

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

THIAGO FARIA TORMIN

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROANALÍTICOS PARA A
DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIOCOMBUSTÍVEIS
EMPREGANDO A ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA (BIA)**

Uberlândia-MG

2016

THIAGO FARIA TORMIN

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROANALÍTICAS PARA A
DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIOCOMBUSTÍVEIS
EMPREGANDO A ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA (BIA)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para obtenção do título de Doutor em Química.

Área de Concentração: Química Analítica

Subárea: Eletroanalítica

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munõz

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter

*Bolsista FAPEMIG

Uberlândia-MG

2016

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

- T684d
2016
- Tormin, Thiago Faria, 1987-
Desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para a determinação de metais em biocombustíveis empregando a análise por injeção em batelada (BIA) / Thiago Faria Tormin. - 2016.
148 f. : il.
- Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz.
Coorientador: Eduardo Mathias Richter.
- Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Inclui bibliografia.
1. Química - Teses. 2. Biocombustíveis - Teses. 3. Voltametria - Teses. 4. Análise por injeção em batelada - Teses. I. Abarza Muñoz, Rodrigo Alejandro. II. Richter, Eduardo Mathias. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.



**Ata da defesa de TESE DE DOUTORADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química,
do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE TESE DE DOUTORADO EM QUÍMICA, NÚMERO 54/PPQUI.**

DATA: 29/07/2016

DISCENTE: Thiago Faria Tormin

MATRÍCULA: 11223QMI007

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a determinação de metais em biocombustíveis empregando a análise por injeção em batelada (BIA).

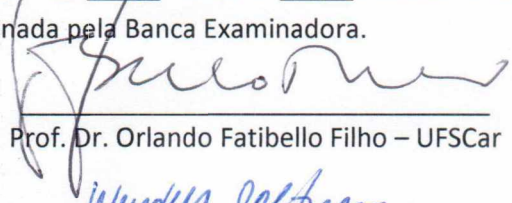
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

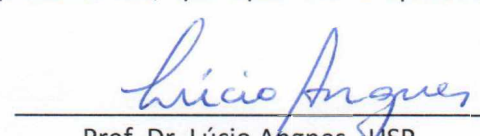
LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada


PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos em associação à análise por injeção em batelada (batch injection analysis) para a determinação de metais em biocombustíveis.

Às treze horas e trinta minutos do dia vinte e nove de julho do ano dois mil e dezesseis, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Orlando Fatibello Filho, da Universidade Federal de São Carlos, Lúcio Angnes, da Universidade de São Paulo, Wendell Karlos Tomazelli Coltro, da Universidade Federal de Goiás, Alex Domingues Batista, do Instituto de Química da UFU e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, 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 Regulamentar nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) 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 a provou o(a) candidata(o). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será mantido.

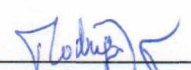
Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 60 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 35 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho – UFSCar


Prof. Dr. Lúcio Angnes – USP


Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro –
UFG


Prof. Dr. Alex Domingues Batista – IQUFU


Professor(a) Orientador(a): Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz – IQUFU

TORMIN, T. F. **Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a determinação de metais em biocombustíveis empregando a análise por injeção em batelada (BIA).** Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia para obtenção do título de Doutor em Química.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Rodrigo A. A. Muñoz

Instituição: IQ/UFU

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. Orlando Fatibello-Filho

Instituição: DQ/UFSCar

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. Alex D. Batista

Instituição: IQ/UFU

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. Wendell K. T. Coltro

Instituição: IQ/UFG

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. Lúcio Angnes

Instituição: IQ/USP

Julgamento: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*Dedico esta tese às pessoas mais importantes para mim,
meus queridos pais (Geraldo e Maria Helena),
minhas amadas irmãs (Daniela, Graziela e Rafaela)
e, aos meus adorados afilhados (Caio e Melissa).*

À estas pessoas devo meu caráter e disciplina de trabalho.

Esta dedicatória se estende aos meus amigos, professores e orientadores,

Dr. Rodrigo Muñoz e Dr. Eduardo Richter.

*A estes devo a confiança em minha capacidade
como pesquisador além da paciência e tranquilidade
para me transmitir os ensinamentos da*

“complicada” Eletroanalítica. E aos meus companheiros eternos

Raphael, Giovanna, Micheli, Gustavo, William,

Denis, João, Tamara, Everton, Carla, Elba,

Luciana, Camila e Mari Bodini.

AGRADECIMENTOS

Eis que chegou o momento do fechamento de um ciclo. Momento de expressar sinceros agradecimentos a muitos e tantos adorados familiares e amigos – tanto aos ‘velhos’ e queridos quanto aos novos que se revelaram ao longo deste tempo.

Se o desafio era enorme, as motivações eram grandiosas, somadas às espontâneas generosidades que fizeram possível a transformação de momentos instantâneos de angústia e sofrimento em uma estrada larga, margeada de flores, frutos e belas árvores. Esta estrada cujo codinome é esperança. Nunca desisti, confesso que já pensei mas, com o grande apoio oriundo de todos os lados, não foi possível, graças a Deus, né!?

Primeiramente, agradeço a Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar o caminho correto nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

Desafio tão grande quanto escrever esta Tese, foi utilizar apenas duas páginas para agradecer as pessoas que fizeram parte nesta minha trajetória de 10 anos de aprendizado no Curso de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Agradeço aos meus pais, motivo da minha existência, que sempre primaram pela minha educação. Obrigado Sr. Geraldo (Gêgê) e Sra. Maria Helena por, além de me oferecerem a oportunidade de estudar, sempre estarem presentes em todos os passos da minha vida. Obrigado por entender os vários momentos de ausência nesta caminhada. Desculpe por muitas vezes fazê-los sofrer, principalmente quando eu ligava pedindo dinheiro durante a graduação, e vocês, quando não tinham, se sentiam mal. Sou muito feliz por ser filho de pais como vocês.

Continuo os agradecimentos familiares falando das minhas três irmãs, Daniela, Graziela e Rafaela por sempre me darem apoio sentimental e financeiro nesta batalha que estou vencendo. Aos meus afilhados, Caio e Melissa, meu muito obrigado, de coração. Aos demais familiares, obrigado e até logo. Quando precisarem, é só me chamar.

Uma vez dentro da Universidade, algumas pessoas me convenceram a continuar os estudos após a graduação, mostrando-me a nobre função da Pesquisa: produzir novos conhecimentos. Professores Hélder e Silvana, profissionais personificados, sempre me induzindo a pensar criticamente. Prof.º Helder hoje meu amigo. Obrigado!

Estendo meus agradecimentos aos funcionários do Instituto de Química e da Pós-Graduação em Química da UFU, onde destaco os professores Nívea e Wellington e a

secretária da pós graduação, Mayta. Obrigado por sempre entenderem minhas necessidades e ansiedades.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, meu agradecimento por conceder a bolsa de estudos para o desenvolvimento desta pesquisa. Agradeço também as demais instituições de fomento, a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) por projetos aprovados e por auxiliarem no fomento desta caminhada científica.

Aos companheiros do Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica (NUPE), em especial; Jéssica, Ana Paula, Laiz, Gracy, Luis André, “Pisquilha”, Thiago Costa, Jhonys, Fernanda, Polyana, Dudu e Jamília, obrigado pela paciência, conselhos e dicas e, por me “aturarem” durante todos estes anos.

Aos grandes amigos de vida que “carreguei”, “carrego” e “carregarei” durante toda minha existência (Raphael, Giovanna, Micheli, Gustavo, William, Denis, João, Tamara, Everton, Carla, Elba, Luciana, Camila e Mari Bodini). Obrigado por conseguirem me fazer feliz como só vocês conseguem e por me apoiarem em todas as minhas decisões.

Ao meu primeiro orientador na graduação, Prof. Eduardo Richter (hoje meu co-orientador) e ao meu orientador, Prof. Rodrigo Muñoz um MUITO OBRIGADO. Agradeço por acreditarem em mim, por me mostrarem o caminho da ciência e por fazerem parte da minha vida nos momentos bons e ruins. Obrigado pela colaboração e pelos conhecimentos repassados. Estes são exemplos de profissionais dedicados e que sabem amar como ninguém a profissão que Deus os concedeu.

Há muito mais a quem agradecer... A todos aqueles que, embora não nomeados aqui, me brindaram com seus inestimáveis apoios em momentos distintos e por suas presenças (ou ausências) afetivas inesquecíveis. O meu carinho e reconhecido muito obrigado! Todos vocês são co-autores deste trabalho e desta vitória em minha vida!

“Nas grandes batalhas da vida,
o primeiro passo à vitória é o desejo de vencer.”

Mahatma Gandhi

“Não peça para vencer batalhas fáceis, pois o sabor da vitória logo passará e
deixará um gosto amargo. Desejo que tenhas força para vencer as duras batalhas
da vida, porque estas são duradouras.”

Mário Pereira Gomes

RESUMO

TORMIN, T. F. **Desenvolvimento de procedimentos eletroanalíticos para a determinação de metais em biocombustíveis empregando a análise por injeção em batelada (BIA)**. 2016. 148f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2016.

Nesta tese foi demonstrado que a associação da técnica eletroanalítica Voltametria de Redissolução Anódica de Onda Quadrada (SWASV, do inglês, *Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry*) com a Análise por Injeção em Batelada (BIA, do inglês, *Batch-Injection Analysis*) permite o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de metais (Cu, Cd, Pb, Hg e Zn) em amostras de etanol combustível e biodiesel. Metais podem ser incorporados aos biocombustíveis em processos de armazenagem e transporte, podendo causar danos irreversíveis ao biocombustível, o qual pode danificar motores e causar problemas ambientais. Logo, justifica-se o presente trabalho pela necessidade do desenvolvimento de métodos analíticos visando o controle de qualidade em relação ao teor de metais nestas amostras, preferencialmente métodos de fácil manuseio, rápidos, de baixo custo e robustos. BIA-SWASV permitiu a determinação direta (sem qualquer diluição da amostra) de Cd, Pb, Cu e Zn em etanol combustível empregando eletrodos de Au e filme de Hg. Limites de detecção na faixa de 0,6 a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, faixa linear de 12,5 a 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ e valores de recuperação entre 87 e 109% foram obtidos para análises de 1 mL de amostra e tempo de deposição de 90 s (tempo total de cada medida de ~ 200 s). O tempo de injeção da amostra pela micropipeta eletrônica usada no sistema BIA foi de 40 s, ou seja, a deposição dos metais ocorreu mesmo após o término da injeção (transporte difusional das espécies ao eletrodo). Além disso, esta tese apresenta a associação de eletrodos impressos (SPE, do inglês, *Screen-Printed Electrode*) ao sistema BIA visando o desenvolvimento de métodos analíticos com características portáteis. Este sistema foi combinado a outros componentes que funcionam com uso de baterias como, pipetas eletrônicas, mini-potenciostatos e computador laptop, e aplicado à determinação de metais (Pb, Cu e Hg) em amostras de biodiesel após digestão ácida. Empregaram-se nos experimentos SPE's com tinta condutora de Au (SPGE, do inglês, *Screen-Printed Gold Electrode*) como eletrodo de trabalho, reduzindo o volume de amostra a 200 μL (em eletrodos convencionais utilizou-se 1000 μL) com tempo de injeção de 40 s (velocidade

de injeção de $5 \mu\text{L s}^{-1}$) e, nestas condições, obtiveram-se limites de detecção abaixo de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (equivalente a $6 \mu\text{g g}^{-1}$), faixa linear entre 20 e $280 \mu\text{g L}^{-1}$ e valores de recuperação entre 90 e 110% para amostras de biodiesel fortificadas. O baixo consumo de amostra no sistema BIA prolongou o tempo de vida útil do SPGE para um dia inteiro de análises (210 injeções). O sistema BIA associado a técnicas eletroanalíticas permitiu o desenvolvimento de métodos analíticos de baixo custo, simples, precisos, que empregam pequeno volume de amostra, portáteis (sobretudo com o emprego de SPE's), que podem ser aplicados para a determinação de rotina e em campo de metais em amostras de etanol combustível e biodiesel.

