processo eletroquímico envolve mesmo numero de prótons e elétrons [153] e os valores obtidos sugerem esse comportamento, já que o PY se oxida eletroquimicamente de forma irreversível envolvendo 2 e^- e 2 prótons [117].

O eletrólito HClO_4 foi escolhido para desenvolvimento do método do PY, uma vez que foi o único que apresentou definição de pico em GC, e segue métodos propostos por outros autores no uso dos analitos estudados HQ, TBHQ e CT, além de ser de simples preparo e não corrosivo nas concentrações usadas.

3.2.1.2. Voltamogramas cíclicos das espécies analíticas

Determinado então o eletrólito HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, uma voltametria cíclica foi efetuada em cada eletrodo modificado e limpo, na presença de 1 mmol L^{-1} de cada um dos analitos estudados aplicando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , e estão descritos na Figura 20:

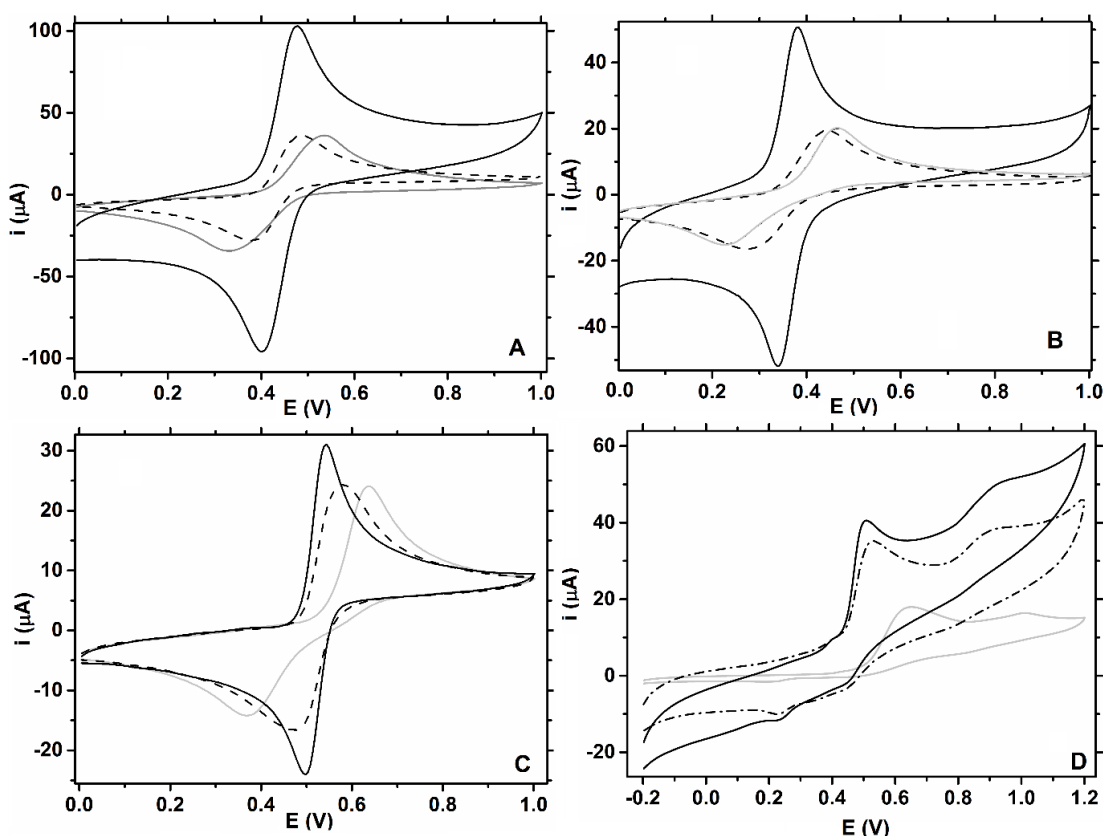


Figura 20: Voltamogramas cíclicos na presença de 1 mmol L^{-1} (A) HQ, (B) TBHQ, (C) CT e (D) PY em GC não modificado (—) e eletrodos modificados com SD-MWCNT (—) e LD-MWCNT (---) em eletrólito HClO_4 0.1 mol L^{-1} . Velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

Mudanças substanciais das respostas eletroquímicas obtidas nas diferentes modificações e GC foram observadas, como variação do potencial de pico (E_p) e magnitude de corrente obtida. Os valores de ΔE_p foram consideravelmente reduzidos, e estão contidos na Tabela 2.

Tabela 2: Valores de I_p de oxidação, E_{pa} de oxidação e ΔE_p registrados por voltametria cíclica para eletrodo GC limpo e modificados com MWCNT's.

	I_p oxidação (μA).	E_p oxidação (mV)	ΔE_p (mV)
HQ			
GC	34,8	533	201
LD-MCNT	34,7	483	100
SD-MWCNT	87,5	473	70
TBHQ			
GC	19,3	463	231
LD-MCNT	19,2	443	161
SD-MWCNT	44,3	382	40
CT			
GC	20,6	634	256
LD-MCNT	21,6	574	95
SD-MWCNT	28,6	543	45
PY			
GC	10,8	636	433
LD-MCNT	19,1	522	297
SD-MWCNT	23,0	501	265

O ganho de corrente nas modificações com SD-MWCNT para HQ e TBHQ foi de 2,5 vezes, para CT ganho de 1,4 vezes e para PY 2,1 vezes, sendo que neste último analito o ganho também foi observado para LD-MWCNT (1,8 vezes). Para os eletrodos contendo LD-MWCNT não foram reportadas melhoras significativas de correntes de pico na oxidação de HQ, TBHQ e CT.

A redução do sobrepotencial observado para as modificações apresentaram uma sutil melhora em ambas as modificações como se pode observar na Tabela 2. Porém valores da distância de pico do processo oxi-redução das moléculas (ΔE_p) demonstraram valores mais expressivos (menor ΔE_p) em eletrodos modificados com MWCNT's quando em comparação com o não modificado. A modificação com SD-MWCNT apresentou melhores resultados com distancias de pico de 34, 17, 17 e 61 mV de ΔE_p do carbono vítreo para HQ, TBHQ, CT e PY, respectivamente.

Estes resultados indicam maior atividade eletrocatalítica para a modificação SD-MWCNT (maior reversibilidade eletroquímica), que estão em concordância com a maior

quantidade de densidade de defeitos estruturais nos nanotubos de menor diâmetro, que podem oferecer uma menor resistência eletrônica do eletrodo, uma vez que a ausência de compostos metálicos na sua estrutura indica tais efeitos eletrocatalíticos não são provenientes da presença destes.

3.2.1.3. Variação da velocidade de varredura

Na sequência, mediante 1 mmol L^{-1} de HQ, TBHQ, CT e PY, os eletrodos foram sujeitos a voltamogramas consecutivos variando-se a velocidade de varredura de 10 a 1000 mVs^{-1} , com intuito de investigar seus mecanismos redox, quanto à reversibilidade e processos controladores da reação em cada superfície, nas moléculas estudadas.

HQ, TBHQ e CT apresentaram em todas as modificações e em GC um comportamento altamente linear ($R < 0,99$) da I_{pico} catódica e anódica *versus* $V^{1/2}$ de acordo com a Figura 21. Tal comportamento indica a existência de um processo de transferência de massa controlada por difusão.

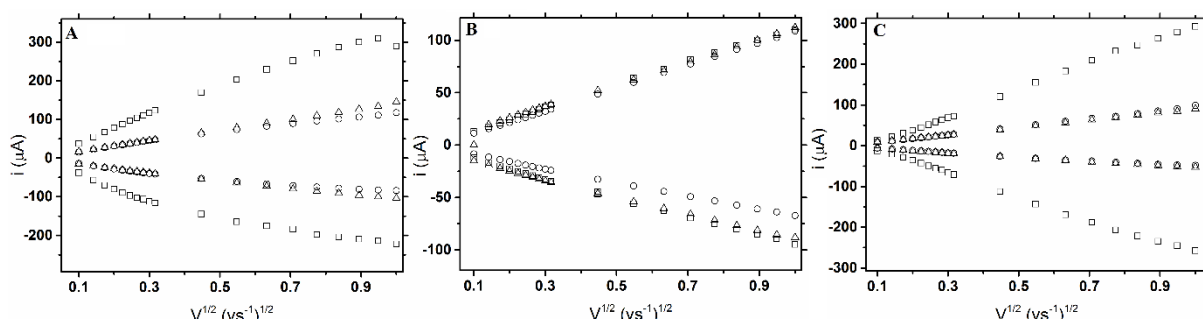


Figura 21: Corrente de pico vs raiz da velocidade de varredura na presença de em 1 mmol L^{-1} de (A) HQ; (B) TBHQ; (C) CT em diferentes superfícies: GC (○), LD-MWCNT (△) e SD-MWCNT (□).

Já o PY, apresenta um mecanismo diferente aos outros analitos, além do fato de este ter comportamento irreversível [117]. Seu estudo de velocidade de varredura mostrou comportamento linear do gráfico de I_{pico} anódica *versus* $V^{1/2}$ para GC e para a modificação LD-MWCNT para os dois picos de oxidação, indicando um comportamento controlado por difusão. No entanto, para a modificação com SD-MWCNT, observaram-se duas faixas lineares.

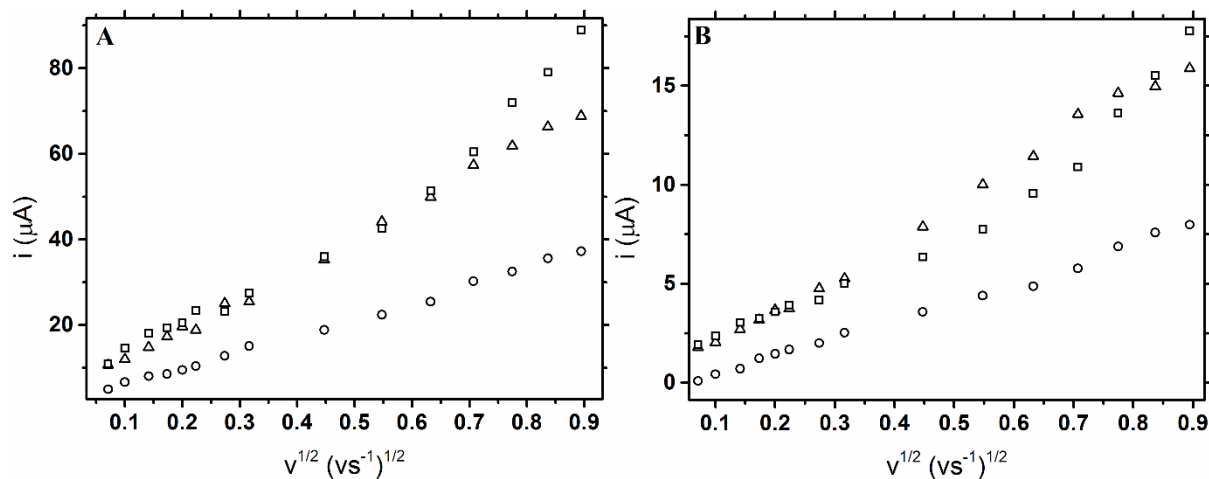


Figura 22: (A) Corrente do primeiro pico de oxidação *versus* $V^{1/2}$ para eletrodo de GC (○) e LD-MWCNT (△) que apresentam ampla faixa linear $R > 0,99$ de 5-800 mV s^{-1} ; e em SD-MWCNT (□) apresentando duas faixas lineares: de 5-100 mV s^{-1} $R > 0,97$ e de 300-800 mV s^{-1} $R > 0,99$; (B) Corrente do segundo pico *versus* (Velocidade de varredura) $^{(1/2)}$ para eletrodo de Carbono vítreo (○) e LD-MWCNT (△) que também possuem ampla faixa linear $R > 0,99$ de 5-1000 mV s^{-1} ; e SD-MWCNT (□) apresentando duas faixas: 5-100 mV s^{-1} , $R > 0,98$; 300-800 mV s^{-1} $R > 0,99$.

Tais resultados mostram que o processo interfacial do eletrodo modificado ou não para a oxidação de PY é controlado por difusão para todas as superfícies, onde as respostas de corrente *versus* a raiz quadrada da velocidade de varredura para todas as superfícies se mostrou linear assim como apresentado na Figura 22. Os gráficos de corrente *versus* velocidade de varredura não apresentaram comportamento linear o que enfatiza a informação de que o processo eletroquímico é controlado por difusão.

Não foram observados efeitos de adsorção na oxidação dos quatro analítos presentes em ambas as modificações, considerando as condições dos filmes formados neste trabalho [25-28].

A teoria de Laviron prevê que em altas velocidades de varredura o potencial de pico observado é proporcional ao logarítmico da velocidade de varredura ($\log v$), e em baixas velocidades este potencial de pico é independente da taxa de varredura aplicada [154], para um estudo realizado com voltametria cíclica e baseando-se na abordagem de Butler-Volmer. Por meio da Figura 23 é possível observar os comportamentos dos potenciais para os sistemas reversíveis, HQ, TBHQ e CT.

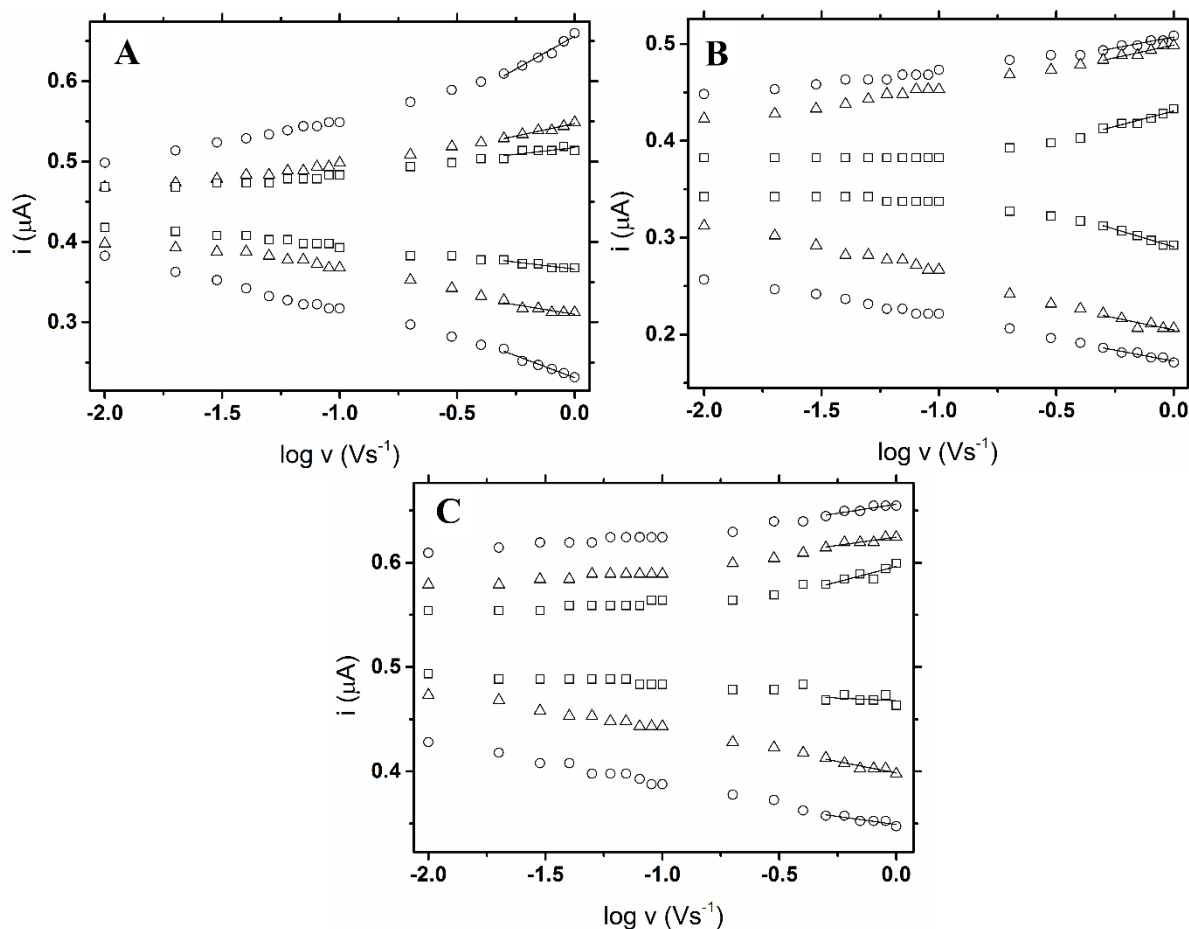


Figura 23: Log v vs E_{pico} em todos processos para HQ (A), TBHQ (B) e CT (C) em diferentes eletrodos de GC (○), LD-MWCNT (△) e SD-MWCNT (□). Regressão linear em velocidades superiores a 400 mV s^{-1} , indicadas pela linha reta de regressão.