Palavras-chave: Análise por injeção em batelada, voltametria de onda quadrada por redissolução anódica, eletrodos impressos, biodiesel, etanol combustível e análises em campo.

ABSTRACT

TORMIN, T. F. **Development of electroanalytical procedures for determination of metals in biofuels employing batch injection analysis (BIA)**. 2016. 148f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2016.

In this thesis it is shown that the association of electroanalytical technique Square- Wave Anodic Stripping Voltammetry (SWASV) with Batch-Injection Analysis (BIA) allows the development of analytical methods for determination of metals (Cu, Cd, Pb, Hg and Zn) in ethanol fuel and biodiesel samples. Metals can be incorporated into biofuels during storage and transportation processes, which can damage engines and cause environmental problems. Therefore, it becomes necessary to develop analytical methods aiming the quality control of metals in these samples, preferably methods that are easy to operate, fast, inexpensive and robust. BIA-SWASV allowed direct determination (no dilution of the sample) of Cd, Pb, Cu and Zn in fuel ethanol employing Au and Hg film electrodes. Detection limits in the range of 0.6 to 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, linear range from 12.5 to 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ and recovery values of between 87 and 109% were obtained for analysis of 1 mL of sample and deposition time of 90 s (total time of each measurement of ~ 200 s). The time of sample injection by the electronic micropipette used by the BIA system was 40 s, that is, the deposition of metal occurred even after the end of injection (diffusional transport of species to the electrode). In addition, in this thesis it is presented the combination of Screen-Printed Electrodes (SPE) to the BIA system aimed to the development of analytical methods with portable characteristics. This system was combined with other components that operate using batteries as electronic pipettes, mini-potentiostat and laptop computer, and applied to the determination of metals (Pb, Cu and Hg) in biodiesel samples after acid digestion. It was used in the experiments SPE's with Au conductive ink as a working electrode (SPGE), reduced the volume of sample to 200 μL (in conventional electrodes was used 1000 μL) with injection time of 40 s (injection rate of 5 $\mu\text{L s}^{-1}$), and in these conditions, detection limits lower than 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (equivalent to 6 $\mu\text{g g}^{-1}$), linear range between 20 and 280 $\mu\text{g L}^{-1}$ and recovery values between 90 and 110% for biodiesel fortified samples were obtained. The low sample consumption extended the lifetime SPGE's for a whole day of analysis (210 injections). BIA system associated with electroanalytical techniques allowed the development of inexpensive,

simple, accurate, portable (especially with the use of SPE's) analytical methods, employing reduced sample volume, which can be applied for the routine and on-site determinations of metals in ethanol fuel and biodiesel samples.

Keywords: Batch-injection analysis, Square-wave anodic-stripping voltammetry, screen-printed electrodes, biodiesel, bioethanol and on-site analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Reação de transesterificação para produção do biodiesel.....	27
Figura 2: Diagrama 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.....	42
Figura 3: Imagem do cabo conector, célula BIA e agitador magnético utilizados nos experimentos conduzidos utilizando SPE's.....	51
Figura 4: Imagem do Micro motor-DC (12 V) utilizado nos experimentos conduzidos visando à determinação de zinco em amostras de etanol combustível.....	52
Figura 5: Imagem de um SPGE-LT. ET: eletrodo de trabalho; EPR: eletrodo pseudo-referência; EA: eletrodo auxiliar; CET: contato do eletrodo de trabalho; CEPR: contato do eletrodo pseudo-referência; CEA: contato do eletrodo auxiliar.	54
Figura 6: Esquema da célula eletroquímica convencional com o sistema de três eletrodos, utilizada na formação do MFE. ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.	55
Figura 7: (A) Esquema da célula utilizada nas análises em BIA para a determinação simultânea de cádmio, chumbo e cobre (utilizando um MFE) e zinco (utilizando um EAu). Volume total da célula: 180 mL; volume de eletrólito: ~ 150 mL (B) Imagem em perspectiva da célula durante as medidas eletroquímicas.	56
Figura 8: (A) Célula eletroquímica típica de três eletrodos para deposição ex-situ do filme de mercúrio. (B) Esquema do sistema BIA-SWASV acoplado o eletrodo de mercúrio (ET) e os demais eletrodos ER e EA, assim como a ponteira de uma micropipeta em posição wall-jet em relação ao ET.....	57
Figura 9: (A) Célula BIA montada associada à um eletrodo impresso (SPE). (B) Célula BIA sem a tampa de polipropileno (vista superior do SPE posicionado na célula eletroquímica). (C) Imagem em aproximação do SPE com a ponteira de micropipeta posicionada para injeção. (D) Sistema eletroquímico portátil completo: (a) célula BIA (volume da célula: 80 mL; volume de eletrólito: ~ 60 mL); (b) micromotor DC; (c) micropipeta eletrônica; (d) notebook; (e) mini-potenciostato.	58
Figura 10: Esquema completo do sistema utilizado para a quantificação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras digeridas de biodiesel. Foco na ponteira da micropipeta eletrônica utilizada (200 µL) e na posição wall-jet entre o SPE e a ponteira da micropipeta.	59

Figura 11: Estudos para otimização do volume injetado (200 a 1000 μL) para injeções ($n=3$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) de soluções contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio (■), chumbo (●) e cobre (▲). Condições experimentais: -1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).	62
Figura 12: Estudos para otimização da velocidade da injeção (28 a 345 $\mu\text{L s}^{-1}$) para injeções ($n=3$) de soluções contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio (■), chumbo (●) e cobre (▲) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol). Condições experimentais: -1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições de SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).	63
Figura 13: Estudos para otimização do tempo de deposição (12 a 120 s) para injeções ($n=3$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) de uma solução contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio (■), chumbo (●) e cobre (▲). Condições experimentais: - 1,0 V (potencial de deposição); 1000 μL (volume injetado); 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).	64
Figura 14: Dados de repetitividade ($n=12$) obtidos a partir de injeções sucessivas de um meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio (■), chumbo (●) e cobre (▲). Condições experimentais: - 1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).	65
Figura 15: (A) Respostas voltamétricas da faixa linear de trabalho do método BIA-SWASV conduzido a partir de injeções ($n = 1$) de soluções preparadas em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) com concentrações crescentes (a – i: 2,5 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$) de cádmio (■ ; $R = 0,995$), chumbo (● ; $R = 0,992$) e cobre (▲ ; $R = 0,996$). Condições experimentais: - 1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).	66
Figura 16: (A) Voltamogramas para análise de uma amostra de etanol combustível (a) 100% de etanol combustível; (b) 90% de etanol combustível com 10% (v/v) de HNO_3 e	

após a adição de uma solução padrão contendo cádmio, chumbo e cobre com concentrações crescentes de (c) 12,5; (d) 25,0; (e) 50,0 e (f) 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada metal. (B) Curva de adição de padrão para o cádmio. (C) Curva de adição de padrão para o chumbo. (D) Curva de adição de padrão para o cobre. Condições experimentais como na Figura 13. Condições da SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência)..... 67

Figura 17: Esquema do sistema BIA-SWASV para determinação de zinco em etanol combustível contendo (a) micromotor DC, (b) eletrodo de referência, (c) ponteira da micropipeta eletrônica, (d) eletrodo auxiliar e (e) contato elétrico do eletrodo de trabalho de ouro. Os estágios das medidas são: (A) etapa de condicionamento (solução dentro da célula BIA sob agitação usando um micromotor DC); (B) etapa de deposição (solução dentro da célula BIA sem agitação e a injeção do padrão ou solução amostra usando uma pipeta eletrônica); e (C) Varredura usando SWASV (solução dentro da célula BIA sem agitação). 71

Figura 18: (A) Leituras do sistema BIA-SWASV para injeções de 95% (v/v) de soluções hidroetanólicas (acidificadas com 1% (v/v) de HNO_3) de zinco ($1000 \mu\text{g L}^{-1}$) no sistema BIA contendo um eletrodo de disco de ouro imerso em tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ com valores de pH na faixa de 3 a 9. (B) Gráfico de corrente de pico x pH. (C) Gráfico de potencial x pH. Outras condições experimentais na Tabela 6..... 72

Figura 19: Estudos para otimização do potencial de deposição (-1000 a -750 mV) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) acidificado com 1% (v/v) de HNO_3 contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. Condições experimentais: $1000 \mu\text{L}$ (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); 90 s (tempo de deposição); tampão Britton-Robinson pH 7 (eletrólito suporte). 74

Figura 20: Estudos para otimização do tempo de deposição (45 a 150 s) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. Condições experimentais: $1000 \mu\text{L}$ (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); -900 mV (potencial de deposição); tampão Britton-Robinson pH 7 (eletrólito suporte). 75

Figura 21: Mecanismo de injeção no sistema BIA para análises por redissolução, onde em (A): início da injeção; (B) após 5 s de injeção; (C) após 35 s de injeção; (D) após 40 s do início da injeção. Condições experimentais: $1000 \mu\text{L}$ (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção). 76

Figura 22: Estudos para otimização do volume injetado (200 a $1000 \mu\text{L s}^{-1}$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. Condições

experimentais: -900 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão Britton-Robinson pH 7 (eletrólito suporte).	77
Figura 23: Estudos para otimização da velocidade da injeção (28 a 345,0 $\mu\text{L s}^{-1}$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. Condições experimentais: -900 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); tampão Britton-Robinson pH 7 (eletrólito suporte).	78
Figura 24: Estudos de repetitividade ($n = 10$) para injeções de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco conduzidos utilizando o sistema BIA (com eletrodo de disco de ouro como eletrodo de trabalho) na presença de 95% de etanol. Condições experimentais: -900 mV (potencial de deposição); 90s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão BR pH 7 (eletrólito suporte). Condições de SWASV: 8 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).	80
Figura 25: Medidas BIA-SWASV para injeções de soluções hidroetanólicas (95% v/v) acidificadas com HNO_3 1% v/v contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Zn (curva azul) na presença de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de (A) As(III), (B) Cu(II) e (C) Pb(II) (injeções em triplicata correspondem às curvas em alarajando, ciano e verde) e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ (curvas em vermelho). Condições experimentais apresentadas na Tabela 5.	82
Figura 26: (A) Respostas voltamétricas da faixa linear de trabalho do método BIA-SWASV conduzido a partir de injeções de soluções preparadas em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) com concentrações crescentes (a – e: 50 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$) de zinco ($R = 0,998$). Condições experimentais: -900 mV (potencial de deposição); 90s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão BR pH 7 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 8 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).	84
Figura 27: (A) Medidas obtidas pelo sistema BIA-SWASV para análise de etanol combustível antes (a) e após adição de (b) 25; (c) 50; (d) 100; (e) 150; (f) 200 e (g) 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. (B) Respectiva curva de adição de padrão. Condições experimentais como na Tabela 5.	85
Figura 28: Estudos para otimização do potencial de deposição (-1500 a -1100 mV) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) acidificado com 1% (v/v) de HNO_3 contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco ($n=3$). Condições experimentais: 1000 μL (volume injetado); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); 60 s (tempo de deposição); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).	88

Figura 29: Estudos para otimização do tempo de deposição (45 a 150 s) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco (n=3). Condições experimentais: 1000 μL (volume injetado); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); -1400 mV (potencial de deposição); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).	89
Figura 30: Estudos para otimização do volume injetado (100 a 1000 μL) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco (n=3). Condições experimentais: -1400 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).	90
Figura 31: Estudos para otimização da velocidade da injeção (28 a 345,0 $\mu\text{L s}^{-1}$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco (n=3). Condições experimentais: -1400 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).	91
Figura 32: Valores de correntes de pico obtidas para um estudo de repetitividade (n=12) para injeções sucessivas de soluções hidroetanólicas (95% v/v) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco utilizando MFE. Condições experimentais: -1400 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).	93
Figura 33: Estudo para otimização da concentração de HCl (0,01 a 0,1 mol L^{-1}) contido no interior da célula BIA-SPGE, conduzidos a partir de injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,01 a 1,0 mol L^{-1} contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 μL (volume injetado); velocidade de injeção (5 $\mu\text{L s}^{-1}$); tempo de deposição (90 s); potencial de deposição (-550 mV). Condições SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 40 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).	94
Figura 34: Estudo para otimização da amplitude (10 a 50 mV) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L^{-1} contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 μL (volume injetado); velocidade de injeção (5 $\mu\text{L s}^{-1}$); tempo de deposição (90 s); potencial de deposição (-550 mV); eletrólito (HCl 0,1 mol L^{-1}). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 20 Hz (frequência).	95
Figura 35: Estudo para otimização do degrau de potencial (2 a 6 mV) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L^{-1} contendo 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 μL (volume injetado); velocidade de injeção (5 $\mu\text{L s}^{-1}$); tempo de deposição (90 s); potencial de deposição (-550	

mV); eletrólito (HCl 0,1 mol L⁻¹). Condições de SWASV: 40 mV (amplitude); 20 Hz (frequência)..... 96

Figura 36: Estudo para otimização da frequência (8 a 40 Hz) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 µL (volume injetado); velocidade de injeção (5 µL s⁻¹); tempo de deposição (90 s); potencial de deposição (-550 mV); eletrólito (HCl 0,1 mol L⁻¹). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 40 mV (amplitude). 97

Figura 37: Estudo para otimização do potencial de deposição (-550 a -300 mV) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 75 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 µL (volume injetado); velocidade de injeção (5 µL s⁻¹); tempo de deposição (90 s); eletrólito (HCl 0,1 mol L⁻¹). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência)..... 98

Figura 38: Estudo para otimização do tempo de deposição (25 à 120 s) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 75 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 µL (volume injetado); 5 µL s⁻¹ (velocidade de injeção); -550 mV (potencial de deposição); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência)..... 99

Figura 39: Estudo para otimização do volume injetado (25 a 200 µL) conduzido a partir de injeções em triplicata de uma solução aquosa de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 75 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 5 µL s⁻¹ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). 100

Figura 40: Estudo para otimização da velocidade de injeção (5 a 53 µL s⁻¹) conduzido a partir de injeções em triplicata de uma solução aquosa de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 75 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 µL (volume injetado); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). 101

Figura 41: (A) Respostas voltamétricas obtidas para um estudo de repetitividade (n=10) conduzido no sistema BIA-SPGE sem agitação na etapa de condicionamento para

injeções sucessivas de soluções aquosas (HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂) contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). (B) Picos de correntes em função do número de injeções. Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 µL (volume injetado); 5 µL s⁻¹ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). 104

Figura 42: (A) Respostas voltamétricas obtidas para um estudo de repetitividade (n=10) conduzido no sistema BIA-SPGE com agitação na etapa de condicionamento para injeções sucessivas de soluções aquosas (HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂) contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). (B) Picos de correntes em função do número de injeções. Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 µL (volume injetado); 5 µL s⁻¹ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). 106

Figura 43: Estudos de otimização da velocidade de agitação (250 a 2500 rpm) utilizando o sistema convencional para leituras de 30 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). 107

Figura 44: (A) Respostas voltamétricas obtidas para um estudo de repetitividade (n=10) para leituras sucessivas de 50 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲) conduzido no sistema convencional utilizando como solução eletrólito HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂ (meio em que ocorre a digestão do biodiesel). (B) Picos de correntes em função do número de leituras. Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 1000 rpm (velocidade de agitação); HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). 109

Figura 45: (A) Respostas voltamétricas da faixa linear de trabalho do método BIA-SPGE conduzido a partir de injeções de soluções aquosas contendo HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂ e concentrações crescentes (a – j: 20 a 280 µg L⁻¹) de chumbo, cobre e mercúrio. (B) Curva analítica para de chumbo (■; R = 0,985), cobre (●; R = 0,996) e mercúrio (▲; R = 0,990). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 µL (volume injetado); 5 µL s⁻¹ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol

L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). 111

Figura 46: (A) Respostas voltamétricas para o estudo da faixa linear de trabalho utilizando o método convencional conduzido a partir de adições crescentes de soluções contendo chumbo, cobre e mercúrio (a – j: 20 a 280 µg L⁻¹). (B) Curvas analíticas para chumbo (■; R =0,940), cobre (●; R = 0,980) e mercúrio (▲; R = 0,970). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 1000 rpm (velocidade de agitação); HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). ... 113

Figura 47: (A) Respostas voltamétricas para a análise de uma amostra digerida de biodiesel (a – amostra fortificada) e amostras fortificadas após a adição de (b) 20,0; (c) 39,8; (d) 59,3; (e) 78,1 e (f) 96,1 µg L⁻¹ de chumbo, cobre e mercúrio. (B) Curva de adição de padrão para chumbo (■). (C) Curva de adição de padrão para cobre (●). (D) Curva de adição de padrão para mercúrio (▲). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 µL (volume injetado); 5 µL s⁻¹ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência). 115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resumo de algumas técnicas analíticas aplicadas à determinação de metais em biodiesel.....	30
Tabela 2: Resumo de algumas técnicas eletroanalíticas aplicadas à determinação de metais em etanol combustível.....	35
Tabela 3: Especificações dos reagentes utilizados no preparo de soluções e amostras nos experimentos realizados ao longo do trabalho.	48
Tabela 4: Valores de recuperação para amostras fortificadas e concentração dos metais traço em amostras de etanol combustível encontrados pelo método proposto.....	68
Tabela 5: Comparação das características analíticas do método proposto com os estudos da literatura que empregam análise de redissolução eletroquímica para a determinação de cádmio, chumbo e cobre em etanol combustível.....	69
Tabela 6: Parâmetros das medidas por BIA-SWASV para a determinação de zinco em amostras de etanol combustível.....	79
Tabela 7: Efeito da interferência de As(III), Cd(II), Cr(III), Cu(II), Hg(II), Mn(II), Ni(II) e Pb(II) na recuperação do sinal analítico de 100 µg L ⁻¹ de zinco.....	81
Tabela 8: Valores de recuperação para amostras fortificadas e concentrações de zinco encontradas em amostras de etanol combustível pelo método proposto.....	85
Tabela 9: Comparação das características analíticas do método proposto com os estudos da literatura que empregam análise de redissolução eletroquímica para a determinação de zinco em etanol combustível.	86
Tabela 10: Parâmetros das medidas por BIA-SWASV para a determinação de zinco utilizando MFE.....	92
Tabela 11: Resumo dos parâmetros otimizados (BIA-SWASV) para a determinação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel.....	102
Tabela 12: Resultado dos parâmetros analíticos para a determinação de chumbo, cobre e mercúrio utilizando o sistema BIA (com agitação externa) e o sistema convencional utilizando um SPGE-LT.....	114
Tabela 13: Valores de recuperação (n = 3) para amostras fortificadas e concentrações de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel (1 – soja; 2 – canola e 3 – algodão) pelo método proposto (BIA-SPGE-LT).	116

Tabela 14: Comparação das características analíticas do método proposto com os estudos da literatura que empregam análise de redissolução eletroquímica para a determinação chumbo, cobre e mercúrio em biodiesel.....	117
---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- ABIOVE** – Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais
- ABNT** - Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ANP** – Agência Nacional de Petróleo e Gás Natural
- Anfavea** - Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores
- ASV** – Voltametria de Redissolução Anódica, do inglês, *Anodic Stripping Voltammetry*
- BIA** – Análise por Injeção em Batelada, do inglês, *Batch Injection Analysis*
- BIA-SWASV** – Análise por Injeção em Batelada acoplada à Voltametria de Redissolução Anódica de Onda Quadrada, do inglês, *Batch Injection Analysis - Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry*
- BIA-SPE** – Análise por Injeção em batelada acoplada aos eletrodos impressos, do inglês, *Batch Injection Analysis – Screen-Printed Electrode*
- BR** – Tampão Britton-Robinson
- CA** – Coeficiente angular
- CEA** – Conexão para o Eletrodo Auxiliar
- CEPR** – Conexão para o Eletrodo Pseudo-Referência
- CET** – Conexão para o Eletrodo de Trabalho
- CNPE** - Conselho Nacional de Política Energética
- DPR** – Desvio Padrão Relativo
- DPASV** - Voltametria de Redissolução Anódica de Pulso Diferencial, do inglês, *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry*
- E** - Potencial
- EA** – Eletrodo Auxiliar
- EAu** – Eletrodo de Ouro
- EPR** – Eletrodo Pseudo-Referência
- ER** – Eletrodo de Referência
- ET** – Eletrodo de Trabalho
- FIA** – Análise por Injeção em Fluxo, do inglês, *Flow Injection Analysis*
- AuNPs** – Nanopartículas de ouro, do inglês, *Gold Nanoparticles*
- FAME** - Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos, do inglês, *Fatty Acid Methyl Esters*
- FLT** – Faixa Linear de Trabalho
- H** – Altura
- i** - Corrente