É possível encontrar os valores do coeficiente de transferência eletrônica α_{med} através da média das equações 1 e 2, onde os resultados obtidos para HQ em GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT foram de 0,46, 0,43 e 0,51; TBHQ em GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT 0,50, 0,49 e ,53; e para CT em GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT foram de 0,45, 0,62, 0,56, sugerindo que a comunicação eletrônica entre a superfície do eletrodo e o MWCNT auxilia o processo eletroquímico.

As equações 1 e 2 foram utilizadas para o cálculo do α_{med} :

$$\text{Coeficiente angular} = -\frac{2,3RT}{anF} \quad \text{Equação 1}$$

$$\text{Coeficiente angular} = -\frac{2,3RT}{(1-a)nF} \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

T – Temperatura (273K)

R – Constante gases ideais ($8314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)

F – Constante de Faraday (96485 C mol^{-1})

n – Número de elétrons

No tratamento dos resultados de velocidade de varredura fica evidente em todas as modificações que a variação do potencial de pico (ΔE_p) é consideravelmente reduzida na presença dos diferentes MWCNT na superfície, em comparação com GC não modificado. A Figura 24 representa tais valores nas diferentes velocidades de varreduras aplicadas ($1-1000 \text{ mVs}^{-1}$) e deixa evidente uma substancial aproximação nos potenciais de pares de pico (diminuição do ΔE_p) na superfície SD-MWCNT, onde a reação nesta superfície tende a reversibilidade de forma mais contundente para TBHQ e menos pronunciado para HQ, CT e PY. Na superfície LD-MWCNT também se observa aproximação dos potenciais, porém de forma menos acentuada, em comparação com a superfície não modificada GC.

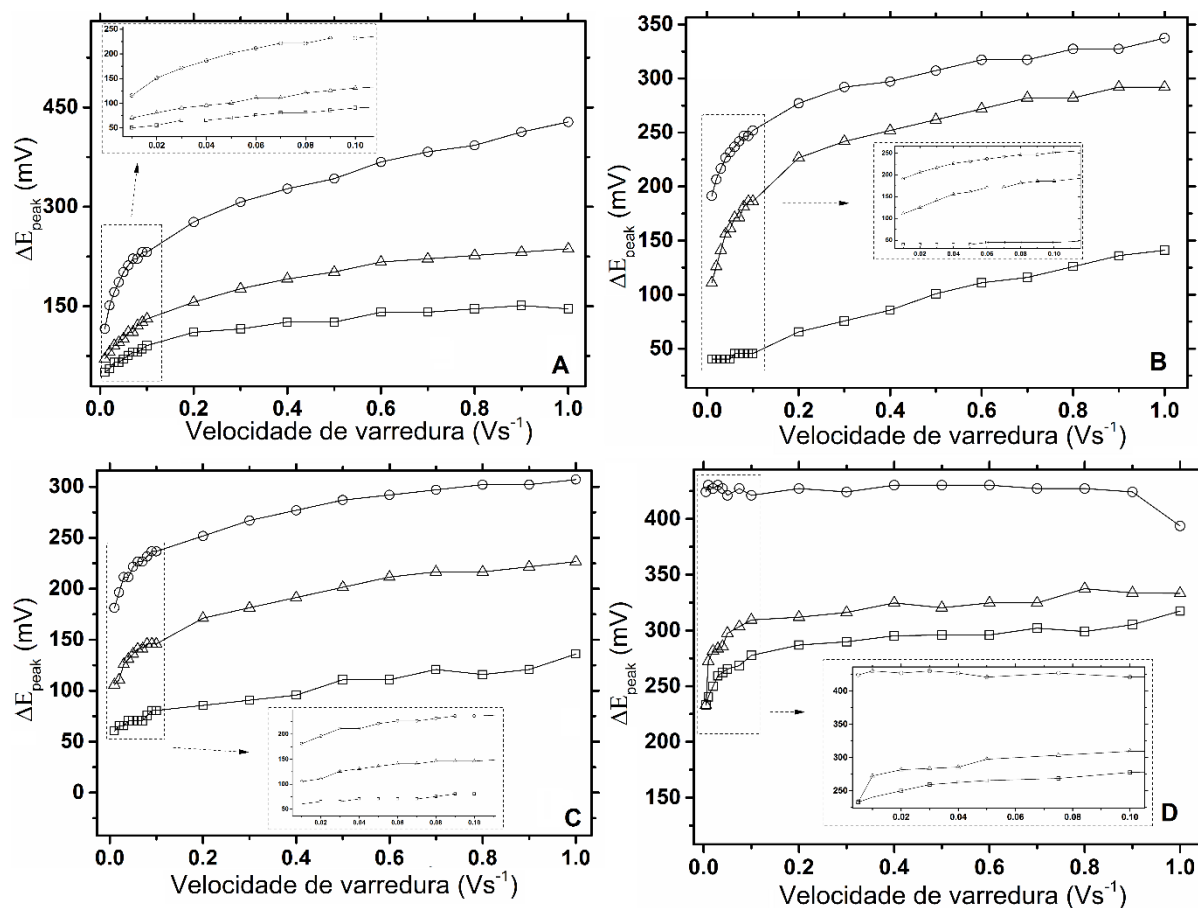


Figura 24: Variação da separação pico-a-pico (ΔE_{pico}) em diferentes velocidades de varredura obtidas por voltametria cíclica em GC (○), SD-MWCNT (◻) e LD-MWCNT (△) na presença de 1 mmol L⁻¹ de (A) HQ, (B) TBHQ, (C) CT e (D) PY.

Tais resultados mostram que em modificações com MWCNT, os quatro analitos estudados apresentam efeito eletrocatalítico, onde a simetria dos picos e distância entre seus pares indicam que estes tendem a reversibilidade, principalmente nos nanotubos com diâmetros menores. Um trabalho prévio na literatura reporta a melhora na detecção eletroquímica de compostos contendo grupos hidroxila nas posições *-para* e *-orto* nas superfícies modificadas com MWCNT, que é atribuída à abundância de grupos hidroxila gerada pela funcionalização dos MWCNT's [155]. Outros estudos já mostraram um decréscimo no potencial de detecção para HQ [156], CT [156, 157] em eletrodos de GC modificados com MWCNT, enquanto não há estudos neste âmbito para TBHQ e PY.

3.2.2. Amperometria acoplada a BIA

Os testes amperométricos acoplados ao sistema BIA foram utilizados para avaliar os parâmetros de mérito nos diferentes eletrodos empregados e investigar a ocorrência de possíveis efeitos eletrocatalíticos na superfície do eletrodo.

Para que isso pudesse ser feito uma série de otimizações foram realizadas para minimizar ao máximo possíveis erros. Primeiramente, a distância do eletrodo-pipeta injetora foi fixada, através da marcação deste no eletrodo de trabalho. Então foi efetuado para cada analito em eletrodo não modificado, otimizações quanto ao volume injetado e velocidade de injeção.

Uma vez feita otimizações do sistema BIA, um estudo quanto ao potencial operacional de trabalho foi feito, com injeções em triplicatas de um padrão constante de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ na janela de 0 a +1,0 V (0 a 1,5 V para PY), obtendo um voltamograma hidrodinâmico, que foi realizado para cada analito em cada superfície modificada ou não. Após fixados todos os parâmetros pertinentes ao sistema como potencial operacional, velocidade e volume injetados, curvas analíticas de 1 – 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para investigação de faixas lineares de trabalho foram efetuadas para cada eletrodo em cada caso (HQ, PY, CT e TBHQ). Para cada analito foram escolhidos 2 potenciais de trabalho, onde o primeiro visa potenciais mais próximos do início do processo de oxidação observado, e um segundo um potencial de trabalho tendendo a valores positivos e maiores.

A escolha de dois potenciais de trabalho visa um estudo mais elucidado dos possíveis efeitos de eletrocatalise presentes ou não na modificação. A presença de eletrocatalise pode ser identificada pela redução no sobrepotencial de oxidação das espécies analíticas, por isso, foi escolhido um potencial menos positivo e outro mais positivo para comprovar que o eletrodo modificado com MWCNT apresenta melhor desempenho.

3.2.2.1. Otimizações

As otimizações do sistema BIA foram realizadas a fim apresentar melhor condição operacional no qual o sistema responde com o menor desvio padrão relativo, número de pontos suficientes no pico do sinal transiente e, também, priorizando minimização de volumes gastos, com variáveis de volume de injeção e velocidade do volume injetado.

As pipetas eletrônicas utilizadas possuem programas de dispersões promovido pelo seu pistão que vai da velocidade 1-10, que com a ponteira de 1 mL representa injeções de $v_1 = 28$; $v_2 = 43$; $v_3 = 56$; $v_4 = 75$; $v_5 = 100$; $v_6 = 113$; $v_7 = 156$; $v_8 = 193$; $v_9 = 256$ e $v_{10} = 344 \mu\text{L s}^{-1}$. A concentração do padrão injetado para as otimizações foram de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Para a HQ foi escolhido a velocidade de injeção $v_7 = 156 \mu\text{L s}^{-1}$, com base no trabalho desenvolvido em célula BIA para quantificação de HQ [87] com volume injetado de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. Neste trabalho a otimização foi realizada em 1,0 V com amperometria de pulso constante com injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os parâmetros foram então utilizados em testes hidrodinâmicos e em estudos analíticos de quantificação.

Para a otimização do sistema BIA para TBHQ, foram usados parâmetros outrora otimizados em um trabalho para determinação de TBHQ em biodiesel [103], o qual a partir de injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$, o volume e velocidade de injeção ótimos usados foram de $100 \mu\text{L}$ na $v_7 = 156 \mu\text{L s}^{-1}$. Tais valores foram então fixados para dar prosseguimento nos estudos analíticos, utilizando-os em testes hidrodinâmicos e seguintes estudos.

As otimizações dos parâmetros BIA para o CT estão contidas na Figura 25.

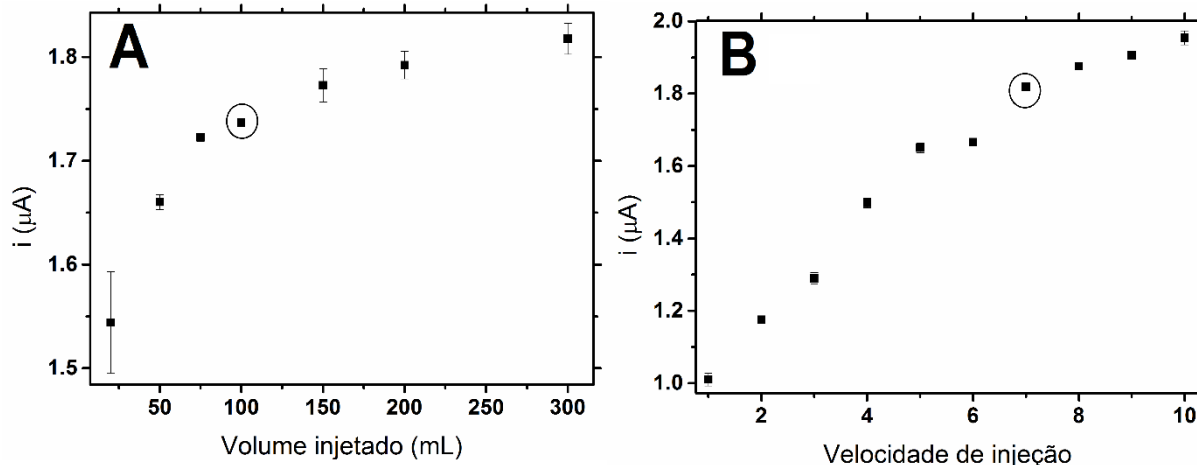


Figura 25: Otimizações para CT de: (A) volume de injeção injetados em eletrodo Carbono Vítreo com velocidade de injeção = $156 \mu\text{L s}^{-1}$; (B) Otimização da velocidade de injeção da pipeta em Carbono Vítreo com volume injetando $100 \mu\text{L}$. Potencial aplicado 0,6 V. Condições utilizadas $100 \mu\text{L}$ e velocidade 7.

Para o CT, os parâmetros utilizados na otimização foram injeção em 0,6 V com concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. O valor de volume injetado escolhido foi de $100 \mu\text{L}$ (realizados mediante velocidade de injeção $7 = 156 \mu\text{L s}^{-1}$), apesar de apresentar menor corrente que o

volume de 150 μL , pois esta apresenta maior desvio padrão para injeções em triplicata. O valor da velocidade de injeção utilizada foi também a velocidade $7 = 156 \mu\text{L s}^{-1}$, escolhido mediante número de pontos satisfatórios no topo do pico transiente.

A Figura 26 ilustra a otimização de velocidade e volume injetado no sistema BIA para detecção de PY.

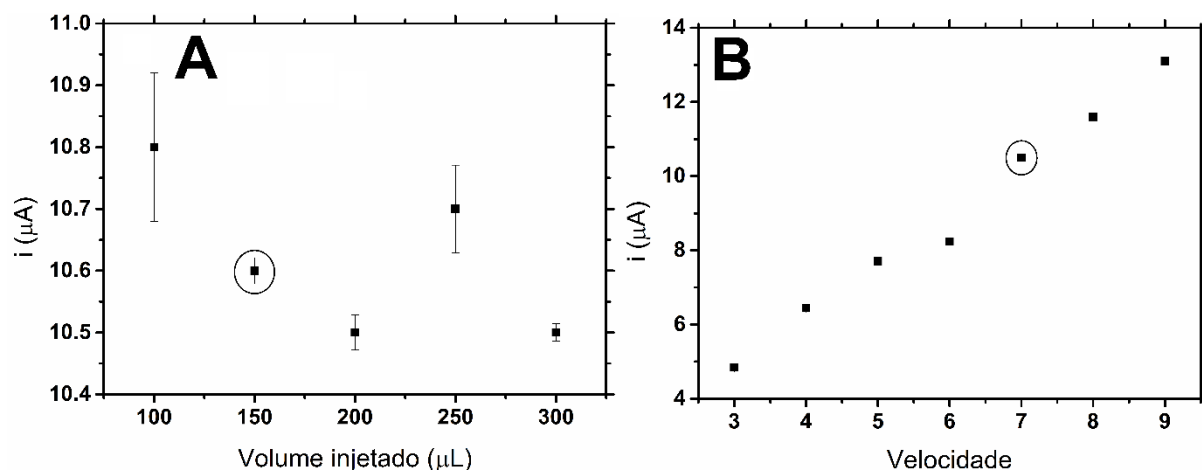


Figura 26: Otimizações para PY de: (A) volume de injeção em eletrodo carbono vítreo com velocidade de injeção $7 = 156 \mu\text{L s}^{-1}$; (B) Otimização da velocidade de injeção mantendo o volume injetando de 150 μL . Potencial de trabalho: 0,6 V.

A otimização dos parâmetros BIA para o PY foi realizada em carbono vítreo no potencial de 0,6 V, utilizando 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de concentração injetada. O volume ótimo observado foi de 150 μL devido ao seu inferior desvio padrão em injeções em triplicata ($n=3$) e satisfatória corrente adquirida. Menores valores de volume injetado favorecem a não contaminação do eletrodo de trabalho quando sujeitos a determinadas concentrações, e também geram maior quantidade de resíduos (menor volume de amostra), onde a otimização sempre visa também reduzir quantidade de rejeitos gerados. A velocidade de injeção escolhida foi a velocidade $7 = 156 \mu\text{L s}^{-1}$, escolhido mediante número de pontos presentes no topo do pico transiente coletado.