IQ – Instituto de Química

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MFE – Eletrodo de Filme de Mercúrio, do inglês, *Mercury Film Electrode*

NBR – Normas Técnicas Brasileiras

NUPE – Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica

PVC – Policloreto de polivinila

PA – Pureza Analítica

PNPB – Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel

R – Coeficiente de correlação

S – Sensibilidade

SA – Análise por redissolução, do inglês, *Stripping Analysis*

SPE – Eletrodo Impresso, do inglês, *Screen-Printed Electrode*

SPGE – Eletrodo Impresso de Ouro, do inglês, *Screen-Printed Gold Electrode*

SPGE-LT – Eletrodo Impresso de Ouro de Baixa Temperatura de Cura, do inglês, *Screen-Printed Gold Electrode Low Temperature*

SPGE-HT – Eletrodo Impresso de Ouro de Alta Temperatura de Cura, do inglês, *Screen-Printed Gold Electrode High Temperature*

SV – Voltametria de Redissolução, do inglês, *Stripping Voltammetry*

SWASV – Voltametria de Redissolução Anódica de Onda Quadrada, do inglês, *Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry*

UFU – Universidade Federal de Uberlândia

USA – Estados Unidos da América, do inglês, *United States of America*

Ø – Diâmetro

Øi – Diâmetro interno

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	26
1.1.	BIODIESEL	26
1.1.1.	CONTROLE DE QUALIDADE DO BIODIESEL: TEOR DE METAIS.....	28
1.2.	ETANOL COMBUSTÍVEL.....	31
1.2.1.	CONTROLE DE QUALIDADE: TEOR DE METAIS EM ETANOL COMBUSTÍVEL.....	33
1.3.	TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS ENVOLVENDO REDISSOLUÇÃO	37
1.4.	ELETRODOS DE TRABALHO COMUMENTE EMPREGADOS NA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIOCOMBUSTÍVES.....	39
1.4.1.	ELETRODOS IMPRESSOS (SPE's – DO INGLÊS, SCREEN- PRINTED ELECTRODE)	39
1.5.	ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA (BIA – DO INGLÊS – BATCH INJECTION ANALYSIS).....	41
1.5.1.	SISTEMA BIA ACOPLADO COM SISTEMAS DE REDISSOLUÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS.....	43
2.	OBJETIVOS	46
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	46
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
3.	PARTE EXPERIMENTAL	48
3.1.	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	48

3.2.	PREPARO DAS AMOSTRAS DE ETANOL COMBUSTÍVEL E BIODIESEL	49
3.3.	INSTRUMENTAÇÃO, ELETRODOS E CÉLULAS ELETROQUÍMICAS	50
3.3.1.	INSTRUMENTAÇÃO	50
3.3.2.	ELETRODOS	53
3.3.3.	CÉLULAS ELETROQUÍMICAS	55
3.4.	MEDIDAS ELETROQUÍMICAS	60
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	61
4.1.	DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE USANDO ELETRODO DE FILME DE MERCÚRIO EM ETANOL COMBUSTÍVEL	61
4.2.	DETERMINAÇÃO DE ZINCO EM ELETRODO DE OURO	70
4.3.	DETERMINAÇÃO DE ZINCO EM ELETRODO DE FILME DE MERCÚRIO	87
4.4.	DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE CHUMBO, COBRE E MERCÚRIO EM BIODIESEL USANDO ELETRODO IMPRESSO DE OURO	94
4.4.1.	OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO BIA-SWASV ACOPLADO A UM SPGE-LT.	94
4.4.2.	COMPARAÇÃO ENTRE O SISTEMA BIA-SPGE E O MÉTODO CONVENCIONAL	103
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	119
6.	PERSPECTIVAS	121
	REFERÊNCIAS	122

ANEXO A 142

ANEXO B 143

ANEXO C 144

1. INTRODUÇÃO

1.1. BIODIESEL

A investigação de fontes energéticas renováveis é crucial devido a dois principais motivos: queda nas reservas petrolíferas no mundo e o aumento da poluição ambiental gerada pela queima dos combustíveis fósseis provocada, principalmente, pelas emissões de gases tóxicos provenientes de veículos automotores. Uma possível alternativa para minimizar este efeito ambiental indesejável é o uso de biocombustíveis. O termo biocombustível refere-se aos combustíveis sólidos, líquidos ou gasosos, produzidos a partir de biomassa. Sem dúvidas, dentre os principais biocombustíveis utilizados e estudados no mundo estão o etanol combustível e o biodiesel, os quais são candidatos em potencial para substituírem parcialmente os combustíveis fósseis como a gasolina e o óleo diesel.¹

O aumento da demanda global por combustíveis líquidos, o aquecimento global, a segurança energética, o interesse político por desenvolvimento nas áreas agrícolas, social e também energético, são fatores que vinculam novos interesses e oportunidades para pesquisas na indústria e academia, motivadas pelo renovado interesse na produção de biocombustíveis.²

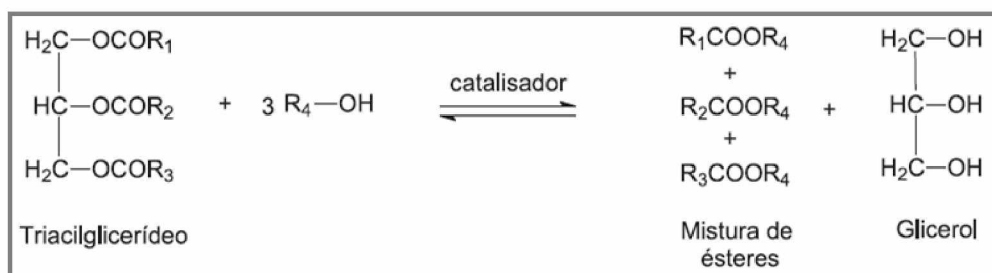
A busca por fontes alternativas e renováveis de energia vem despertando grande interesse no mundo inteiro. Dentre estas, o biodiesel é um potencial candidato à “substituição” do óleo diesel derivado de petróleo.³ Knothe e colaboradores⁴ definiram o biodiesel como um éster monoalquílico de óleos vegetais e gorduras animais, sendo este uma tendência mundial como combustível para uso alternativo em relação ao diesel. Já a definição de Biodiesel segundo a Lei 11.097/2005⁵, está relacionada a um biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, ou conforme o regulamento estabelecido, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente os combustíveis de origem fóssil.

O biodiesel figura na atualidade como a fonte alternativa de energia em mais amplo desenvolvimento, tanto na substituição como em aditivo ao combustível fóssil diesel. Ele é uma mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME do inglês *fatty acid methyl esters*), oriundo de óleos e gorduras. Também pode ser considerado biodiesel a mistura de ésteres etílicos de ácidos graxos.⁶ No que diz respeito a veículos movidos a fontes não-renováveis de energia, o biodiesel, um biocombustível renovável, também

conhecido como diesel vegetal, apresenta-se como uma possível solução para os atuais malefícios provocados pelo petróleo e seus derivados, seja pela redução significativa da emissão dos gases causadores do aquecimento global seja pelo descarte de resíduos ou pelos derramamentos que eventualmente ocorrem no mar e no solo.⁷

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP)⁸, além da redução do vínculo ao diesel importado, o biodiesel traz outros efeitos indiretos de sua fabricação e uso, como o incremento às economias locais e regionais, tanto na etapa agrícola como na indústria de bens e serviços. Com a ampliação do mercado do biodiesel, milhares de famílias brasileiras são favorecidas, principalmente agricultores da região semiárida do Brasil, com o aumento de renda proveniente da lavoura e comercialização das oleaginosas utilizadas na produção do biodiesel. A Figura 1 ilustra a reação de transesterificação comumente utilizada na produção de biodieseis.

Figura 1: Reação de transesterificação para produção do biodiesel.



Fonte:⁹

A reação de transesterificação consiste na reação entre um triacilglicerol (muitas vezes chamado de triglicerídeo) como óleos vegetais, óleos residuais ou gorduras animais, com álcoois de cadeia curta, como o metanol ou etanol, utilizando como agente catalisador uma base forte (hidróxido de sódio ou potássio) resultando em compostos de mono-ésteres de alquila, da qual se extrai a glicerina (glicerol) como subproduto.⁶ A reação envolve a transformação de um éster carboxílico em outro, através da substituição do grupo RO⁻ existente no éster original por outro grupo semelhante proveniente do álcool utilizado na síntese.²

1.1.1. CONTROLE DE QUALIDADE DO BIODIESEL: TEOR DE METAIS

O biodiesel tende a sofrer alterações nas suas propriedades ao longo do tempo devido às reações de natureza hidrolítica, microbiológica e oxidativa com o meio ambiente. Trata-se de processos de degradação que podem ser acelerados pela exposição ao ar, umidade, metais, luz e calor ou mesmo aos ambientes contaminados por microrganismos.¹⁰

O mesmo processo de oxidação ocorre com óleos comestíveis e para avaliar tal processo, a indústria de alimentos faz uso de um método oficial, o qual também vem sendo empregado para o biodiesel, denominado Rancimat.¹¹ O método se baseia na passagem de um fluxo de ar através de uma alíquota de biodiesel contida em um frasco hermeticamente fechado e sob aquecimento controlado. Este tratamento promove a oxidação acelerada do biodiesel até que os ésteres graxos sejam fragmentados, gerando ácidos de baixa massa molar que são, por sua vez, coletados em frascos contendo água destilada. A condutividade desta solução é medida continuamente até que os ácidos voláteis promovam o aumento de condutividade, o que indica o fim da medida. Esta análise é lenta para indicar se o biodiesel apresenta estabilidade à oxidação, pois, segundo suas especificações¹², uma amostra deve apresentar estabilidade durante pelo menos seis horas sob estas condições.

O processo oxidativo que ocorre com moléculas lipídicas tais como nos ésteres presente no biodiesel, tem sido extensivamente estudado. Quando estas moléculas são expostas ao ar e em altas temperaturas, especialmente na presença de metais, hidroperóxidos são gerados ocasionando degradação subsequente, resultando em problemas ambientais e operacionais.¹¹

Os contaminantes metálicos podem ser incorporados aos combustíveis durante o processo de produção, pelo contato com equipamentos de destilação ou refinamento, armazenagem e transporte. Além disso, alguns metais podem ser adicionados para induzir a melhora das características dos produtos. No entanto, a não ser na forma de aditivos (como por exemplo, o chumbo tetraetila em combustível de avião¹³), a presença de elementos metálicos é indesejável, mesmo em baixos teores, e sua quantificação é de suma importância para garantir a qualidade do produto e controlar a poluição devido à sua liberação na atmosfera pela queima de combustíveis.¹⁴

Os contaminantes metálicos catalisam a oxidação do biodiesel por acelerar a formação de radicais livres (via reação de iniciação mediada pelos metais) de ácidos graxos insaturados e dos ésteres metílicos destes ácidos. Estas moléculas são altamente reativas, pois contêm hidrogênios bis-alílicos, precursores de radicais livres, os quais reagem com o oxigênio para formar hidroperóxidos. Os metais atuam como catalisadores da decomposição dos hidroperóxidos, acelerando a auto-oxidação do biodiesel.¹¹

Estudos sobre as reações de oxidação do biodiesel na presença de contaminantes metálicos e antioxidantes já foram amplamente relatados na literatura. Knothe e Dunn¹¹ observaram que baixos teores (traços) de metais diminuem significativamente a estabilidade oxidativa do biocombustível. Segundo os pesquisadores, dos três metais analisados, cobre, ferro e níquel, o que tem maior efeito catalítico na degradação do biodiesel é o cobre.¹¹

Sarin e colaboradores^{15,16,17,18} avaliaram a influência de metais como ferro, níquel, manganês, cobalto e cobre (comumente presente em ligas metálicas de fabricação de tanques de combustível, armazenamento e transporte) na estabilidade oxidativa em biodieseis de pinhão-manso, palma e *Pongamia* (oleaginosa indiana) na presença e ausência de antioxidantes. A presença dos metais nas amostras analisadas pelos pesquisadores resultou na aceleração da oxidação do biocombustível pela formação de radicais livres devido a uma reação de iniciação mediada pelos metais. Os autores notaram que pequenas ou grandes quantidades de metal adicionadas ao biodiesel geraram efeitos similares na estabilidade oxidativa, comprovando o efeito catalítico dos íons metálicos. Dentre os metais estudados, o que gerou efeito catalítico mais forte foi o cobre (assim como observado Knothe e Dunn¹¹) comprovado em seus trabalhos pelas curvas de período de indução em função da concentração de cada tipo de metal estudado. Portanto, como demonstrado por vários estudiosos do tema, o monitoramento de traços do metal é de enorme importância, a fim de evitar flutuações indesejáveis nas propriedades físicas do biodiesel durante o seu armazenamento e utilização.^{11,15,16,17,18}

A presença de certos metais acima dos limites contidos na especificação do biodiesel pode comprometer a qualidade do combustível como, por exemplo, induzir a formação de depósitos que danificam o sistema de injeção dos motores. Há apenas especificação para os metais alcalinos como sódio, potássio, magnésio e cálcio¹⁰, mas estudos^{11,14,15,16,17,18} sugerem que outros metais deveriam ser incluídos na norma devido ao efeito do deletério em processos de oxidação do biodiesel. A determinação de metais para o controle de qualidade do biodiesel é comumente realizada também nos coprodutos

como a glicerina e também na matéria-prima utilizada no processo de esterificação, afim de identificar a eficiência do processo de produção (lavagem para retirada dos metais) e também a contaminação das oleaginosas utilizadas na produção. Algumas revisões que descrevem o uso de métodos analíticos para análise de biodiesel podem ser encontradas na literatura científica ^{1,19,20,21}.

Na Tabela 1 é apresentado um resumo das técnicas analíticas (de forma geral) utilizadas para a determinação de metais em biodiesel. Os dados foram coletados no período de agosto de 2015 a junho de 2016. O período de busca foi restringido entre os anos de 2008 e 2016, utilizando o site de busca *Web of Science*TM.

Tabela 1: Resumo de algumas técnicas analíticas aplicadas à determinação de metais em biodiesel.

Técnica	Metal (is)	Ref.
Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite	Cd, Pb e Tl	22
	Cu, Pb, Ni e Cd	23
	Na, K, Ca e Mg	24
	Ni e Cd	25
	As	26
Espectrometria de emissão atômica de plasma indutivamente acoplado	Mn, V e So	27
	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, S e Zn	28
	Ca, P, Mg, K e Na	29
	Mn, V e So	27
	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, S e Zn	28
	Na, K, Ca, Mg, Pb e 20 metais pesados	30
	Ca, Cu, Fe, Mn, Mg, Na, K e Si	31
Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado	Ni, V e Mn	32
	Co, Cu, Fe, Mn, Ni e V	33
	Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti e Zn	34
Espectrometria de emissão atômica	Na e K	35
	Na	36
	Na, K e Ca	37
	Na, K, Cr e V	38

Espectrometria de absorção atômica	Na e K	39
	Si	40
	Al, Cu e Fe	41
	Cu e Fe	42
	Ca e Mg	43
	Ca e Mg	44
	Na, K, Ca e Mg	45
	Cu, Mn e Ni	46
	Al, Cd, Cu, Fe, Pb e Mn	47
	Na, K, Ca e Mg	45
	Cu, Mn e Ni	46
	Na, K, Mg e Ca	48
	Ca, Mg e Zn	49
	Ca e Mg	50
	Na e K	51
Espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio e injeção em fluxo	Hg	52
Voltametria de redissolução anódica por onda quadrada	Sn	53
	Zn, Cd, Pb, Cu e Hg	54
Voltametria de redissolução adsortiva	Mg	55
Potenciometria	K	56
Eletroforese capilar.	Na, K, Ca e Mg	57
	Ca, K, Mg e Na	58
Cromatografia iônica	Na, K, Ca e Mg	59

Fonte: Próprio autor.

1.2. ETANOL COMBUSTÍVEL

Em todo o mundo, um dos combustíveis para transporte mais amplamente utilizado é o etanol combustível e a produção deste biocombustível a partir de biomassa é uma forma de reduzir tanto o consumo de petróleo bruto quanto a poluição ambiental.^{1,60} O etanol combustível de primeira geração (obtido prioritariamente no Brasil a partir da fermentação do caldo da cana-de-açúcar) é, até o momento, o único combustível com viabilidade para atender à crescente demanda global por energia renovável de baixo custo e com baixo poder poluente da atmosfera. A redução (na ordem de 60%) das emissões gasosas da queima do etanol combustível em relação à gasolina viabiliza a sua produção e uso por todo o mundo. Como o etanol é produzido a partir de biomassa, a mesma pode absorver o gás carbônico emitido pela queima do biocombustível, reduzindo ainda mais os impactos ambientais gerados pela combustão do líquido.⁶¹

A maior parte do etanol combustível produzido no mundo deriva do suco de vegetais contendo sacarose como a cana de açúcar no Brasil e, amido de milho nos Estados Unidos.⁶² Entretanto, um grande esforço da comunidade científica é realizado para desenvolver novos processos de produção viáveis economicamente para o aproveitamento dos componentes lignocelulósicos da biomassa (recurso renovável mais abundante da Terra). No caso dos resíduos agrícolas, a palha, o bagaço de cana-de-açúcar, a palha do trigo e os resíduos de milho são os mais estudados. Já em relação aos resíduos florestais, destacam-se o pó e os restos de madeira, assim como o capim elefante a fim de produzir etanol de segunda geração.^{61,63}

O Proálcool, criado pelo Decreto-lei 76.593 de 14 de novembro de 1975⁶⁴, foi uma iniciativa do governo para combater os crescentes aumentos no preço do petróleo. O programa tinha como intuito garantir o suprimento de etanol no processo de substituição da gasolina e apoiar o desenvolvimento tecnológico na indústria sucroalcooleira. Até 1979, primeira fase do programa, a ênfase foi apoiar a produção de etanol anidro para ser misturado à gasolina. E na segunda fase, a fabricação de etanol hidratado foi objetivo para o uso direto em motores adaptados para o combustível.⁸

Perante as tendências do mercado de energia, a adaptação da indústria brasileira tornou-se necessária. As empresas automotivas do país passaram a fabricar em grande escala os carros bicomcombustíveis (modelos *flex-fuel*) o que garantiu o escoamento da produção de etanol e ampliaram a liberdade de escolha dos consumidores.⁸ No ano de 2002, foi apresentado o primeiro veículo com motor *flex-fuel*, modelo desenvolvido por empresas alemãs e produzido em série no Brasil a partir de março de 2003. Motores *flex-fuel* são movidos à gasolina, a etanol ou com uma mistura dos dois.⁶⁵

Atualmente, o etanol combustível é consumido no Brasil, como combustível para veículos automotores de duas formas: na sua forma hidratada (95% (v/v) de etanol) ou na sua forma anidra, adicionado à gasolina (25% (v/v) de etanol) para agir como um agente antidetonante.^{66,67}

Com o aumento na produção de biocombustíveis, as agências reguladoras responsáveis na produção e comercialização de combustíveis (incluindo biocombustíveis) requerem um rigoroso controle de qualidade.¹ Por exemplo, a presença de contaminantes inorgânicos no etanol combustível é associada com a formação de sais insolúveis e corrosão de componentes metálicos no interior do motor, o que resulta em entupimentos dos bicos e deterioração do combustível.⁶⁸

1.2.1. CONTROLE DE QUALIDADE: TEOR DE METAIS EM ETANOL COMBUSTÍVEL

Os principais produtores de etanol combustível têm importantes agências reguladoras que são responsáveis por aplicar as especificações técnicas e normas oficiais para controle de qualidade do combustível. No Brasil, a agência responsável pela fiscalização e regras de comercialização de todos os combustíveis é a ANP. As resoluções da ANP estabelecem critérios para o controle de qualidade usando Normas Técnicas Brasileiras (NBR), que são definidos pela ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

Um controle de qualidade eficiente é altamente dependente de métodos analíticos confiáveis. Portanto, o controle de qualidade de biocombustíveis na forma líquida acarreta em vários desafios à química analítica, especialmente em contaminantes que estão em menor quantidade, exigindo métodos analíticos com alta detectabilidade. Apesar das baixas concentrações, contaminantes orgânicos e inorgânicos presentes em biocombustíveis como o etanol, têm um efeito categórico na qualidade do produto final.¹ Contaminantes inorgânicos podem comprometer o desempenho e a integridade dos motores dos automóveis. Dentre os efeitos indesejáveis destaca-se a indução na formação de sais e óxidos insolúveis, na corrosão, na formação de gomas e aceleraram o processo de deterioração do biocombustível. Alguns métodos analíticos estão sendo desenvolvidos para a determinação de contaminantes metálicos não regulamentados que possam vir a ser um problema futuro para a qualidade e comercialização do etanol combustível. Alguns

trabalhos de revisão descrevendo o uso de métodos analíticos para análise de etanol combustível podem ser encontradas na literatura científica.^{1,69}

Etanol combustível pode conter contaminantes inorgânicos, tais como zinco, cádmio, cobre, chumbo, níquel e ânions como cloreto, sulfato e nitrato. O processo de produção, transporte e armazenamento dos biocombustíveis são as prováveis fontes de contaminação com metais traço.^{17,70}

A presença de metais em baixas concentrações em biodiesel induz e acelera os processos oxidativos, resultando na formação de gomas. Entretanto, um efeito semelhante é verificado na gasolina, especialmente quando os metais estão presentes no etanol anidro, que é misturado com a gasolina para produzir gasolina com álcool (E-25 no Brasil e E5-E15 nos EUA e Europa, na qual E-25 corresponde a 25% v/v de etanol anidro).^{17,71,72}

Traço de metais em combustíveis pode ser um indicativo de corrosão metálica durante um processo de armazenamento e a presença deles pode acelerar os processos oxidativos.^{17,71,72} Atenção especial é dada ao cobre, que é o metal mais deletério para catalisar reações de oxidação nos combustíveis; por esta razão, o conteúdo deste metal foi controlado pelas agências reguladoras.^{3,8,66} O teor máximo de cobre permitido em etanol combustível segundo a ANP é 0,07 mg kg⁻¹. De acordo com a NBR 11331 (que consta no site da ANP), recomenda-se o uso da espectrofotometria de absorção atômica para a determinação tanto de cobre como de ferro em amostras do biocombustível. Segundo a agência reguladora, a determinação do teor de cobre para a certificação do etanol anidro combustível somente será necessária quando o produto for transportado ou produzido em plantas que possuem equipamentos ou linhas de cobre, bem como ligas que contenham este metal.^{8,73}

No entanto, efeitos semelhantes podem ocorrer devido à presença de outros metais, tais como o zinco, cádmio, chumbo, mercúrio e outros, sendo importante considerar o efeito deletério de metais presentes em etanol hidratado, já que, este combustível é comumente misturado à gasolina devido ao uso popular de motores *flex-fuel* no Brasil. A presença destes contaminantes inorgânicos também podem levar à corrosão e depósito adicional em diferentes partes do motor, o que perturba o desempenho do mesmo.