Sob condições hidrodinâmicas, com concentrações fixas de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o melhor desempenho usando modificações com MWCNT's de carbono foi registrado para HQ, TBHQ e PY, como demonstrado na Figura 27.

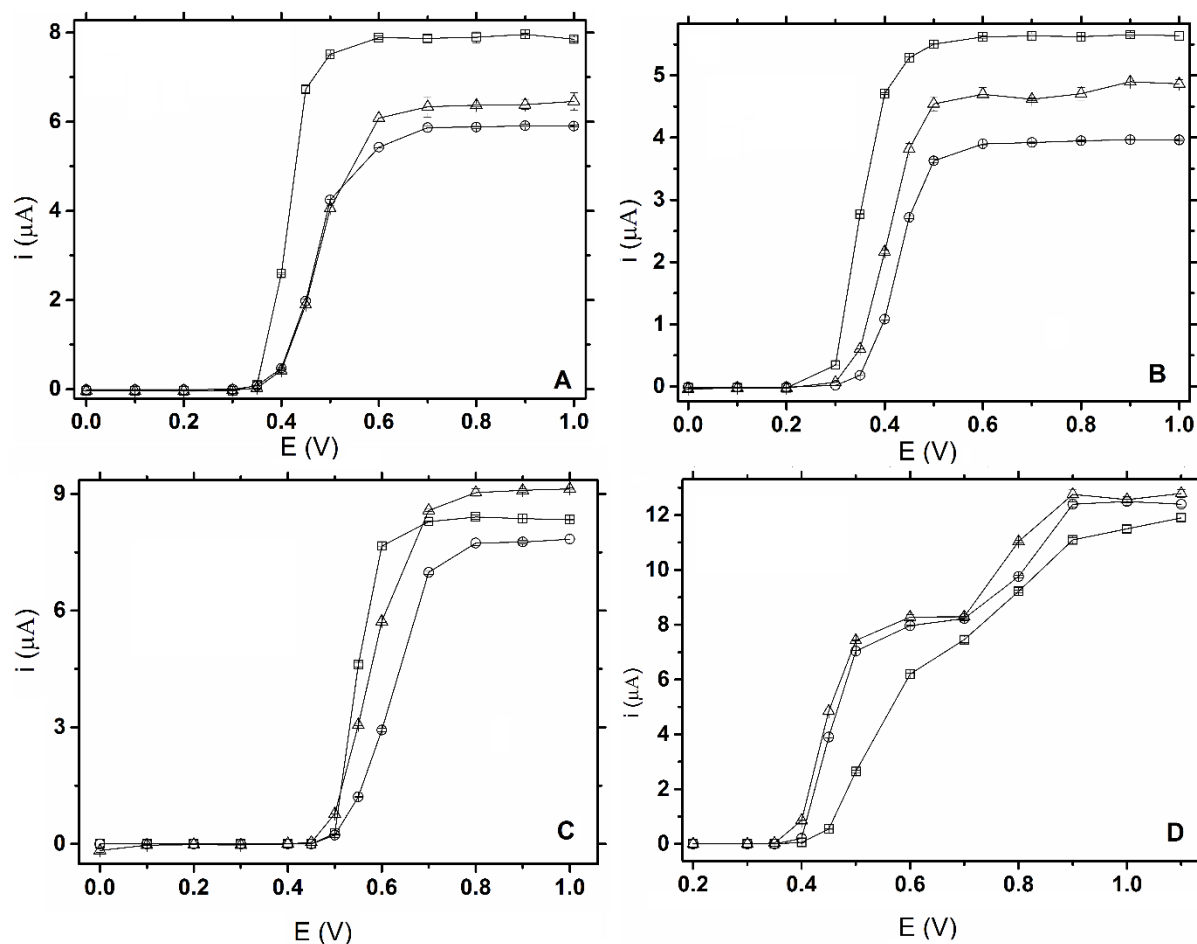


Figura 27: Voltamogramas hidrodinâmicos com I_{pico} vs E_{aplicado} de injeções em triplicata em diversos potenciais em GC (\ominus), SD-MWCNT (\boxplus) e LD-MWCNT (\triangle) na presença de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CT (A), HQ (B), TBHQ (C) e PY (D).

Para a HQ, uma perceptível melhora na modificação com SD-MWCNT em comparação com GC não modificado foi observada com acréscimo de corrente de $2,0 \mu\text{A}$ (equivalente a 34% de ganho de corrente) em potenciais estáveis (acima de $0,6 \text{ V}$) e presença de efeito eletrocatalítico (diminuição no sobrepotencial em aproximadamente 60 mV). Na modificação LD-MWCNT é possível observar apenas um sutil ganho de corrente da ordem de $0,5 \mu\text{A}$ (equivalente a 8% de ganho de corrente) em potenciais superiores a $0,6 \text{ V}$.

No estudo hidrodinâmico do TBHQ ambas as modificações apresentaram aumento de corrente com valores de $1,7 \mu\text{A}$ para SD-MWCNT e $0,7 \mu\text{A}$ para LD-MWCNT, que representam 43% e 18% maior em comparação com GC não modificado, e efeito eletrocatalítico na sua oxidação, em cerca de 80 mV e 50 mV de diminuição no sobrepotencial para SD-MWCNT e LD-MWCNT, respectivamente.

Para o CT, a presença de modificações com MWCNT apresentaram melhoras tanto em ganho de corrente como também uma leve antecipação de potencial de oxidação (aproximadamente 50 mV). É nítido que para este analito a modificação com LD-MWCNT apresenta melhor ganho de corrente em potenciais mais altos. Porém, ao compararmos o poder de eletrocatalise do LD-MWCNT versus SD-MWCNT é possível notar um maior efeito para o SD-MWCNT.

O PY diferentemente dos outros analitos fenólicos apresenta dois picos de oxidação, um em aproximadamente 0,6 V e outro em 0,9 V, e as modificações com SD-MWCNT e LD-MWCNT apresentaram resultados bastante semelhantes, com ganho de aproximadamente 1,8 μA para o primeiro pico (29% de ganho) e 1,3 μA para o segundo pico (11% de ganho), e uma antecipação de pico de cerca de 50 mV.

3.2.2.2. Parâmetros analíticos

Uma série de curvas de calibrações para os quatro analitos em cada superfície modificada/não modificada foram efetuadas usando amperometria acoplada ao sistema BIA. Duas diferentes condições foram exploradas (dois potenciais) selecionados a partir de resultados hidrodinâmicos. Foram adicionados soluções padrão de cada analito em um intervalo de 0,05 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com intuito de avaliar a faixa linear de trabalho, sensibilidade (coeficiente angular das curvas) e coeficiente de correlação linear (R^2), limites de detecção e quantificação para HQ, TBHQ, CT e PY, em GC e após cada modificação, SD-MWCNT e LD-MWCNT.

A primeira condição amperométrica foi definida na região de potencial onde o processo oxidativo de cada molécula inicia na superfície modificada com SD-MWCNT nos voltamogramas hidrodinâmicos obtidos. Tais valores foram definidos em +0,5 V para HQ, TBHQ e PY, e 0,6 V para CT. O segundo potencial escolhido é aquele em que a corrente da oxidação de cada um dos compostos fenólicos atinja valores estáveis para cada eletrodo, definidos em 0,7 V para HQ e TBHQ, e em 0,9 V para CT e PY.

3.2.2.2.1. HQ

A HQ apresentou uma ampla faixa linear até $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ em ambas condições amperométricas com coeficientes de correlação satisfatórios ($R^2 > 0,99$). No primeiro potencial de $0,5 \text{ V}$ foi observado uma substancial melhora na sensibilidade para a modificação com SD-MWCNT (razão entre coeficientes angulares = $3,23$) e uma relativa melhora para LD-MWCNT (razão entre coeficientes angulares = $1,5$) em comparação com o eletrodo não modificado, como pode ser visto na Figura 28.

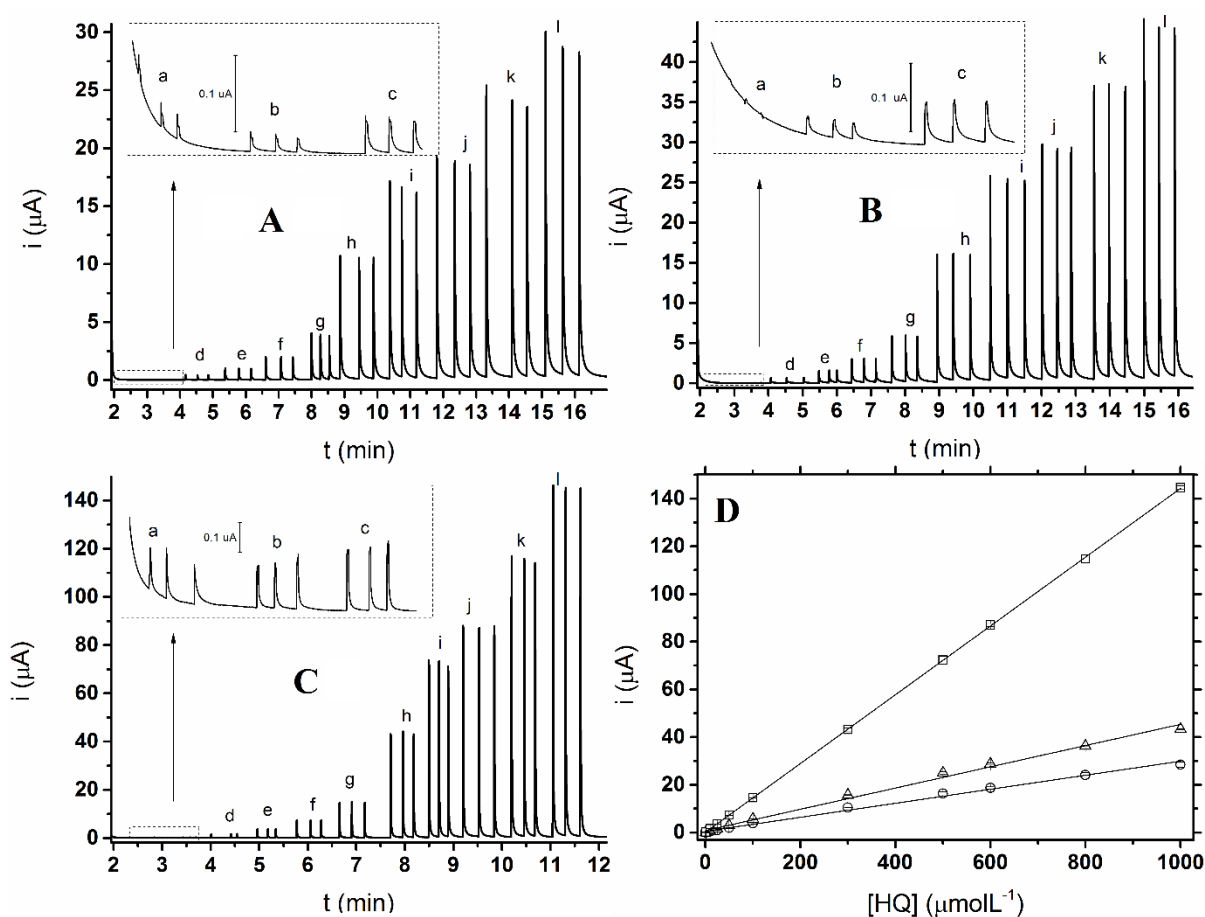


Figura 28: Amperogramas registrados aplicando $0,5 \text{ V}$ usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) $1000,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HQ; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).

Os valores de limite de detecção calculados são de 0,007, 0,005 e 0,014 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT, respectivamente, e mostram que apesar de uma maior sensibilidade registrada para as modificações, o eletrodo contendo SD-MWCNT, não apresenta menor LOD, o que é atribuído ao maior ruído da linha base observados nos eletrodos modificados.

Esta região de potencial representa o começo do processo de oxidação da molécula e mostra que a modificação com SD-MWCNT possui um caráter eletrocatalítico em que menores potenciais são capazes de oxidar uma molécula.

O desvio padrão relativo (RSD) obtido para injeções ($n = 20$) de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HQ em 0,5 V é de 9,2, 3,2 e 0,9 % para GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT, respectivamente, o que indica que ambas as modificações colaboram para uma maior reprodutibilidade do sinal analítico nestas condições apresentando baixos valores de RSD ($<5\%$).

Para as curvas obtidas para o potencial 0,7 V (Figura 29) não foram observadas melhoras substanciais no sinal analítico, tanto em SD-MWCNT (razão dos coeficientes angulares = 1,1, em relação ao GC) quanto para LD-MWCNT que apresentou decréscimo de sensibilidade (razão dos coeficientes angulares = 0,92). A Tabela 3 resume os resultados obtidos para cada modificação nas duas condições de potenciais estudadas com figuras de mérito.

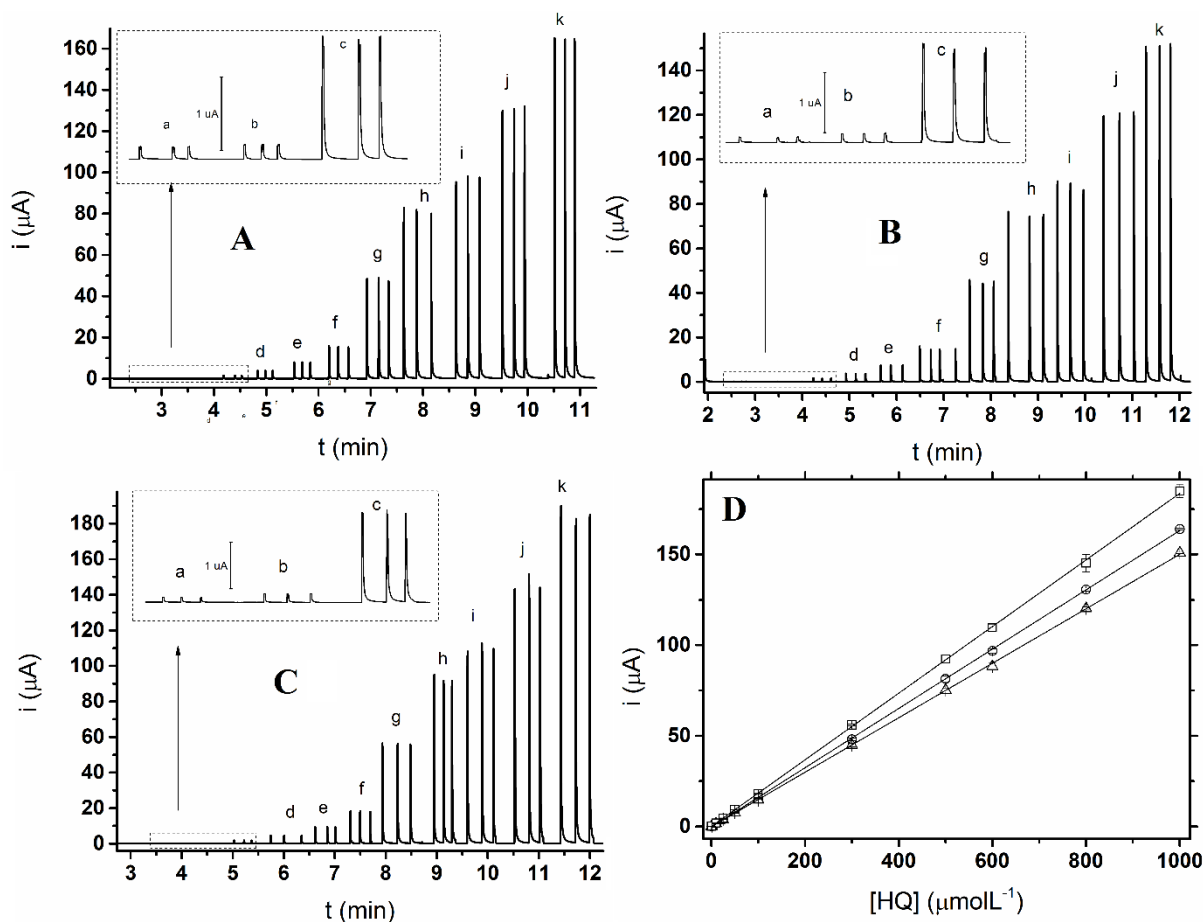


Figura 29: Amperogramas registrados aplicando 0,7 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 0,5; b) 1,0; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 300; h) 500; i) 600; j) 800 e k) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HQ; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).