Metais de alta toxicidade tais como chumbo e mercúrio podem ser incorporados ao etanol combustível devido ao intenso uso de fertilizantes, vinhaça e lodo do esgoto no cultivo de cana e do milho amplamente utilizados para a produção de biocombustíveis.^{74,75} Portanto, métodos analíticos eficientes para identificar e quantificar

metais em etanol combustível são necessários. A portabilidade de métodos analíticos também é um fator considerável em análises para o controle de qualidade de combustíveis, tendo em conta a necessidade de aplicar estas metodologias em campo (postos de combustível, por exemplo).

Algumas metodologias eletroanalíticas já foram desenvolvidas visando à determinação de metais em etanol combustível. Na Tabela 2 é apresentado um resumo das técnicas eletroanalíticas utilizadas e com dados coletados sem restrição do período de busca, utilizando o site de busca *Web of Science*TM no período de agosto de 2015 a junho de 2016.

Tabela 2: Resumo de algumas técnicas eletroanalíticas aplicadas à determinação de metais em etanol combustível.

Técnica	Eletrodo	Metal (is)	Ref.
Potenciometria	Eletrodo de membrana para cobre	Cu	76
	Eletrodo íon-seletivo para cádmio	Cd	77
Voltametria com varredura linear de Redissolução	Eletrodo de vidro modificado com cerâmica de carbono	Pb	78
	Microeletrodo de ouro	Cu	79
	MFE	Zn	80
Voltametria de onda quadrada adsortiva de redissolução	CPE modificado com 1,10 fenantroline/nafion	Fe(III)	81
Voltametria de onda quadrada com redissolução anódica	CPE modificado com sílica mesoporosa	Cd	82
	Eletrodo de ouro	Cu e Pb	73
	BFE	Sn(IV)	53
	ENC / nafion	Fe(III) e Cu	83
	SPGE	Pb, Cu e Hg	66
Voltametria de onda quadrada com	GCE	Mn (II)	84

redissolução catódica				
Voltametria de pulso diferencial com redissolução anódica	CPE modificado com sílica 2-aminotiazole organofuncionalizada	Cu	85	
	Eletrodo de compósito poliuretana-grafite tiol- organofuncionalizada	Cu	86	
	MFE	Zn, Cu, Pb e Cd	87	
	CPE modificado com resina de troca iônica Amberlite IR 120	Pb	88	
	CNPE modificado com resina sintética de troca iônica	Pb e Cd	89	
	Eletrodo impresso modificado com compósito de grafite-poliuretana organofuncionalizada	Zn, Pb, Cu e Hg	90	
	CNE / nafion	Fe(III) e Cu	83	
	Voltametria de pulso diferencial adsortiva com redissolução	CPE modificado com sílica 2-aminotiazole organofuncionalizada	Ni	91
		CPE modificado com dimetiglixima	Ni	92
		Eletrodo Gotejante de Mercúrio	Cu, Pb, Cd, Ni, Co e Zn	67

CPE: do inglês, *Carbon Paste Electrode*; MFE: do inglês, *Mercury-Film Electrode*; BFE: do inglês, *Bismuth-Film Electrode*; GCE: do inglês, *Glassy Carbon Electrode*; CNPE: do inglês, *Carbon Nanotube Paste Electrode*; CNE: do inglês, *Carbon Nanotube Electrode*; SPGE: do inglês, *Screen-Printed Gold Electrode*.

Fonte: Próprio autor.

No que diz respeito à determinação de zinco em amostras de etanol combustível tem sido relatada na literatura utilizando diferentes técnicas tais como a fluorescência de

raios-X com energia dispersiva depois de uma pré-concentração em papel cromatográfico⁹³ e de espectrometria de absorção atômica de chama utilizando o sistema de pré-concentração em linha.⁹⁴

Um método eletroquímico para a determinação de zinco em etanol combustível foi descrito em um trabalho anterior usando voltametria de redissolução anódica e eletrodo de carbono vítreo com filme de mercúrio.⁸⁷ No entanto, a utilização de eletrodos de carbono com filme de mercúrio tem sido evitada devido à alta toxicidade do mercúrio.

Alguns trabalhos encontrados na literatura apresentaram a detecção de zinco em uma janela de potencial negativa utilizando eletrodo de ouro.^{95,96,97} Garnier e colaboradores⁹⁵ empregaram um microeletrodo de ouro com 25 μm de diâmetro para detecção de zinco; no entanto, uma baixa resolução dos picos foi observada para concentrações abaixo de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.⁹⁵ Já Gibbon-Walsh e coautores⁹⁶ demonstraram um baixo limite de detecção para a determinação de zinco ($\sim 20 \text{ ng L}^{-1}$) usando um microeletrodo de ouro de 10 μm e 300 s como tempo de deposição e sistema de vibração do eletrodo para aumento de transporte de massa do analito durante a deposição. Wang e colaboradores⁹⁷ empregaram para determinações de Cu, Pb e Zn um microeletrodo de ouro com uma fina película de nanopartículas de ouro depositados sob uma superfície de estanho (*Sn/GNPs/gold microelectrode*). Baixos limites de detecção foram encontrados para determinação dos três metais (2 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Cu, 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ for Pb and $\mu\text{g L}^{-1}$ for Zn).

1.3. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS ENVOLVENDO REDISSOLUÇÃO

Barker e Jenkins⁹⁸ descobriram em 1952 a possibilidade de pré-concentrar espécies eletroativas na gota de um eletrodo de mercúrio, conferindo como ótimo resultado, um aumento significativo de detectabilidade. Assim, a polarografia ganhou novos impulsos como técnica analítica, tornando-se mais popular em todo o mundo.⁹⁸ Novos estudos foram conduzidos e o processo de pré-concentração pôde ser ampliado para outros tipos de eletrodos, fornecendo ganhos de detectabilidade na ordem de 100 a 1000 vezes. A redução dos limites de detecção (em 2 a 3 ordens de magnitude) permitiu o alcance de concentrações abaixo de $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.⁹⁹

A característica mais marcante das técnicas de redissolução é que a reoxidação dos metais concentrados no eletrodo de trabalho durante a etapa de eletrodeposição reduz substancialmente o limite de detecção. Sendo assim, a detectabilidade pode ser ajustada

para as necessidades específicas escolhendo um tempo de eletrodeposição adequado para cada tipo de análise que se almeja.

Métodos eletroanalíticos, em especial a análise por redissolução (*Stripping Analysis*), apresentam elevada seletividade e detectabilidade, sendo muito empregados para a análise de elementos que apresentam baixas concentrações. O desenvolvimento de instrumentação portátil, simples e de baixo custo aliada às características como alta detectabilidade e seletividade das técnicas de redissolução ofereceram popularidade à estes métodos em química analítica.¹⁰⁰ Brett¹⁰¹ relata em sua publicação que o grande desafio da eletroanalítica é a miniaturização dos sistemas e a realização de análises em tempo real.

As análises por redissolução envolvem primeiramente uma etapa de pré-concentração, em que o analito é eletrodepositado na superfície do eletrodo de trabalho ou pré-concentrado quimicamente sem a necessidade da aplicação de um pulso de potencial. Em seguida o analito é redissolvido do eletrodo, sendo registrado um sinal proporcional à concentração do analito. Há basicamente dois tipos de métodos de análise por redissolução: a análise por redissolução potenciométrica e a voltamétrica.¹⁰²

A análise potenciométrica por redissolução é baseada na medida do potencial da célula eletroquímica na ausência de correntes apreciáveis.¹⁰³ Nas técnicas potenciométricas de redissolução, as espécies são redissolvidas quimicamente, por ação de um agente oxidante químico em solução ou pela aplicação de uma corrente de redissolução constante. A concentração do analito na solução-amostra, nestes casos, é proporcional ao tempo de redissolução.¹⁰⁴

Na voltametria de redissolução as espécies são redissolvidas durante a varredura de potencial, podendo ser anódica ou catódica. Quando o potencial de oxidação ou redução é alcançado, a maior parte das espécies são redissolvidas do eletrodo e como registro do resultado, um pico de corrente é gerado (de oxidação ou de redução) sendo a concentração do analito em solução proporcional à corrente. O processo de varredura de potencial pode ser linear (rampa linear de potencial em função do tempo), conhecida como voltametria linear. No entanto, formas de varredura de potencial em que a corrente capacitiva é minimizada, de tal forma que a corrente faradaica (processo redox) é medida com mínima influência da corrente capacitiva (carregamento do eletrodo, corrente de fundo), foram desenvolvidas com intuito de tornar os métodos voltamétricos mais sensíveis. Dentro deste contexto, destacam-se os modos de varredura voltamétricos de pulso normal, pulso diferencial e onda-quadrada.¹⁰²

Técnicas eletroquímicas que preencham características desejáveis (baixo custo, alta sensibilidade e seletividade, por exemplo) para o controle de qualidade de biocombustíveis em relação ao teor de contaminantes inorgânicos estão sendo amplamente estudadas. A voltametria de redissolução é a técnica mais popular para a determinação de vários metais traço em amostras incluindo as de combustíveis tais como o óleo diesel¹⁰⁵, biodiesel^{106,107} e etanol combustível^{66,73,81,92}.

1.4. ELETRODOS DE TRABALHO COMUMENTE EMPREGADOS NA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM BIOCOMBUSTÍVES

Dentre as técnicas eletroanalíticas, as determinações voltamétricas de redissolução de íons metálicos estão sendo vastamente estudadas em amostras de biocombustíveis tais como etanol combustível e biodiesel, utilizando muitos tipos de eletrodos de trabalho, tais como: ouro⁷³ e microeletrodo de ouro⁷⁹, filme de mercúrio^{54,80,87}, filme de bismuto⁵³ e eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados^{81,85,86,88,91,92}.