Não houve melhora na determinação dos LOD para cada condição, onde para GC foi observado um valor de $0,002 \mu\text{mol L}^{-1}$ e para as modificações valores de $0,003$ e $0,004 \mu\text{mol L}^{-1}$ para LD-MWCNT e SD-MWCNT, respectivamente. Suas faixas lineares de trabalho são iguais para GC e com modificações, trabalhando na faixa de $0,5 - 1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ com $R^2 > 0,99$.

Os testes de repetibilidade para HQ no potencial de trabalho de 0,7 V indicaram valores de desvio padrão relativo de 2,7, 1,3 e 1,1% para GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT, respectivamente, demonstrando que a modificação traz melhoras na estabilidade do sinal analítico.

A frequência analítica teórica observada para hidroquinona não mudou significativamente nos eletrodos modificados e eletrodo limpo para ambos os potenciais

trabalhados na detecção de HQ, ou seja, o tempo de resposta para a detecção de HQ foi semelhante nas diferentes superfícies.

Tabela 3: Figuras de mérito para testes realizados em eletrodo GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT para HQ.

HQ						
+0.5 V						
	Coefficiente angular ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD n=20	TAF (h^{-1})	R^2
GC	0,029	1 - 1000	0,007	9,2	1573,2	0,9944
LD-MWCNT	0,045	2,5-1000	0,006	3,2	1533,0	0,9945
SD-MWNCT	0,144	1- 1000	0,014	0,9	1413,8	0,9999
+0.7 V						
	Coefficiente angular ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD n=20	TAF (h^{-1})	R^2
GC	0,163	0,5 - 1000	0,002	2,7	1303,9	0,9999
LD-MWCNT	0,150	0,5-1000	0,003	1,3	1386,0	0,9998
SD-MWNCT	0,184	0,5 - 1000	0,004	1,1	1394,8	0,9998

3.2.2.2. TBHQ

Sob condições otimizadas e nos dois potenciais de trabalho, 0,5 V e 0,7 V, as curvas analíticas obtidas para o TBHQ em eletrodos modificados/não modificado apresentaram de forma geral resultados semelhantes, com ampla faixa linear de 1-1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e coeficientes de correlação linear satisfatórios ($R^2 < 0,99$) apresentados na Tabela 4. Para o primeiro potencial de 0,5 V (figura 30) não houve melhora na modificação com LD-MWCNT em comparação com GC e sim um decréscimo de sensibilidade (razão de coeficientes angulares = 0,95) e uma melhora na modificação usando SD-MWCNT, com aumento de sensibilidade (razão de coeficientes angulares = 1,23).

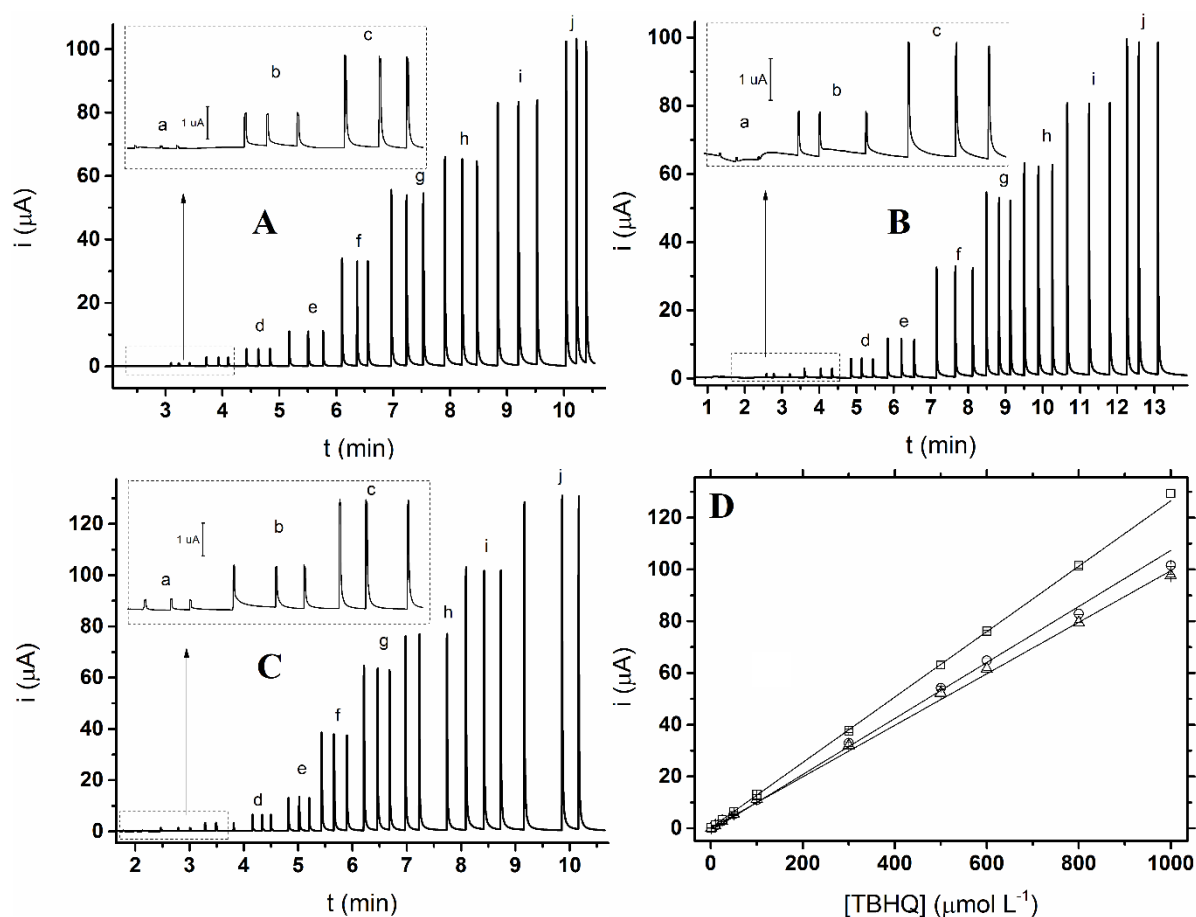


Figura 30: Amperogramas registrados aplicando 0,5 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1.0; b) 10; c) 25; d) 50; e) 100; f) 300; g) 500; h) 600; i) 800 e j) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (○), LD-MWCNT (△) e SD-MWCNT (□).

O aumento no sinal para SD-MWCNT é acompanhado por sinais mais bem definidos em valores de menor concentração como o primeiro ponto de injeção de 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ como pode ser notado na Figura 31. Porém os valores de LOD adquiridos foram de 0,007, 0,014 e 0,011 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT, mostrando que não houve diminuição nos limites de detecção para as modificações com MWCNT neste potencial, o que pode ser atribuído à um maior sinal ruído da linha base bastante

Para injeções consecutivas de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n=20$) TBHQ no potencial de 0,5 V foram obtidos valores de RSD igual a 2,4; 2,3 e 3,5 % para GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT, respectivamente.

Para o segundo potencial escolhido 0,7 V, valores de faixa linear não foram modificados mediante modificação, permanecendo no intervalo de 1 – 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para todas as

superfícies com $R^2 > 0,99$. Foi observada uma pequena melhora na sensibilidade da curva obtida com SD-MWCNT (razão de coeficientes angulares = 1,19) em relação ao GC, e para a modificação contendo LD-MWCNT a curva de calibração praticamente se sobrepôs à curva de GC (razão de coeficientes angulares = 1,01), mostrando que não houve melhora de sensibilidade.

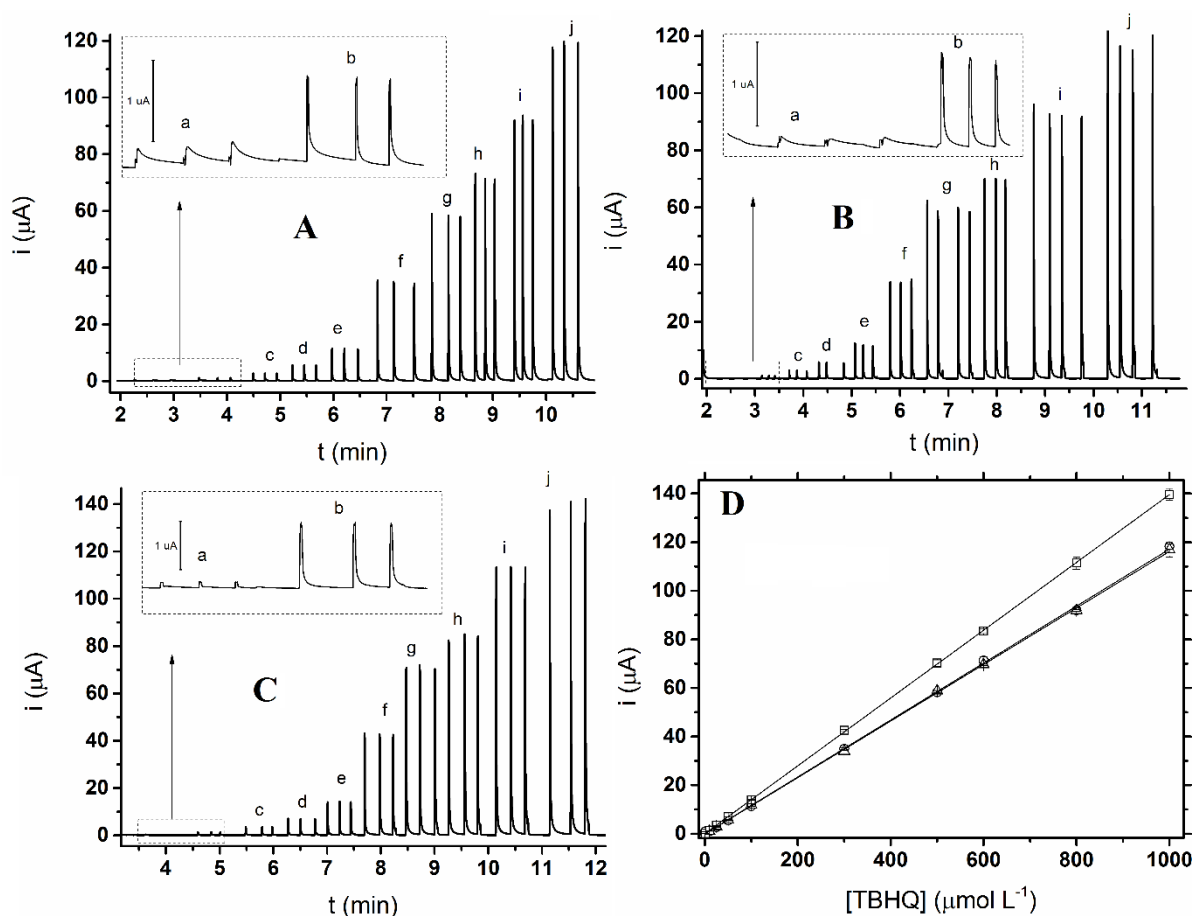


Figura 31: Amperogramas registrados aplicando 0,7 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1.0; b) 10; c) 25; d) 50; e) 100; f) 300; g) 500; h) 600; i) 800 e j) 1000 $\mu mol L^{-1}$ de TBHQ; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).

Os testes de repetibilidade foram satisfatórios para todas as superfícies, sendo bem semelhantes para GC e SD-MWCNT (2,6 e 2,8 %, respectivamente), e para modificação contendo LD-MWCNT foi de 0,9%, mostrando que nesta modificação o sinal se mostra

bastante estável no potencial de trabalho de 0,7 V. A Tabela 4 reúne todos os resultados obtidos para TBHQ.

A frequência analítica teórica observada para detecção de TBHQ apresentou melhora significativa em potencial 0,7 V, ou seja, o tempo de resposta nos eletrodos modificados foi menor. No entanto, quando o potencial 0,5 V foi aplicado, o oposto foi observado, com o menor tempo de resposta em eletrodo não modificado.

A escolha do potencial catalítico para TBHQ poderia acontecer em $E=0,4V$, uma vez que neste valor de potencial as modificações evidenciaram um maior sinal de corrente resposta na oxidação do analito (voltanogramas hidrodinâmicos). A escolha do potencial $E=0,5V$ pode não ter favorecido a presença de melhoras no potencial catalítico, erroneamente definido neste valor.

Tabela 4: Figuras de mérito para testes realizados em eletrodo GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT para TBHQ.

TBHQ						
+0.5 V						
	Coeficiente angular ($\mu A \mu mol L^{-1}$)	Faixa linear ($\mu mol L^{-1}$)	LOD ($\mu mol L^{-1}$)	RSD n=20	TAF (h^{-1})	R^2
GC	0.104	1 - 1000	0.007	2.4	1183,1	0,9999
LD_MWCNT	0.0989	1 - 1000	0.014	2.6	684,9	0,9998
SD_MWNCT	0.127	1 - 1000	0.011	3.5	820,8	0,9998
+0.7 V						
	Coeficiente angular ($\mu A \mu mol L^{-1}$)	Faixa linear ($\mu mol L^{-1}$)	LOD ($\mu mol L^{-1}$)	RSD n=20	TAF (h^{-1})	R^2
GC	0,117	1 - 1000	0,003	2,6	850,2	0,9996
LD_MWCNT	0,116	1 - 1000	0,018	0,9	1350,4	0,9997
SD_MWNCT	0,139	1 - 1000	0,119	2,8	1127,1	0,9999

3.2.2.2.3. CT

As curvas analíticas efetuadas para o CT apresentaram diferentes resultados quanto à sensibilidade e faixas lineares em diferentes condições. Para o potencial positivo de menor valor (0,6 V) foram obtidas diferentes faixas lineares de 1 – 600 $\mu mol L^{-1}$ para GC, 1 – 500 $\mu mol L^{-1}$ para LD-MWCNT, e uma ampla faixa 1 – 1000 $\mu mol L^{-1}$ usando SD-MWCNT. A Figura 32 apresenta as curvas de calibração obtidas nos diferentes eletrodos e os respectivos amperogramas.

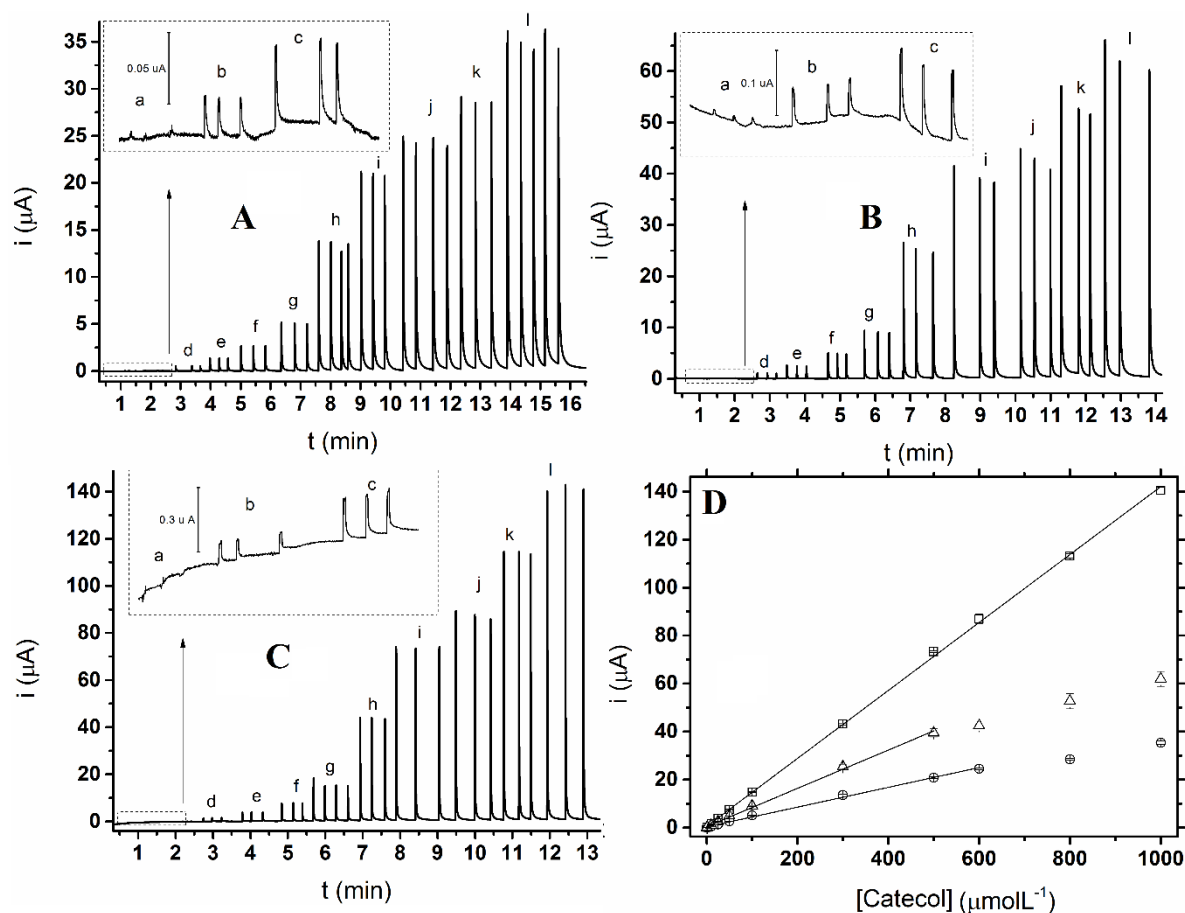


Figura 32: Amperogramas registrados aplicando 0,6V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CT; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).

O comportamento do CT na presença de nanotubos de carbono neste potencial (0,5V) apresentou melhora analítica, registrando aumento de sensibilidade de SD-MWCNT cerca de 3 vezes superior em relação ao GC, além de aumentar a faixa l, que pode ser um indício de menor envenenamento do eletrodo frente à oxidação da molécula. Para modificação com LD-MWCNT, houve também uma melhora de 1,93 vezes em relação ao GC, apesar desta apresentar uma menor faixa linear de trabalho. Pelo voltamograma hidrodinâmico *i versus E* do CT, é possível notar um significativo aumento de corrente para este potencial 0,6 V e corrobora com os dados de sua curva analítica.

A presença de modificações no eletrodo GC conferiu estabilidade no sinal obtido para injeções de CT em 0,5 V. Para injeções de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n=20$), os desvios de 7,1, 4,1 e 1,3 %

para GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT, respectivamente, o que indicou que a corrente é mais reprodutível SD-MWCNT.

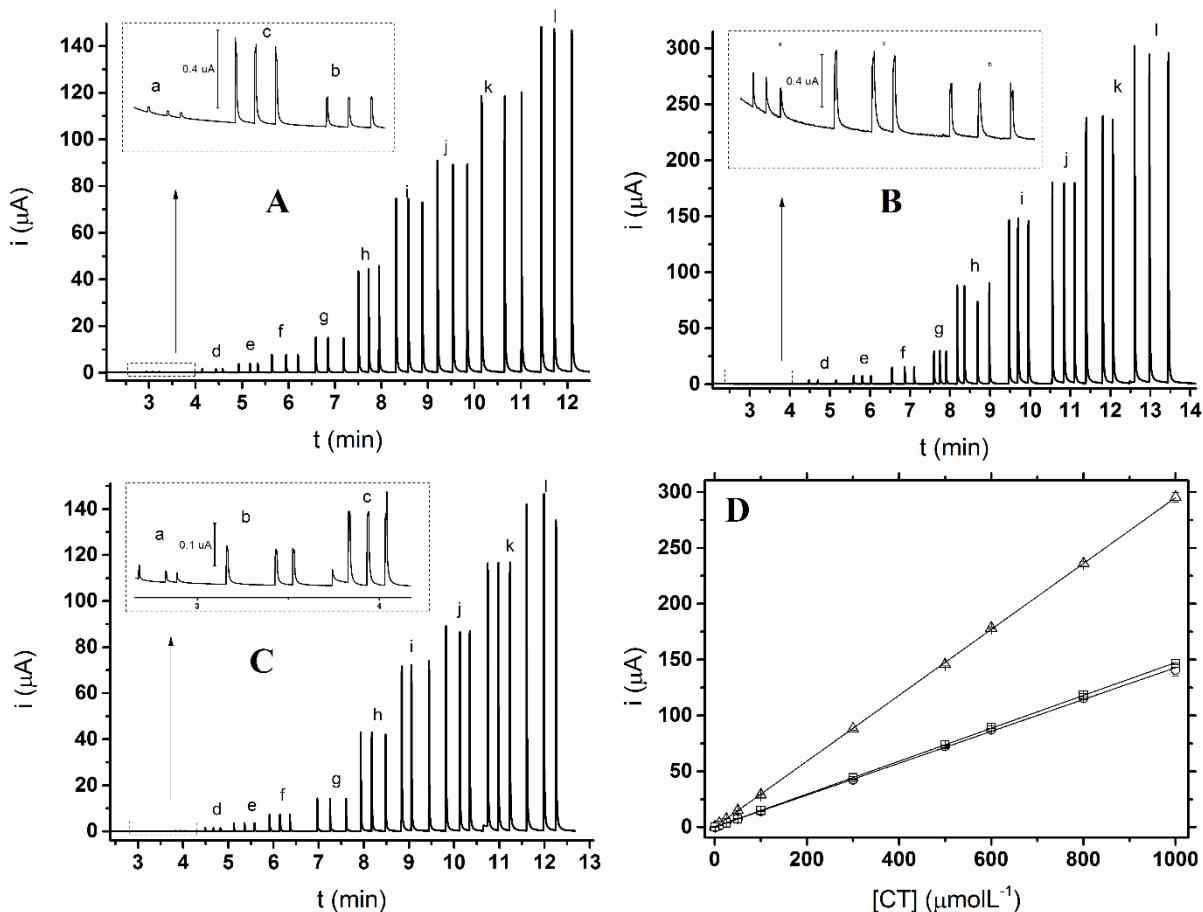


Figura 33: Amperogramas registrados aplicando 0,9 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CT; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD_MWCNT (\triangle) e SD_MWCNT (\square).

Para o potencial mais estável de 0,9 V todas as curvas analíticas para CT registradas (Figura 33) apresentaram a mesma faixa linear de trabalho 1-1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e ainda, a modificação com SD-MWCNT não apresentou melhora na sensibilidade. Em contrapartida, a modificação com LD-MWCNT apresentou ganho de 2 vezes neste parâmetro. Este dado vai em concordância com o voltamograma hidrodinamico do CT (Figura 27) que mostra que em potenciais maiores o eletrodo LD-MWCNT possui maior sinal de corrente.

A presença de modificações no eletrodo de carbono vítreo conferiu estabilidade ao sinal obtido para injeções de CT em 0,9 V. Para injeções de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (n=20), valores de desvios padrão relativo de 4,6, 1,6 e 1,1 % foram obtidos para GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT respectivamente, o que indicou que o SD-MWCNT e LD-MWCNT possuem melhor reprodutibilidade em relação ao GC. A Tabela 5 resume todos os resultados para CT.

Os valores de frequência analítica teórica, ou seja, do tempo de resposta observado quando potencial menor de trabalho (0,6 V) foi aplicado, não apresentaram mudanças significativas entre os eletrodos. Em 0,9 V, o tempo de resposta foi menor o que resultou em maior frequência analítica teórica, mas as respostas mais rápidas foram obtidas em eletrodo limpo.

Tabela 5: Figuras de mérito para testes realizados em eletrodo GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT para CT.

CT						
+0.6 V						
	Coefficiente angular ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD n=20	TAF (h^{-1})	R^2
GC	0.041	1 – 600	0.048	7.1	1009,3	0.9972
LD_MWCNT	0.080	1 – 500	0.048	4.1	1093,0	0.9977
SD_MWNCT	0.146	1 - 1000	0.035	1.3	1018,7	0.9993
+0.9 V						
	Coefficiente angular ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD n=20	TAF (h^{-1})	R^2
GC	0.143	1 - 1000	0.002	4.6	1547,2	0.9999
LD_MWCNT	0.295	1 - 1000	0.023	1.6	1277,4	0.9996
SD_MWNCT	0.147	1 - 1000	0.004	1.5	1233,2	0.9999

3.2.2.2.4. PY

A Figura 34 ilustra a condição com potencial de 0,5 V, na qual as curvas analíticas obtidas para GC e modificações possuem faixas lineares semelhantes de 1-1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, porém com diferentes sensibilidades. É nítido que a curva realizada usando eletrodo GC modificado com SD-MWCNT possui maiores correntes de pico, com sensibilidade cerca de 3,7 vezes maior em relação ao GC e um coeficiente de linearidade $R^2 > 0,99$ versus $R^2 > 0,98$ do GC. A modificação contendo LD-MWCNT também apresentou uma melhora de 2,5 vezes maior sensibilidade em relação ao GC, embora $R^2 > 0,98$.

Os limites de detecção observados para as curvas obtidas neste potencial foram de 0,011, 0,002 e 0,013 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT, é possível observar que a modificação com LD-MWCNT apresentou menores ruídos e menores LOD.

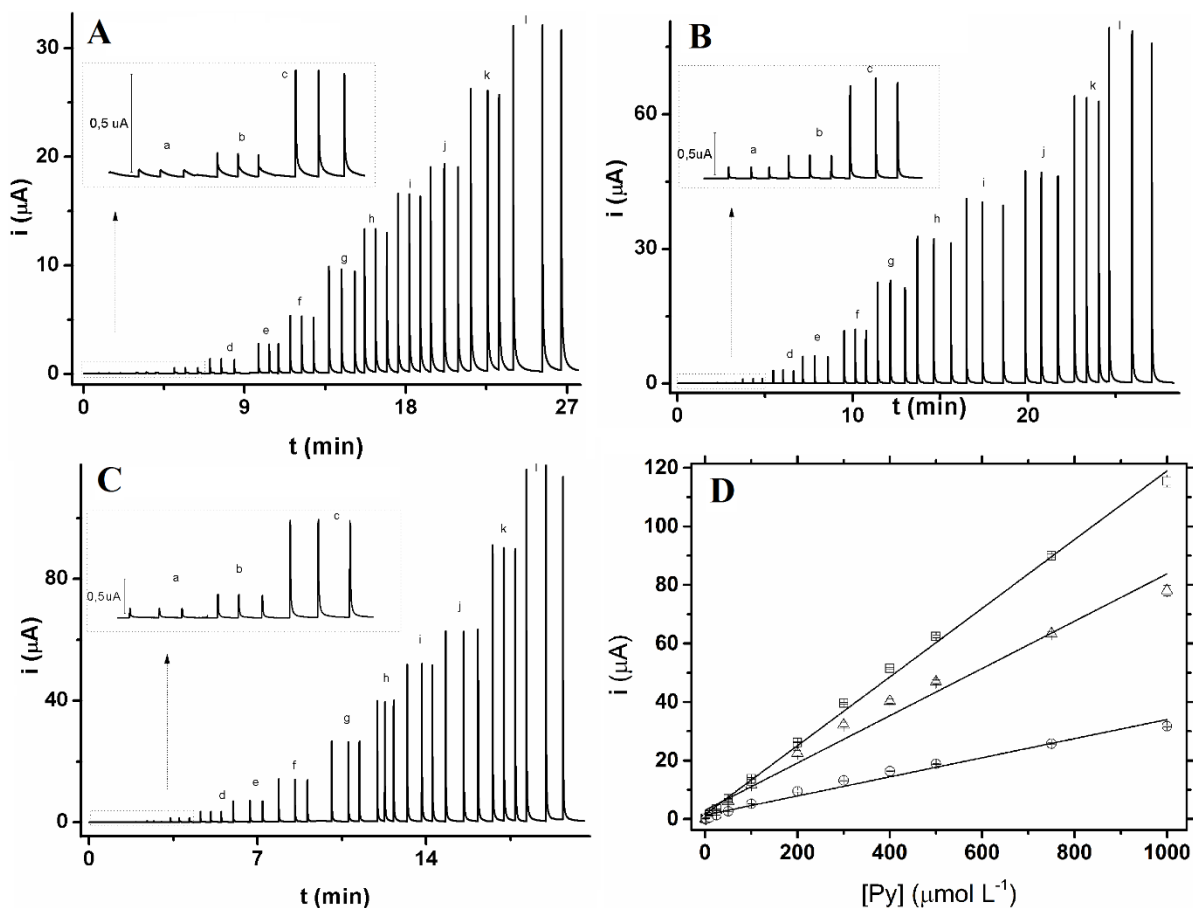


Figura 34: Amperogramas registrados aplicando 0,5 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PY; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).

Neste caso, é nítido que a modificação com nanotubos contribuiu significativamente para a melhora no sinal analítico com destaque para o SD-MWCNT e são concordantes com os seus voltamogramas hidrodinâmicos. Além disso, verifica-se efeito de eletrocatalise, como também visto para o caso do HQ e CT, deslocando seus potenciais de oxidação para mais próximo do zero.

Testes de repetibilidade para injeções consecutivas de PY em 0,5 V ($n = 20$) mostraram valores de desvio padrão relativo de 2,9% para SD-MWCNT, muito menor que os valores obtidos em GC (7,9%) e em LD-MWCNT (10,9%). A Figura 35 apresenta as curvas obtidas em 0,9 V.

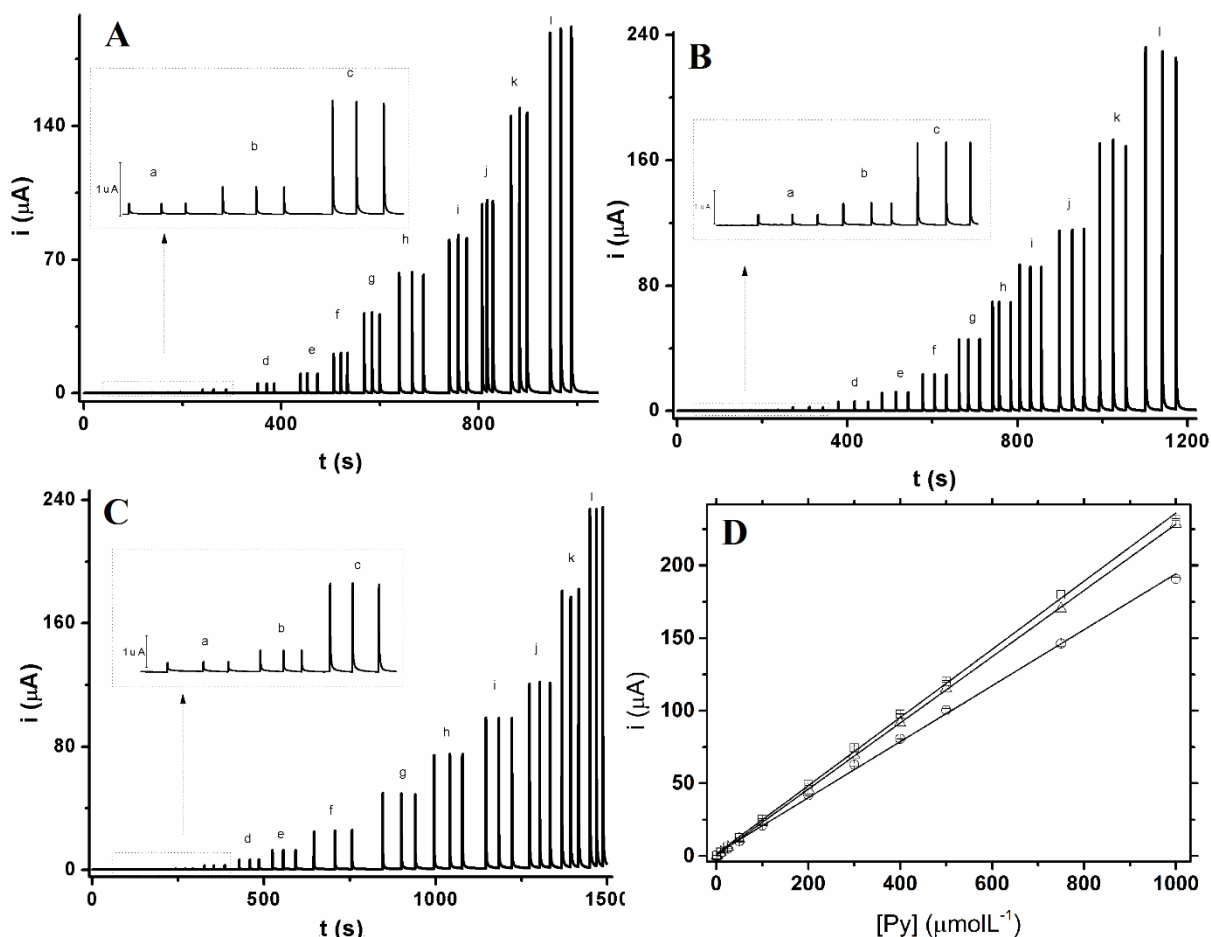


Figura 35: Amperogramas registrados aplicando 0,9 V usando eletrodo de trabalho GC (A), LD-MWCNT (B) e SD-MWCNT (C) com injeções em triplicata de padrões de a) 1; b) 2,5; c) 10; d) 25; e) 50; f) 100; g) 200; h) 300; i) 400; j) 500; k) 750 e l) 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PY; (D) Curvas analíticas e faixas lineares registradas para GC (\circ), LD-MWCNT (\triangle) e SD-MWCNT (\square).