1.4.1. ELETRODOS IMPRESSOS (SPE's – DO INGLÊS, SCREEN-PRINTED ELECTRODE)

Desde os anos de 1990, a tecnologia de impressão de tela (adaptado na indústria da microeletrônica) forneceu a produção de um grande volume de sensores de uso único, extremamente baratos, e ainda reprodutíveis e confiáveis; tornando-se altamente promissor no monitoramento em campo.¹⁰⁸ Os sensores eletroanalíticos utilizando eletrodos impressos (SPE's) são de baixo custo (produção em larga escala), descartáveis, facilmente operados por mini-potenciostatos portáteis e fornecem determinações sensíveis e precisas para uma grande variedade de analitos, como apresentado em revisões publicadas recentemente.^{109,110} Configuram-se como sensores de alta simplicidade e robustez, devido à possibilidade de inserção de todos os três eletrodos (trabalho, auxiliar e pseudo-referência) em uma única cerâmica planar ou suporte plástico.^{108,111}

Todas as particularidades associadas aos SPE's proporcionam oportunidade empolgante e viável na realização de análises biomédicas, ambientais e industriais fora de laboratórios. Em particular, os SPE's podem combinar a portabilidade e facilidade de utilização com as técnicas de produção, as quais são simples, barata e com elevado grau

de precisão. O custo modesto destes eletrodos reforçou ainda mais sua conveniência, pois permite que os dispositivos se tornem disponíveis e, gerem resultados similares aos obtidos por técnicas mais caras realizadas em laboratórios estruturados.^{112,113}

O uso de SPE's para a determinação eletroanalítica de contaminantes inorgânicos tem sido amplamente relatado na literatura recente em amostras de água de torneira, do mar e de rios^{114,115,116,117,118}, ervas¹¹⁹, água de canal¹²⁰ e de material particulado atmosférico¹²¹. Entretanto, poucas aplicações utilizando SPE's para a determinação de metais em amostras de biocombustíveis são relatadas. Almeida e colaboradores⁶⁶, desenvolveram uma metodologia eletroanalítica envolvendo a voltametria de redissolução anódica e o uso de eletrodos impressos de ouro para a análise de etanol combustível. Os autores avaliaram a eficiência do método para a quantificação de chumbo, cobre e mercúrio, o que se mostrou preciso, exato, sensível e com alta frequência analítica. Foram obtidos resultados de LD menores que $2 \mu\text{g L}^{-1}$ para 240 s de deposição, faixa linear entre 5 e $300 \mu\text{g L}^{-1}$ e valores de recuperação entre 96 e 104%.

Em 2014, Saciloto e demais colaboradores⁹⁰ desenvolveram um dispositivo contendo um eletrodo impresso (eletrodos de trabalho, pseudo-referência e auxiliar na mesma superfície) para a determinação simultânea de contaminantes inorgânicos (zinco, chumbo, cobre e mercúrio) em etanol combustível. O eletrodo de trabalho de grafite (auxiliar em grafite e pseudo-referência em prata) foi modificado com uma tinta contendo sílica SBA-15 organofuncionalizada com 2-benzotiazol-2-tiol (EIGPU-MO), antes do processo de cura, a fim de aumentar a sensibilidade. O desempenho do eletrodo modificado foi comparado com a de eletrodos sem modificação e modificados. Após a pré-concentração utilizando DPASV, com os quatro sinais bem resolvidos, foi possível a determinação simultânea dos analitos.

Freitas e colaboradores⁵⁴ avaliaram o emprego de eletrodos impressos de ouro de baixa temperatura de cura (SPGE-LT, do inglês, *Screen Printed Gold Electrode Low Temperature*) na determinação de mercúrio (II) em amostras de biodiesel após um pré-tratamento com HCl e H₂O₂ em ultrassom. O tratamento da amostra foi necessário, conforme descrito pelos autores, para a destruição da matéria orgânica proveniente da matriz e liberação do metal. A técnica eletroquímica utilizada foi SWASV associada ao sistema BIA, as medidas foram realizadas na presença de oxigênio dissolvido e a temperatura ambiente. Estudos anteriores reportados por Almeida e autores⁶⁶ relataram a maior área ativa (alta rugosidade) do SPGE-LT quando comparados aos eletrodos impressos de alta temperatura de cura (SPGE-HT, do inglês, *Screen Printed Gold*

Electrode High Temperature), o que pode ter proporcionado melhores resultados obtidos para a determinação de metais usando o SPGE-LT⁶⁶.

Como visto nesta seção, o uso dos SPE's na eletroanálise de combustíveis vem crescendo gradativamente. Dentre os principais motivos para o sucesso destes eletrodos, pode-se citar a facilidade de utilização, volume reduzido de amostra necessário para análise e o fato de serem descartáveis. Novos rumos nesta área envolvem o uso de uma gama de modificadores químicos para melhorar os processos de transferência eletrônica tanto em determinações de compostos orgânicos quanto inorgânicos.¹¹⁰

1.5. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA (BIA – DO INGLÊS – BATCH INJECTION ANALYSIS)

A realização de análises em campo (*in situ*) se tornou essencial em química analítica devido à crescente demanda por testes rápidos e seguros de um grande número de amostras e, em algumas vezes, a necessidade de resultados das análises em tempo real. A diminuição dos custos e dos problemas associados ao transporte da amostra para o laboratório é também um grande desafio no campo das análises. Portanto, o desenvolvimento de sistemas automatizados, com alta frequência analítica e baixo custo de análise, aliados a ótima exatidão e precisão cresceu juntamente à demanda por metodologias. Análises por Injeção em Fluxo (FIA, do inglês, *Flow Injection Analysis*) combinadas com detectores eletroquímicos oferecem alta velocidade, sensibilidade, seletividade, exatidão e precisão, e assim tem sido altamente empregada no desenvolvimento de métodos analíticos. Em FIA, a amostra é injetada em intervalos regulares, e transportada ao detector eletroquímico por um fluxo contínuo de líquido transportador.^{122,123}

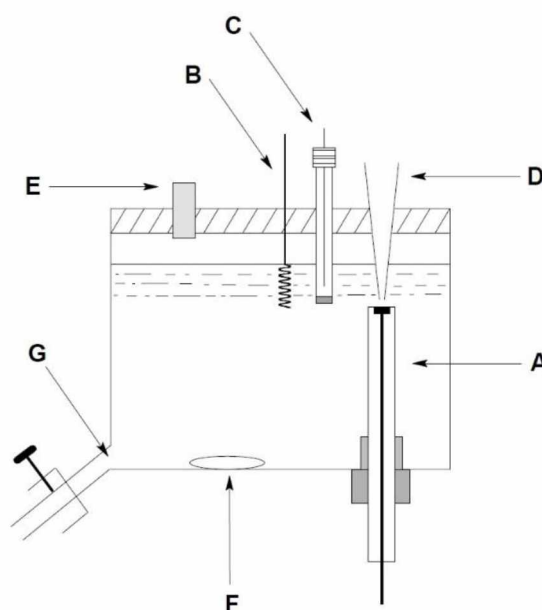
Em 1991, Wang e Taha¹²⁴ introduziram uma técnica inovadora baseada na análise por injeção em batelada (BIA, do inglês, *Batch Injection Analysis*), a qual representa uma maneira alternativa de realizar testes rápidos em substituição ao FIA. A técnica envolve a injeção de uma pequena quantidade de amostra por meio de uma micropipeta diretamente sobre a superfície do eletrodo de trabalho (configuração *wall-jet*), o qual é imerso em uma grande quantidade de solução eletrólito (branco).^{124,125}

Algumas desvantagens associadas à utilização de bombas e válvulas do sistema FIA (especialmente quando solventes orgânicos são usados como transportador) e o resíduo gerado pelas soluções transportadoras são eliminados/minimizados com o uso do

sistema BIA.¹²⁵ No entanto, apesar da simplicidade em comparação ao sistema FIA, a utilização de BIA com detecção eletroquímica continua pouco comum, e uma possível explicação seria a dificuldade em incluir etapas de preparo de amostras especialmente para matrizes complexas.^{123,125,126}

A Figura 2 ilustra um diagrama desenvolvido por Quintino e Angnes¹²⁵ de uma das primeiras células eletroquímicas desenvolvidas para a aplicação do sistema BIA.

Figura 2: Diagrama 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.



Fonte: Quintino e Angnes.¹²⁵

Em uma célula do tipo BIA, o eletrodo de trabalho (ET) é posicionado no sentido oposto ao da injeção como ilustrado na Figura 2; esta é uma posição invertida em relação à normalmente utilizada em células eletroquímicas. A ponteira da micropipeta é acomodada em um orifício (localizado na tampa da célula) posicionado na direção exatamente oposta (frontal) ao ET, de modo que todas as injeções sejam feitas com distâncias idênticas entre a ponteira e a superfície do ET (configuração *wall-jet*). O ET pode ser movido para cima ou para baixo de modo a ajustar a melhor distância entre a superfície do eletrodo e a ponteira da micropipeta. Em outros dois orifícios localizados na tampa superior da célula, são fixados o eletrodo de referência (ER) e o eletrodo auxiliar (EA). Se necessário, pode ser inserida uma barra magnética para acelerar o transporte de

massa no interior da célula. Por fim, é adicionada a solução do eletrólito suporte em volume suficiente para que os três eletrodos tenham contato elétrico entre si.¹²⁵

No procedimento de injeção das soluções e amostras de análise, pode ser utilizada tanto uma micropipeta convencional quanto uma micropipeta eletrônica.¹²⁷ Entretanto, a micropipeta eletrônica fornece maior precisão, pois as condições (volume e, principalmente velocidade de injeção) são precisamente reguladas eletronicamente. Logo, operadores com pouca ou nenhuma experiência podem realizar as injeções ao sistema de forma reprodutível, tornando as metodologias analíticas mais robustas.

Os bons resultados obtidos utilizando o sistema BIA têm sido atribuídos aos fatores como o princípio hidrodinâmico da célula *wall-jet* e a alta diluição da amostra na solução inerte contida no interior da célula eletroquímica. As primeiras células desenvolvidas para o uso de BIA continham volumes relativamente grandes, de 250 a 700 mL, garantindo assim a alta diluição das amostras (volumes na ordem de microlitros). Entretanto, estudos têm demonstrado que o volume da célula pode ser reduzido (120 mL), sem comprometer o sucesso da análise, já que o efeito de memória devido ao acúmulo das espécies de interesse não é observado.¹²⁵

1.5.1. SISTEMA BIA ACOPLADO COM SISTEMAS DE REDISSOLUÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS

Em análises por voltametria de redissolução anódica (ASV, do inglês, *Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*) associadas ao sistema BIA (BIA-ASV), o acúmulo de analitos na superfície do eletrodo ocorre como resultado da eletrodeposição ou da adsorção durante a etapa de injeção, e, em seguida, a varredura do potencial é aplicada na direção positiva ou negativa (de acordo com o analito). Assim, uma medida de BIA-ASV não ocorre unicamente em fluxo, uma vez que apenas o acúmulo de analito na superfície do eletrodo é efetuado em condições de fluxo, enquanto que a etapa de dissolução ocorre quando a solução está em repouso¹²⁶.