No potencial de trabalho de 0,9 V, as curvas apresentaram mesma faixa linear e coeficientes de correlação, apresentados na Tabela 6, com uma leve melhora de 1,21 e 1,18 vezes para SD-MWCNT e LD-MWCNT, respectivamente, em relação ao GC. Estes dados estão em concordância com os voltamogramas hidrodinâmicos para PY.

Estudos de repetibilidade para PY em potencial 0,9V revelaram que ambas as superfícies apresentam desvios aceitáveis com valores de 3,1, 1,5 e 3,0%, demonstrando que a modificação com SD-MWCNT se mostra eficiente para utilização em métodos quantitativos de análise do PY. Os eletrodos GC e LD_MWCNT também se mostram satisfatórios para utilizações nas devidas aplicações. A Tabela 6 resume todos os resultados para PY.

Valores superiores de frequência analítica teórica foram observados em todas as modificações em ambos potenciais quando comparados ao GC, o que indica a resposta mais rápida dos eletrodos modificados frente à detecção de PY em comparação ao eletrodo limpo. As modificações contendo SD-MWCNT apresentaram um acréscimo no valor da frequência analítica teórica em potencial menor de trabalho (0,5 V), enquanto em potencial maior (0,9 V) a modificação contendo LD-MWCNT que apresentou melhor resultado de frequência analítica, correlacionada ao menor tempo de resposta do eletrodo.

Tabela 6: Figuras de mérito para testes realizados em eletrodo GC, LD-MWCNT e SD-MWCNT para PY.

PY						
+0.5 V						
	Coefficiente angular ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD n=20	TAF (h^{-1})	R^2
GC	0,033	1 - 1000	0,011	7,9	596,0	0,9800
LD_MWCNT	0,081	1-1000	0,002	10,9	889,7	0,9810
SD_MWNCT	0,117	1 - 1000	0,013	2,9	987,8	0,9970
+0.9 V						
	Coefficiente angular ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD n=20	TAF (h^{-1})	R^2
GC	0,193	1 - 1000	0,009	3,1	838,9	0,9988
LD_MWCNT	0,228	1 - 1000	0,008	1,5	1077,9	0,9999
SD_MWNCT	0,235	1 - 1000	0,024	3,0	882,1	0,9991

3.2.2.2.4.1. Teste de recuperação em amostras de biodiesel dopadas com PY

O teste de adição e recuperação foi realizado em potencial 0,9 V utilizando o eletrodo modificado com SD-MWCNT, uma vez que este apresentou maior sensibilidade para detecção do PY. A curva analítica e os sinais respectivos às análises de amostras dopadas são ilustrados na Figura 36. As amostras de biodiesel foram dopadas em dois níveis (91 e 48 ppm), e o preparo implicou em uma diluição de 363,3. A curva construída foi baseada nestes pontos, operando no

intervalo de 0,05 – 0,5 ppm (ou 0,349 – 3,49 $\mu\text{mol L}^{-1}$ considerando a densidade do biodiesel de 0,880 g cm^{-3}).

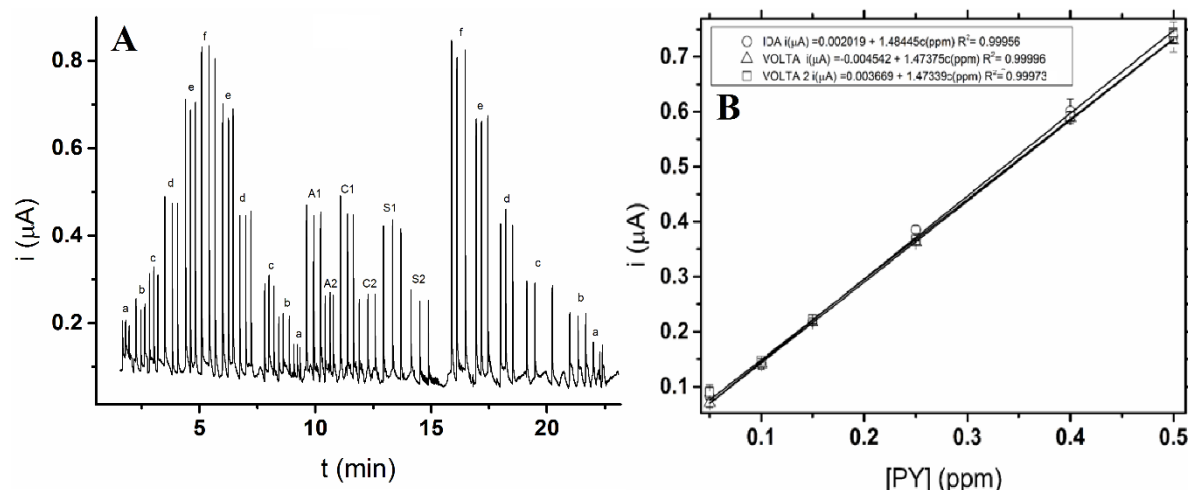


Figura 36: (A) Amperograma para teste de recuperação de amostras de biodiesel por BIA em 0,9 V utilizando eletrodo modificado com SD-MWCNT: injeções em triplicata de a) 0,05, b) 0,1 c) 0,15, d) 0,25, e) 0,40 e f) 0,5 ppm de pirogallol e de amostras de biodieseis de algodão dopadas com 50 ppm A1); dopadas com 25 ppm A2); canola dopadas com 50 ppm C1); dopadas com 25 ppm C2); soja dopadas com 50 ppm S1); dopadas com 25 ppm S2). (B) Curvas de calibração para concentrações de PY crescentes (\circ), decrescentes (\triangle) e decrescentes após injeção de amostras (\square).

Os testes se mostraram satisfatórios para determinação de PY nas amostras de biodieseis de 3 diferentes matrizes, algodão canola e soja, com valores de recuperação acima de 95% nos dois níveis de dopagem, como mostrados na Tabela 7. Dessa forma, verifica-se o método amperométrico proposto possui exatidão para a determinação de PY em biodieseis.

Tabela 7: Índices de recuperação obtidos para método proposto de recuperação de pirogallol em amostras de biodieseis de algodão, canola e soja.

Biodiesel	Adicionado (ppm)	Encontrado (ppm)	Recuperação (%)	Adicionado (ppm)	Encontrado (ppm)	Recuperação (%)
Algodão	91	90 \pm 2	99 \pm 2	48	45 \pm 1	95 \pm 2
Canola	91	90 \pm 6	99 \pm 5	48	45 \pm 2	95 \pm 4
Soja	91	90 \pm 2	99 \pm 2	48	46 \pm 2	96 \pm 4

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O presente trabalho demonstrou a potencialidade dos nanotubos de carbono de diferentes diâmetros para utilização em sensores eletroquímicos para determinação de antioxidantes fenólicos usando sistema BIA com detecção amperométrica. Em linhas gerais, as modificações com MWCNTs demonstraram alguma melhora em comparação com resultados obtidos utilizando carbono vítreo não modificado, sendo perceptível melhoras como ganho na sensibilidade, menores potenciais de oxidação, picos mais bem definidos com menores ΔE_{pico} , estabilidade de sinal analítico com valores inferiores de RSD e em alguns casos apresentando melhora na frequência analítica teórica e efeito eletrocatalítico, atribuídos aos defeitos estruturais confirmados em caracterizações do material utilizado.

Este é o primeiro trabalho que apresenta uma comparação amperométrica entre eletrodos modificados com nanotubos de carbono de diferentes diâmetros, e demonstra uma aplicação satisfatória utilizando sistema BIA para determinação dos antioxidantes hidroquinona, terc-butil-hidroquinona, catecol e pirogalol.

Os melhores resultados obtidos foram registrados em eletrodo modificado com nanotubo de carbono de menor diâmetro, trabalhando em potenciais de oxidação menores, e os resultados para esse eletrodo foram, respectivamente, para HQ, TBHQ, CT e PY: amplas faixas lineares de trabalho de 1-1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, baixos limites de detecção de 0,014 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0,011 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0,034 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0,013 $\mu\text{mol L}^{-1}$, baixos desvios padrão relativos de 0,9 % / 3,5 % / 1,3 % / 2,8 %, elevada frequência analítica teórica de 1368,9 injeções h^{-1} / 820,7 injeções h^{-1} / 1018,7 injeções h^{-1} / 987,8 injeções h^{-1} .

O teste de recuperação utilizando SD-MWCNT para PY atingiu níveis ótimos de recuperação em amostras de biodiesel de soja, canola e algodão, mostrando que pode ser aplicado em amostras de biodiesel. Além de possuir uma etapa de preparo de amostra simples (diluições) o método eletroanalítico proposto é de baixo custo com possibilidade de análise “*in loco*”.

Algumas perspectivas para continuação deste trabalho são:

- Utilização de grafeno atuando como um modificador;
- Utilização de compostos metálicos adsorvidos em grafeno e nanotubos atuando como modificadores;
- Elaboração de instrumentação BIA e células eletroquímicas com a utilização de impressora 3d.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wang, J., *MODIFIED ELECTRODES FOR ELECTROCHEMICAL SENSORS*. Electroanalysis, 1991. **3**(4-5): p. 255-259.
2. Moses, P.R., L. Wier, and R.W. Murray, *Chemically modified tin oxide electrode*. Analytical Chemistry, 1975. **47**(12): p. 1882-1886.
3. Pereira, A.C., A.d.S. Santos, and L.T. Kubota, *Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas*. Química Nova, 2002. **25**: p. 1012-1021.
4. Lane, R.F. and A.T. Hubbard, *Electrochemistry of chemisorbed molecules. III. Determination of the oxidation state of halides chemisorbed on platinum. Reactivity and catalytic properties of adsorbed species*. The Journal of Physical Chemistry, 1975. **79**(8): p. 808-815.
5. Katz, E., T. Lötzbeyer, D.D. Schlereth, W. Schuhmann, and H.-L. Schmidt, *Electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide coenzymes at gold and platinum electrode surfaces modified with a monolayer of pyrroloquinoline quinone. Effect of Ca²⁺ cations*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1994. **373**(1): p. 189-200.
6. Persson, B., *A chemically modified graphite electrode for electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide based on a phenothiazine derivative, 3- β -naphthoyl-toluidine blue O*. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1990. **287**(1): p. 61-80.
7. Souza, M.d.F.B., *Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem*. Química Nova, 1997. **20**: p. 191-195.
8. Snell, K.D. and A.G. Keenan, *Surface modified electrodes*. Chemical Society Reviews, 1979. **8**(2): p. 259-282.
9. Deronzier, A., *ELECTROCATALYSIS BY FUNCTIONALIZED POLYPYRROLE FILMS*. Journal De Chimie Physique Et De Physico-Chimie Biologique, 1989. **86**(1): p. 31-44.
10. Silva, R.A.B., R.H.O. Montes, E.M. Richter, and R.A.A. Munoz, *Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection*. Food Chemistry, 2012. **133**(1): p. 200-204.
11. Musameh, M., J. Wang, A. Merkoci, and Y. Lin, *Low-potential stable NADH detection at carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes*. Electrochemistry Communications, 2002. **4**(10): p. 743-746.

12. Dumitrescu, I., P.R. Unwin, and J.V. Macpherson, *Electrochemistry at carbon nanotubes: perspective and issues*. Chemical Communications, 2009(45): p. 6886-6901.
13. Oberlin, A., M. Endo, and T. Koyama, *Filamentous growth of carbon through benzene decomposition*. Journal of Crystal Growth, 1976. **32**(3): p. 335-349.
14. Iijima, S., *Helical microtubules of graphitic carbon*. Nature, 1991. **354**(6348): p. 56-58.
15. Léonard, F., *Chapter 1 - Introduction*, in *The Physics of Carbon Nanotube Devices*, F. Léonard, Editor 2009, William Andrew Publishing: Norwich, NY. p. 1-26.
16. Gooding, J.J., *Nanostructuring electrodes with carbon nanotubes: A review on electrochemistry and applications for sensing*. Electrochimica Acta, 2005. **50**(15): p. 3049-3060.
17. Britto, P.J., K.S.V. Santhanam, and P.M. Ajayan, *Carbon nanotube electrode for oxidation of dopamine*. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 1996. **41**(1): p. 121-125.
18. Ji, X., R.O. Kadara, J. Krussma, Q. Chen, and C.E. Banks, *Understanding the Physicoelectrochemical Properties of Carbon Nanotubes: Current State of the Art*. Electroanalysis, 2010. **22**(1): p. 7-19.
19. Wildgoose, G.G., C.E. Banks, H.C. Leventis, and R.G. Compton, *Chemically Modified Carbon Nanotubes for Use in Electroanalysis*. Microchimica Acta, 2006. **152**(3-4): p. 187-214.
20. Pumera, M., *Voltammetry of carbon nanotubes and graphenes: excitement, disappointment, and reality*. The Chemical Record, 2012. **12**(1): p. 201-213.
21. Agüí, L., P. Yáñez-Sedeño, and J.M. Pingarrón, *Role of carbon nanotubes in electroanalytical chemistry: A review*. Analytica Chimica Acta, 2008. **622**(1-2): p. 11-47.
22. Banks, C.E., T.J. Davies, G.G. Wildgoose, and R.G. Compton, *Electrocatalysis at graphite and carbon nanotube modified electrodes: edge-plane sites and tube ends are the reactive sites*. Chemical Communications, 2005(7): p. 829-841.
23. Banks, C.E., R.R. Moore, T.J. Davies, and R.G. Compton, *Investigation of modified basal plane pyrolytic graphite electrodes: definitive evidence for the electrocatalytic properties of the ends of carbon nanotubes*. Chemical Communications, 2004(16): p. 1804-1805.

24. Wang, L. and M. Pumera, *Residual metallic impurities within carbon nanotubes play a dominant role in supposedly "metal-free" oxygen reduction reactions*. Chemical Communications, 2014. **50**(84): p. 12662-12664.
25. Henstridge, M.C., E.J.F. Dickinson, M. Aslanoglu, C. Batchelor-McAuley, and R.G. Compton, *Voltammetric selectivity conferred by the modification of electrodes using conductive porous layers or films: The oxidation of dopamine on glassy carbon electrodes modified with multiwalled carbon nanotubes*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2010. **145**(1): p. 417-427.
26. Sims, M.J., N.V. Rees, E.J.F. Dickinson, and R.G. Compton, *Effects of thin-layer diffusion in the electrochemical detection of nicotine on basal plane pyrolytic graphite (BPPG) electrodes modified with layers of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT-BPPG)*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2010. **144**(1): p. 153-158.
27. Keeley, G.P. and M.E.G. Lyons, *The effects of thin layer diffusion at glassy carbon electrodes modified with porous films of single-walled carbon nanotubes*. International Journal of Electrochemical Science, 2009. **4**(6): p. 794-809.
28. Montes, R.H.O., J.S. Stefano, E.M. Richter, and R.A.A. Munoz, *Exploring Multiwalled Carbon Nanotubes for Naproxen Detection*. Electroanalysis, 2014. **26**(7): p. 1449-1453.
29. Cañete-Rosales, P., V. Ortega, A. Álvarez-Lueje, S. Bollo, M. González, A. Ansón, and M.T. Martínez, *Influence of size and oxidative treatments of multi-walled carbon nanotubes on their electrocatalytic properties*. Electrochimica Acta, 2012. **62**: p. 163-171.
30. Beitollahi, H. and I. Sheikhshoaie, *Electrocatalytic and simultaneous determination of isoproterenol, uric acid and folic acid at molybdenum (VI) complex-carbon nanotube paste electrode*. Electrochimica Acta, 2011. **56**(27): p. 10259-10263.
31. Beitollahi, H., A. Mohadesi, S. Mohammadi, and A. Akbari, *Electrochemical behavior of a carbon paste electrode modified with 5-amino-3',4'-dimethyl-biphenyl-2-ol/carbon nanotube and its application for simultaneous determination of isoproterenol, acetaminophen and N-acetylcysteine*. Electrochimica Acta, 2012. **68**(0): p. 220-226.
32. Beitollahi, H. and I. Sheikhshoaie, *Electrocatalytic oxidation and determination of epinephrine in the presence of uric acid and folic acid at multiwalled carbon nanotubes/molybdenum(vi) complex modified carbon paste electrode*. Analytical Methods, 2011. **3**(8): p. 1810-1814.

33. Beitollahi, H. and I. Sheikhshoae, *Selective voltammetric determination of norepinephrine in the presence of acetaminophen and folic acid at a modified carbon nanotube paste electrode*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2011. **661**(2): p. 336-342.
34. Beitollahi, H. and M. Mostafavi, *Nanostructured Base Electrochemical Sensor for Simultaneous Quantification and Voltammetric Studies of Levodopa and Carbidopa in Pharmaceutical Products and Biological Samples*. Electroanalysis, 2014. **26**(5): p. 1090-1098.
35. Molaakbari, E., A. Mostafavi, H. Beitollahi, and R. Alizadeh, *Synthesis of ZnO nanorods and their application in the construction of a nanostructure-based electrochemical sensor for determination of levodopa in the presence of carbidopa*. Analyst, 2014. **139**(17): p. 4356-4364.
36. Skoog, D.A. and D.M. West, *Fundamentos de química analítica* 1989, Barcelona [etc.: Reverté.
37. CONAMA, *Resolução CONAMA 357/2005, Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.*, CONAMA, Editor 2005: Publicada no Diário oficial da união - DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63 - disponível em <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiano1.cfm?codlegitipo=3&ano=todos>.
38. ANVISA, *Resolução nº 105. Aprova os Regulamentos Técnicos: Disposições Gerais para Embalagens e Equipamentos Plásticos em contato com Alimentos.*, ANVISA, Editor 1999, Brasil: D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 20 de maio de 1999. disponível em <http://www.portal.anvisa.gov.br/>.
39. Ticianelli, E.A. and E.R. Gonzalez, *Eletroquímica: Princípios e Aplicações Vol. 1* 1998: EDUSP.
40. Beck, F., *Cyclic voltammetry—simulation and analysis of reaction mechanisms*. By David K. Gosser, Jr., VCH, New York 1993, xi, 154 pp., hardcover, DM 124.00, ISBN 3-527-28226-2, disks included (5 1/4" and 3 1/2"). Electroanalysis, 1995. **7**(3): p. 298-298.
41. Quintino, M.d.S.M., *Desenvolvimento de Sensores Eletroquímicos Associados a Batch Injection Analysis (BIA) para Aplicações Analíticas*, in Instituto de Química 2003, USP: Sao Paulo - SP.

42. Brett, C.M.A. and A.M.C.F.O. Brett, *The influence of the halide electrolyte on the electrochemical reduction pathway of some meso-tetrasubstituted porphyrin free bases in N,N-dimethyl formamide*. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1988. **255**(1–2): p. 199-213.
43. Beinrohr, E., P. Tschöpel, G. Tölg, and M. Németh, *Flow-through anodic stripping coulometry and anodic stripping coulometry with collection for the simultaneous absolute determination of copper, lead, cadmium and zinc*. Analytica Chimica Acta, 1993. **273**(1–2): p. 13-25.
44. Wang, J. and Z. Taha, *Batch injection analysis*. Analytical Chemistry, 1991. **63**(10): p. 1053-1056.
45. Quintino, M.S.M. and L. Angnes, *Batch Injection Analysis: An Almost Unexplored Powerful Tool*. Electroanalysis, 2004. **16**(7): p. 513-523.
46. Wang, J., L. Chen, L. Angnes, and B. Tian, *Computerized pipettes with programmable dispensation*. Analytica Chimica Acta, 1992. **267**(1): p. 171-177.
47. Pereira, P.F., M.C. Marra, R.A.A. Munoz, and E.M. Richter, *Fast batch injection analysis system for on-site determination of ethanol in gasohol and fuel ethanol*. Talanta, 2012. **90**(0): p. 99-102.
48. Gimenes, D.T., R.R. Cunha, M.M.A.d.C. Ribeiro, P.F. Pereira, R.A.A. Muñoz, and E.M. Richter, *Two new electrochemical methods for fast and simultaneous determination of codeine and diclofenac*. Talanta, 2013. **116**(0): p. 1026-1032.
49. Pereira, P.F., M.C. Marra, A.B. Lima, W.T.P. dos Santos, R.A.A. Munoz, and E.M. Richter, *Fast and simultaneous determination of nimesulide and paracetamol by batch injection analysis with amperometric detection on bare boron-doped diamond electrode*. Diamond and Related Materials, 2013. **39**(0): p. 41-46.
50. Freitas, H.C., E.S. Almeida, T.F. Tormin, E.M. Richter, and R.A.A. Munoz, *Ultrasound-assisted digestion of biodiesel samples for determination of metals by stripping voltammetry*. Analytical Methods, 2015.
51. Brett, C.M.A., A.M. Oliveira Brett, and L.C. Mitoseriu, *Amperometric and Voltammetric Detection in Batch Injection Analysis*. Analytical Chemistry, 1994. **66**(19): p. 3145-3150.
52. Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge, *[1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview*, in *Methods in Enzymology* 1990, Academic Press. p. 1-85.

53. Ruiz-Capillas, C. and L.M.L. Nollet, *Flow Injection Analysis of Food Additives*. Food Analysis & Properties 2015: CRC Press.
54. Prieto, M.A., J.A. Vázquez, and M.A. Murado, *Crocin bleaching antioxidant assay revisited: Application to microplate to analyse antioxidant and pro-oxidant activities*. Food Chemistry, 2015. **167**: p. 299-310.
55. Flakelar, C.L., D.J. Luckett, J.A. Howitt, G. Doran, and P.D. Prenzler, *Canola (Brassica napus) oil from Australian cultivars shows promising levels of tocopherols and carotenoids, along with good oxidative stability*. Journal of Food Composition and Analysis, 2015. **42**: p. 179-186.
56. Becker, L., *Final report on the amended safety assessment of Propyl Gallate*. International Journal of Toxicology, 2007. **26**: p. 89-118.
57. Ramalho, V.C. and N. Jorge, *Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos*. Química Nova, 2006. **29**: p. 755-760.
58. Buck, D.F., *Antioxidants in soya oil*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1981. **58**(3): p. 275-278.
59. McCall, M.R. and B. Frei, *Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans?* Free Radical Biology and Medicine, 1999. **26**(7-8): p. 1034-1053.
60. Fernandez-Panchon, M.S., D. Villano, A.M. Troncoso, and M.C. Garcia-Parrilla, *Antioxidant Activity of Phenolic Compounds: From In Vitro Results to In Vivo Evidence*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2008. **48**(7): p. 649-671.
61. Inoue, M., R. Suzuki, N. Sakaguchi, Z. Li, T. Takeda, Y. Ogihara, B.Y. Jiang, and Y. Chen, *Selective Induction of Cell Death in Cancer Cells by Gallic Acid*. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 1995. **18**(11): p. 1526-1530.
62. Tang, H., A. Wang, S. Salley, and K.Y.S. Ng, *The Effect of Natural and Synthetic Antioxidants on the Oxidative Stability of Biodiesel*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2008. **85**(4): p. 373-382.
63. Das, L.M., D.K. Bora, S. Pradhan, M.K. Naik, and S.N. Naik, *Long-term storage stability of biodiesel produced from Karanja oil*. Fuel, 2009. **88**(11): p. 2315-2318.
64. Jain, S. and M.P. Sharma, *Stability of biodiesel and its blends: A review*. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2010. **14**(2): p. 667-678.
65. Tang, H.Y., R.C. De Guzman, K.Y.S. Ng, and S.O. Salley, *Effect of Antioxidants on the Storage Stability of Soybean-Oil-Based Biodiesel*. Energy & Fuels, 2010. **24**: p. 2028-2033.

66. Rizwanul Fattah, I.M., H.H. Masjuki, M.A. Kalam, M.A. Hazrat, B.M. Masum, S. Imtenan, and A.M. Ashraful, *Effect of antioxidants on oxidation stability of biodiesel derived from vegetable and animal based feedstocks*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2014. **30**: p. 356-370.
67. Rosatto, S.S., R.S. Freire, N. Durán, and L.T. Kubota, *Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesse ambiental*. Química Nova, 2001. **24**: p. 77-86.
68. Gattrell, M. and D.W. Kirk, *A Study of the Oxidation of Phenol at Platinum and Preoxidized Platinum Surfaces*. Journal of The Electrochemical Society, 1993. **140**(6): p. 1534-1540.
69. Born, M., P.-A. Carrupt, R. Zini, F. Brée, J.-P. Tillement, K. Hostettmann, and B. Testa, *Electrochemical Behaviour and Antioxidant Activity of Some Natural Polyphenols*. Helvetica Chimica Acta, 1996. **79**(4): p. 1147-1158.
70. Steenken, S. and P. Neta, *One-electron redox potentials of phenols. Hydroxy- and aminophenols and related compounds of biological interest*. The Journal of Physical Chemistry, 1982. **86**(18): p. 3661-3667.
71. Andreescu, S., D. Andreescu, and O.A. Sadik, *A new electrocatalytic mechanism for the oxidation of phenols at platinum electrodes*. Electrochemistry Communications, 2003. **5**(8): p. 681-688.
72. Hotta, H., H. Sakamoto, S. Nagano, T. Osakai, and Y. Tsujino, *Unusually large numbers of electrons for the oxidation of polyphenolic antioxidants*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 2001. **1526**(2): p. 159-167.
73. Enache, T.A. and A.M. Oliveira-Brett, *Phenol and para-substituted phenols electrochemical oxidation pathways*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2011. **655**(1): p. 9-16.
74. Gorla, F.A., E.H. Duarte, E.R. Sartori, and C.R.T. Tarley, *Electrochemical study for the simultaneous determination of phenolic compounds and emerging pollutant using an electroanalytical sensing system based on carbon nanotubes/surfactant and multivariate approach in the optimization*. Microchemical Journal, 2016. **124**: p. 65-75.
75. FDA, *Skin Bleaching Drug Products for Over-the-Counter Product Use; Proposed Rule (PDF) (Report)*. 1978N-0065., F.a.D. Administration, Editor 2006.

76. Jagetia, G.C. and R. Aruna, *Hydroquinone increases the frequency of micronuclei in a dose-dependent manner in mouse bone marrow*. Toxicology Letters, 1997. **93**(2–3): p. 205-213.
77. He, K., X. Wang, X. Meng, H. Zheng, and S.-i. Suye, *Amperometric determination of hydroquinone and catechol on gold electrode modified by direct electrodeposition of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014. **193**: p. 212-219.
78. Pistonesi, M.F., M.S. Di Nezio, M.E. Centurión, M.E. Palomeque, A.G. Lista, and B.S. Fernández Band, *Determination of phenol, resorcinol and hydroquinone in air samples by synchronous fluorescence using partial least-squares (PLS)*. Talanta, 2006. **69**(5): p. 1265-1268.
79. Cui, H., Q. Zhang, A. Myint, X. Ge, and L. Liu, *Chemiluminescence of cerium(IV)–rhodamine 6G–phenolic compound system*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2006. **181**(2–3): p. 238-245.
80. Afkhami, A. and H.A. Khatami, *Indirect Kinetic–Spectrophotometric Determination of Resorcinol, Catechol, and Hydroquinone*. Journal of Analytical Chemistry, 2001. **56**(5): p. 429-432.
81. Kovács, Á., M. Mörtl, and A. Kende, *Development and optimization of a method for the analysis of phenols and chlorophenols from aqueous samples by gas chromatography–mass spectrometry, after solid-phase extraction and trimethylsilylation*. Microchemical Journal, 2011. **99**(1): p. 125-131.
82. Mishra, B., L.B. Kumbhare, V.K. Jain, and K.I. Priyadarsini, *Pulse Radiolysis Studies on Reactions of Hydroxyl Radicals with Selenocystine Derivatives*. The Journal of Physical Chemistry B, 2008. **112**(14): p. 4441-4446.
83. Sharma, O.P., T.K. Bhat, and B. Singh, *Thin-layer chromatography of gallic acid, methyl gallate, pyrogallol, phloroglucinol, catechol, resorcinol, hydroquinone, catechin, epicatechin, cinnamic acid, p-coumaric acid, ferulic acid and tannic acid*. Journal of Chromatography A, 1998. **822**(1): p. 167-171.
84. Sirajuddin, M.I. Bhangar, A. Niaz, A. Shah, and A. Rauf, *Ultra-trace level determination of hydroquinone in waste photographic solutions by UV–vis spectrophotometry*. Talanta, 2007. **72**(2): p. 546-553.
85. Sakodinskaya, I.K., C. Desiderio, A. Nardi, and S. Fanali, *Micellar electrokinetic chromatographic study of hydroquinone and some of its ethers: Determination of*

- hydroquinone in skin-toning cream*. Journal of Chromatography A, 1992. **596**(1): p. 95-100.
86. Podolina, E.A., O.B. Rudakov, E.A. Khorokhordina, and L.A. Kharitonova, *Use of acetonitrile for the extraction of dihydric phenols from salt aqueous solutions followed by HPLC determination*. Journal of Analytical Chemistry, 2008. **63**(5): p. 468-471.
 87. Cunha, R.R., T.F. Tormin, E.M. Richter, and R.A.A. Munoz, *Determinação rápida de hidroquinona usando análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica*. Química Nova, 2013. **36**: p. 663-668.
 88. Kong, B., T. Yin, X. Liu, and W. Wei, *Voltammetric Determination of Hydroquinone using β -Cyclodextrin/Poly(N-Acetylaniline)/Carbon Nanotube Composite Modified Glassy Carbon Electrode*. Analytical Letters, 2007. **40**(11): p. 2141-2150.
 89. Huo, Z., Y. Zhou, Q. Liu, X. He, Y. Liang, and M. Xu, *Sensitive simultaneous determination of catechol and hydroquinone using a gold electrode modified with carbon nanofibers and gold nanoparticles*. Microchimica Acta, 2011. **173**(1-2): p. 119-125.
 90. Wang, L., P. Huang, J. Bai, H. Wang, L. Zhang, and Y. Zhao, *Direct simultaneous electrochemical determination of hydroquinone and catechol at a poly(glutamic acid) modified glassy carbon electrode*. International Journal of Electrochemical Science, 2007. **2**(1): p. 123-132.
 91. Qi, H. and C. Zhang, *Simultaneous Determination of Hydroquinone and Catechol at a Glassy Carbon Electrode Modified with Multiwall Carbon Nanotubes*. Electroanalysis, 2005. **17**(10): p. 832-838.
 92. Zhao, D.-M., X.-H. Zhang, L.-J. Feng, L. Jia, and S.-F. Wang, *Simultaneous determination of hydroquinone and catechol at PASA/MWNTs composite film modified glassy carbon electrode*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009. **74**(1): p. 317-321.
 93. FAO, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. 2014. In *Food Safety and Quality: Tertiary Butylhydroquinone, Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene.*, FAO, Editor 2014, USA: <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/>.
 94. Capitan-Vallvey, L.F., M.C. Valencia, and E.A. Nicolas, *Monoparameter sensors for the determination of the antioxidants butylated hydroxyanisole and n-propyl gallate in*

- foods and cosmetics by flow injection spectrophotometry*. Analyst, 2001. **126**(6): p. 897-902.
95. Cruces-Blanco, C., A. Segura Carretero, E. Merino Boyle, and A. Fernández Gutiérrez, *The use of dansyl chloride in the spectrofluorimetric determination of the synthetic antioxidant butylated hydroxyanisole in foodstuffs*. Talanta, 1999. **50**(5): p. 1099-1108.
 96. Wang, H. and W. Liu, *Optimization of a high-performance liquid chromatography system by artificial neural networks for separation and determination of antioxidants*. Journal of Separation Science, 2004. **27**(14): p. 1189-1194.
 97. Perrin, C. and L. Meyer, *Simultaneous determination of ascorbyl palmitate and nine phenolic antioxidants in vegetable oils and edible fats by HPLC*. Journal of the American Oil Chemists' Society. **80**(2): p. 115-118.
 98. Saad, B., Y.Y. Sing, M.A. Nawi, N. Hashim, A.S. Mohamed Ali, M.I. Saleh, S.F. Sulaiman, K.M. Talib, and K. Ahmad, *Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC*. Food Chemistry, 2007. **105**(1): p. 389-394.
 99. Chen, M., Q. Xia, M. Liu, and Y. Yang, *Cloud-Point Extraction and Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography for the Determination of Synthetic Phenolic Antioxidants in Edible Oils*. Journal of Food Science, 2011. **76**(1): p. C98-C103.
 100. Xiu-Qin, L., J. Chao, S. Yan-Yan, Y. Min-Li, and C. Xiao-Gang, *Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS*. Food Chemistry, 2009. **113**(2): p. 692-700.
 101. Rodil, R., J.B. Quintana, G. Basaglia, M.C. Pietrogrande, and R. Cela, *Determination of synthetic phenolic antioxidants and their metabolites in water samples by downscaled solid-phase extraction, silylation and gas chromatography–mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2010. **1217**(41): p. 6428-6435.
 102. Guo, L., M.-Y. Xie, A.-P. Yan, Y.-Q. Wan, and Y.-M. Wu, *Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC–MS*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006. **386**(6): p. 1881-1887.
 103. Tormin, T.F., R.R. Cunha, E.M. Richter, and R.A.A. Munoz, *Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amperometric detection*. Talanta, 2012. **99**: p. 527-531.
 104. Medeiros, R.A., R.C. Rocha-Filho, and O. Fatibello-Filho, *Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants in food using a boron-doped diamond electrode*. Food Chemistry, 2010. **123**(3): p. 886-891.

105. Ceballos, C. and H. Fernández, *Synthetic antioxidants in edible oils by square-wave voltammetry on ultramicroelectrodes*. Journal of the American Oil Chemists' Society. **77**(7): p. 731-735.
106. Noel Robledo, S., M. Alicia Zón, C. Daniel Ceballos, and H. Fernández, *Qualitative and quantitative electroanalysis of synthetic phenolic antioxidant mixtures in edible oils based on their acid–base properties*. Food Chemistry, 2011. **127**(3): p. 1361-1369.
107. Lin, X.Y., Y.N. Ni, and S. Kokot, *Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants*. Analytica Chimica Acta, 2013. **765**: p. 54-62.
108. Caramit, R.P., A.G. de Freitas Andrade, J.B. Gomes de Souza, T.A. de Araujo, L.H. Viana, M.A.G. Trindade, and V.S. Ferreira, *A new voltammetric method for the simultaneous determination of the antioxidants TBHQ and BHA in biodiesel using multi-walled carbon nanotube screen-printed electrodes*. Fuel, 2013. **105**: p. 306-313.
109. Araujo, A.S.A., R.P. Caramit, L.C.S. Oliveira, and V.S. Ferreira, *Electroanalytical Method for Determining Pyrogallol in Biodiesel in the Presence of a Surfactant*. Electroanalysis, 2015. **27**(5): p. 1152-1158.
110. Singh, S.K., *Handbook on Cosmetics (Processes, Formulae with Testing Methods)*2010: NIIR Project Consultancy Services.
111. Bao, A., N. Xiao, Y.C. Zhu, S.G. Xin, and H.B. Zhang, *The electrochemical catalytic behavior of pyrogallol at an 8-hydroxyquinoline-aluminum complex modified carbon paste electrode and its detection in tomato*. Rsc Advances, 2015. **5**(17): p. 12710-12716.
112. Mazzei, J.L., J. de Souza Lapa, and I. Felzenszwalb, *The influence of pH on the inhibition of DNA cleavages induced by pyrogallol*. Redox Report, 2008. **13**(5): p. 208-212.
113. Berndt, W.O., W.F. Bergfeld, R.K. Boutwell, W.W. Carlton, D.K. Hoffmann, A.L. Schroeter, and R.C. Shank, *FINAL REPORT ON THE SAFETY ASSESSMENT OF PYROGALLOL*. Journal of the American College of Toxicology, 1991. **10**(1): p. 67-85.
114. Hofrichter, M. and K. Scheibner, *Utilization of aromatic compounds by the Penicillium strain Bi 7/2*. Journal of Basic Microbiology, 1993. **33**(4): p. 227-232.
115. Chen, J. and J. Bai, *Chemiluminescence flow sensor with immobilized reagent for the determination of pyrogallol based on potassium hexacyanoferrate(III) oxidation*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2008. **71**(3): p. 989-992.

116. Lambert, J.D., S. Sang, and C.S. Yang, *Possible Controversy over Dietary Polyphenols: Benefits vs Risks*. Chemical Research in Toxicology, 2007. **20**(4): p. 583-585.
117. Zhao, C., J. Song, and J. Zhang, *Flow-injection biamperometry of pyrogallol compounds*. Talanta, 2003. **59**(1): p. 19-26.
118. Mitchell, C.A., *Osmium tetroxide as a reagent for the estimation of tannins and their derivatives*. Analyst, 1924. **49**(577): p. 162-169.
119. Van Dyke, K., M. Sacks, and N. Qazi, *A new screening method to detect water-soluble antioxidants: acetaminophen (tylenol®) and other phenols react as antioxidants and destroy peroxynitrite-based luminol-dependent chemiluminescence*. Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence, 1998. **13**(6): p. 339-348.
120. Bartolomé, B., M.L. Bengoechea, M.C. Gálvez, F.J. Pérez-Illzarbe, T. Hernández, I. Estrella, and C. Gómez-Cordovés, *Photodiode array detection for elucidation of the structure of phenolic compounds*. Journal of Chromatography A, 1993. **655**(1): p. 119-125.
121. Bartolomé, B., T. Hernández, M.L. Bengoechea, C. Quesada, C. Gómez-Cordovés, and I. Estrella, *Determination of some structural features of procyanidins and related compounds by photodiode-array detection*. Journal of Chromatography A, 1996. **723**(1): p. 19-26.
122. Achilli, G., G. Piero Cellerino, G. Melzi d'Eril, and S. Bird, *Simultaneous determination of 27 phenols and herbicides in water by high-performance liquid chromatography with multielectrode electrochemical detection*. Journal of Chromatography A, 1995. **697**(1-2): p. 357-362.
123. Safavi, A. and M.R. Baezzat, *Flow injection chemiluminescence determination of pyrogallol*. Analytica Chimica Acta, 1998. **368**(1-2): p. 113-116.
124. Kanwal, S., X. Fu, and X. Su, *Highly sensitive flow-injection chemiluminescence determination of pyrogallol compounds*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2009. **74**(5): p. 1046-1049.
125. Sun, Y.-G., H. Cui, X.-Q. Lin, Y.-H. Li, and H.-Z. Zhao, *Flow injection analysis of pyrogallol with enhanced electrochemiluminescent detection*. Analytica Chimica Acta, 2000. **423**(2): p. 247-253.

126. Yang, W.-C., X.-D. Yu, A.-M. Yu, and H.-Y. Chen, *Study of a novel cationic calix[4]arene used as selectivity modifier in capillary electrophoresis with electrochemical detection*. Journal of Chromatography A, 2001. **910**(2): p. 311-318.
127. Feng, P.-S., S.-M. Wang, W.-Y. Su, and S.-H. Cheng, *Electrochemical Oxidation and Sensitive Determination of Pyrogallol at Preanodized Screen-Printed Carbon Electrodes*. Journal of the Chinese Chemical Society, 2012. **59**(2): p. 231-238.
128. Tashkhourian, J. and S.M. Ghaderizadeh, *SiO₂-modified carbon paste electrode for electrochemical determination of pyrogallol*. Russian Journal of Electrochemistry, 2014. **50**(10): p. 959-966.
129. Badawy, W.A., K.M. Ismail, and S.S. Medany, *Polyaminoanthraquinone Modified Electrodes as Electroanalytical Sensors*. International Journal of Electrochemical Science, 2011. **6**(9): p. 4204-4217.
130. Zen, J.-M., H.-H. Chung, and A.S. Kumar, *Selective Detection of o-Diphenols on Copper-Plated Screen-Printed Electrodes*. Analytical Chemistry, 2002. **74**(5): p. 1202-1206.
131. Notsu, H. and T. Tatsuma, *Simultaneous determination of phenolic compounds by using a dual enzyme electrodes system*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2004. **566**(2): p. 379-384.
132. Hamelinck, C.N. and A.P.C. Faaij, *Outlook for advanced biofuels*. Energy Policy, 2006. **34**(17): p. 3268-3283.
133. Lôbo, I.P., S.L.C. Ferreira, and R.S.d. Cruz, *Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos*. Química Nova, 2009. **32**: p. 1596-1608.
134. Santos, N.A., A.M.T.M. Cordeiro, S.S. Damasceno, R.T. Aguiar, R. Rosenhaim, J.R. Carvalho Filho, I.M.G. Santos, A.S. Maia, and A.G. Souza, *Commercial antioxidants and thermal stability evaluations*. Fuel, 2012. **97**: p. 638-643.
135. ANP, *Resolução ANP nº 45, de 28.08.2014*, A.N.d. Petróleo, Editor 2014: DOU - Diário Oficial da União 26/08/2014.
136. de Araujo, T.A., A.M.J. Barbosa, L.H. Viana, and V.S. Ferreira, *Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples*. Fuel, 2011. **90**(2): p. 707-712.
137. de Araújo, T.A., A.M.J. Barbosa, L.H. Viana, and V.S. Ferreira, *Voltammetric determination of tert-butylhydroquinone in biodiesel using a carbon paste electrode in*

- the presence of surfactant*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010. **79**(2): p. 409-414.
138. Tormin, T.F., D.T. Gimenes, E.M. Richter, and R.A.A. Munoz, *Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection*. Talanta, 2011. **85**(3): p. 1274-1278.
 139. Wang, Z., F. Yang, H. Zheng, X. Qin, J. Luo, Y. Li, and D. Xiao, *Voltammetric determination of TBHQ at a glassy carbon electrode surface activated by in situ chemical oxidation*. Analyst, 2014. **139**(14): p. 3622-3628.
 140. de la Fuente, C., J.A. Acuña, M.D. Vázquez, M.L. Tascón, and P. Sánchez Batanero, *Voltammetric determination of the phenolic antioxidants 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole and tert-butylhydroquinone at a polypyrrole electrode modified with a nickel phthalocyanine complex*. Talanta, 1999. **49**(2): p. 441-452.
 141. González-Cortés, A., P. Armisen, M. Asunción Ruiz, P. Yáñez-Sedeño, and J.M. Pingarrón, *Electroanalytical study of the antioxidant tert-butylhydroquinone (TBHQ) in an oil-in-water emulsified medium*. Electroanalysis, 1994. **6**(11-12): p. 1014-1019.
 142. TAGLIABUE, #160, S., GASPAROLI, A., D. BELLA, L., BONDIOLI, and P., *Qualitative and quantitative determination of synthetic antioxidants in biodiesel*. Vol. 81. 2004, Milano, ITALIE: Arti Grafiche Stephano Pinelli. 4.
 143. Ni, Y.N., L. Wang, and S. Kokot, *Voltammetric determination of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, propyl gallate and tert-butylhydroquinone by use of chemometric approaches*. Analytica Chimica Acta, 2000. **412**(1-2): p. 185-193.
 144. Vuković, G., A. Marinković, M. Obradović, V. Radmilović, M. Čolić, R. Aleksić, and P.S. Uskoković, *Synthesis, characterization and cytotoxicity of surface amino-functionalized water-dispersible multi-walled carbon nanotubes*. Applied Surface Science, 2009. **255**(18): p. 8067-8075.
 145. Datsyuk, V., M. Kalyva, K. Papagelis, J. Parthenios, D. Tasis, A. Siokou, I. Kallitsis, and C. Galiotis, *Chemical oxidation of multiwalled carbon nanotubes*. Carbon, 2008. **46**(6): p. 833-840.
 146. Pedrotti, J.J., L. Angnes, and I.G.R. Gutz, *Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions*. Electroanalysis, 1996. **8**(7): p. 673-675.

147. Zhu, Y.-H., Z.-L. Zhang, and D.-W. Pang, *Electrochemical oxidation of theophylline at multi-wall carbon nanotube modified glassy carbon electrodes*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2005. **581**(2): p. 303-309.
148. ANVISA, *Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 , Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"; fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002. , ANVISA, Editor 2003: D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 02 de junho de 2003, disponível em <http://www.portal.anvisa.gov.br/>.*
149. Ferreira, L.M.C., F.S. Felix, and L. Angnes, *Fast Determination of Ciclopirox in Pharmaceutical Products by Amperometry in Flow and Batch Injection Systems*. Electroanalysis, 2012. **24**(4): p. 961-966.
150. Montes, R.H.O., *EFEITO DO TAMANHO DE NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS EM SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA MOLÉCULAS DE INTERESSE FARMACÊUTICO*, in *Instituto de Química UFU* 2015, Universidade Federal de Uberlândia: Repositório UFU.
151. Ferrari, A.C. and J. Robertson, *Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon*. Physical Review B, 2000. **61**(20): p. 14095-14107.
152. Freire, P.G., *Desenvolvimento e aplicação de eletrodos quimicamente modificado com nanotubos de carbono e óxido de zinco nanoestruturados.*, in *Instituto de Química* 2015, Universidade Federal de Uberlândia: UFU.
153. Calixto, C.M.F., S.X.d. Santos, and É.T.G. Cavaleiro, *Eletrodo compósito à base de grafite-Araldite®: aplicações didáticas - parte II*. Química Nova, 2014. **37**: p. 367-372.
154. Laviron, E., *General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems*. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1979. **101**(1): p. 19-28.
155. Crevillen, A.G., M. Pumera, M.C. Gonzalez, and A. Escarpa, *The preferential electrocatalytic behaviour of graphite and multiwalled carbon nanotubes on enediol groups and their analytical implications in real domains*. Analyst, 2009. **134**(4): p. 657-662.
156. Qi, H.L. and C.X. Zhang, *Simultaneous determination of hydroquinone and catechol at a glassy carbon electrode modified with multiwall carbon nanotubes*. Electroanalysis, 2005. **17**(10): p. 832-838.

157. Xu, Z., X. Chen, X. Qu, and S. Dong, *Electrocatalytic Oxidation of Catechol at Multi-Walled Carbon Nanotubes Modified Electrode*. *Electroanalysis*, 2004. **16**(8): p. 684-687.