A associação do BIA com técnicas eletroquímicas fornece precisão adicional e rapidez para o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos. Além disso, o sistema BIA elimina a necessidade de uma agitação em análises de redissolução, já que, a etapa de deposição ocorre simultaneamente com a injeção da amostra pela micropipeta, e então facilita o desenvolvimento de métodos analíticos portáteis. A associação do BIA com

ASV (BIA-ASV) para determinação de metais usando eletrodo de filme de mercúrio (MFE, do inglês, *Mercury Film Electrode*) já foi relatada na literatura para análises de soluções aquosas.^{126,127,128,129,130}

O trabalho pioneiro desenvolvido por Wang e colaboradores (1992) descreve a associação da ASV juntamente ao sistema BIA utilizando uma micropipeta convencional. No estudo, utilizando como eletrodo de trabalho um MFE e a ASV, injeções de 100 µL foram realizadas para avaliar o comportamento de cobre, chumbo, cádmio e zinco. A metodologia proposta pelos autores foi avaliada para determinação de chumbo em água potável.⁹⁷

Entretanto, micropipetas eletrônicas também foram usadas com o mesmo propósito (quantificação de metais utilizando o sistema BIA).^{126,128,129,130} O uso de uma micropipeta eletrônica programável para análises de redissolução foi investigado por Brett e colaboradores.¹²⁹ Os estudos foram conduzidos utilizando como substrato um eletrodo de carbono vítreo (ECV) modificado com MFE onde diferentes íons metálicos foram estudados, com ênfase no chumbo e no cádmio. A técnica utilizada pelos autores foi a SW-ASV associada ao sistema BIA.¹²⁹ Na determinação de íons metálicos (traços de chumbo e cádmio) utilizando um MFE recoberto com Nafion, Brett e colaboradores¹²⁸ desenvolveram um sistema acoplando BIA e ASV para quantificação dos contaminantes em amostras reais de cunho ambiental. Os autores ressaltam a grande eficiência da técnica para a determinação de metais em matrizes complexas com o uso de pequenas quantidades de amostra.

Trojanowicz e colaboradores¹²⁶ desenvolveram um sistema acoplando BIA à SWASV para a determinação de chumbo e cádmio em amostras de águas residuais de duas indústrias. Para tal propósito, utilizaram como eletrodo de trabalho um ECV modificado com um fino filme de mercúrio depositado (MFE). Entretanto, diferentemente dos autores mencionados anteriormente, os autores desenvolveram um sistema de pré-tratamento *on-line* da amostra. Em uma ponteira convencional de 200µL inoculou-se uma pequena quantidade de lã de vidro e, em seguida, a ponteira foi preenchida com água desionizada e 25 mg de uma resina (Chelex-100). Como relatado pelos autores, a reação de complexação com o uso do adsorvente quelante reduziu o limite de detecção e os sinais de fundo diminuindo alguns efeitos de matriz.

Embora seja menos utilizado do que o FIA, o sistema BIA oferece uma melhoria notável para análises ASV para traços de metal. Uma gama de aplicações e potencialidades para os sistemas BIA-SWASV pode ser observada, devido principalmente às propriedades

inerentes do sistema como portabilidade, possibilidade de análises em campo, alta frequência analítica e de amostragem, repetitividade e possibilidade de automação.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é avaliar as reais potencialidades da análise por injeção em batelada (BIA) associada aos métodos eletroquímicos de redissolução visando à determinação de metais em biocombustíveis.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar parâmetros do sistema BIA (velocidade de injeção e volume injetado) em função do tempo de pré-concentração dos metais, com intuito de buscar melhor detectabilidade;
- Estudar os parâmetros de voltametria por onda quadrada (frequência, amplitude e degrau de potencial) visando maior seletividade e sensibilidade;
- Avaliar a necessidade do pré-tratamento das amostras de etanol combustível com HNO_3 1% (v/v);
- Checar a eficiência da digestão ácida por banho ultrassônico de amostras de biodiesel de soja, canola e algodão;
- Estudar a eficiência e as desvantagens do uso do eletrodo de filme de mercúrio (MFE) associado ao sistema BIA visando à determinação de cádmio, chumbo, cobre e zinco em etanol combustível;
- Avaliar a eficiência de um macroeletrodo de ouro na determinação voltamétrica de zinco em amostras de etanol combustível;
- Avaliar a possibilidade de formação de intermetálicos nas medidas conduzidas para análises simultâneas dos contaminantes inorgânicos;
- Comparar a eficiência da voltametria de redissolução anódica nos sistemas convencional e BIA em termos de praticidade, precisão e exatidão;
- Avaliar a interferência analítica de metais como cobre, chumbo, arsênio, manganês e outros, na determinação de zinco em etanol combustível;
- Desenvolver um sistema eletroquímico acoplado eletrodo impresso de ouro e BIA para a determinação de metais por voltametria de redissolução anódica;

- Demonstrar um novo sistema BIA para o uso de eletrodos impressos, desenvolvido pelo grupo de pesquisa NUPE, juntamente à empresa espanhola Dropsens[®];
- Desenvolver uma metodologia analítica com características portáteis para a determinação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel utilizando a associação do eletrodo impresso de ouro e o sistema BIA;
- Comparar o tempo de vida útil de um eletrodo impresso de ouro para a determinação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel digeridas em meios altamente ácidos e oxidantes.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Água desionizada de alta pureza ($R \geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtida de um sistema de purificação de água Milli Q (Millipore, Bedford, MA, USA) foi usada para o preparo de todas as soluções aquosas.

A Tabela 3 apresenta as especificações de todos os reagentes utilizados no trabalho com a identificação do teor, a empresa de onde o mesmo foi adquirido e a cidade onde se localiza o laboratório fornecedor.

Tabela 3: Especificações dos reagentes utilizados no preparo de soluções e amostras nos experimentos realizados ao longo do trabalho.

Reagente	Teor (Grau)	Empresa	Origem
Ácido acético	99,7% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro (Brasil)
Ácido clorídrico	37,0% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro (Brasil)
Ácido nítrico	64,0% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro (Brasil)
Ácido fosfórico	85,0% (v/v)	Synth	Diadema (Brasil)
Ácido bórico	99,5% (v/v)	Sigma - Aldrich	St. Louis (EUA)
Acetato de sódio	98,0% (m/v)	Synth	Diadema (Brasil)
Etanol	99,5% (v/v)	Synth	Diadema (Brasil)
Peróxido de hidrogênio	30,0% (m/v)	Química Moderna	Barueri (Brasil)
Hidróxido de sódio	97,0% (m/m)	Dinâmica	Diadema (Brasil)
Azul de metileno	PA	Synth	Diadema (Brasil)

Fonte: Próprio autor.

Todos os reagentes utilizados no desenvolvimento dos trabalhos apresentados nesta tese foram usados sem procedimento prévio de purificação (grau analítico). Não houve necessidade de purificação dos ácidos, pois, foram diluídos e possíveis contaminantes ficaram com que a concentração ficasse muito abaixo dos limites de detecção dos métodos propostos.

As soluções padrão aquosas contendo HNO_3 1% (v/v) dos metais (utilizado em espectrofotometria de absorção atômica) com concentração de 1000 mg L^{-1} foram

comprados da empresa Quimlab situada em Jacareí-SP, Brasil. Foram utilizadas soluções de zinco - Zn(II), arsênio - As(III), cádmio - Cd(II), cromo - Cr(III), cobre - Cu(II), manganês - Mn(II), níquel - Ni(II), chumbo - Pb(II) e mercúrio - Hg(II).

Para as duas primeiras partes do trabalho (estudos para quantificação de cádmio, cobre e chumbo em etanol combustível e zinco também na mesma amostra), foram preparadas soluções padrão hidroetanólicas contendo 95% (v/v) de etanol (grau analítico) e 5% (v/v) de solução aquosa contendo diferentes concentrações dos metais em análise (composição percentual similar ao etanol combustível disponível comercialmente). Estas soluções foram utilizadas para as otimizações iniciais dos experimentos, calibrações e estudos de interferência. Todas as soluções mencionadas anteriormente foram acidificadas com 1% (v/v) de HNO₃.

Artigos anteriores descreveram o uso de tampão acetato como eletrólito suporte para determinação de metais em um MFE usando BIA-ASV.^{126,127,128,129,130} Portanto, o eletrólito utilizado nos experimentos para a determinação de cádmio, cobre e chumbo em etanol combustível utilizando eletrodo de mercúrio foi o tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ com pH = 4,5. Nos estudos visando a determinação de zinco também em etanol combustível, o eletrólito utilizado foi o tampão Britton-Robinson (BR) 0,04 mol L⁻¹ preparado pela mistura entre ácido acético glacial, ácido bórico e ácido fosfórico e o pH ajustado para o valor de interesse usando hidróxido de sódio. Nos experimentos conduzidos com as amostras de biodiesel, uma solução de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ foi usada como eletrólito suporte para a quantificação dos metais (chumbo, cobre e mercúrio).

As soluções padrão de trabalho foram preparadas apenas pela diluição apropriada da solução estoque e acidificada com 1% (v/v) de HNO₃ e depois em eletrólito suporte ou em uma solução composta de HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂ (composição semelhante à solução resultante do procedimento de digestão das amostras de biodiesel), conforme diferentes etapas dos estudos conduzidos.

3.2. PREPARO DAS AMOSTRAS DE ETANOL COMBUSTÍVEL E BIODIESEL

As amostras de etanol combustível foram compradas de forma aleatória de indústrias e de diferentes postos de combustível na cidade de Uberlândia-MG. As análises foram conduzidas utilizando as amostras sem tratamento prévio (*in natura*) e após acidificação com 1% (v/v) de HNO₃.

As amostras de biodiesel foram produzidas de diferentes fontes oleaginosas como soja, canola e algodão, sintetizadas no laboratório de produção e análise de biodiesel do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (IQ-UFU), Brasil. A síntese do biocombustível foi realizada a partir de uma reação de transesterificação metílica usando catalisador alcalino.^{131,132} Os óleos vegetais refinados utilizados nas reações foram obtidos em supermercados locais. As amostras de biodiesel sintetizadas foram estocadas em frascos âmbar à temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ e envolvidos com papel alumínio com intuito de preservar as características físico-químicas da amostra.

Todos os materiais de vidro e plástico usados no preparo, estocagem e digestão das amostras passaram por um processo de descontaminação utilizando um banho ácido com HNO_3 10% (v/v) por 24 h. As amostras digeridas foram estocadas em frascos de polietileno (tubos Falcon) em temperatura ambiente.

O procedimento de digestão assistido por ultrassom das amostras de biodiesel foi realizado com uma massa de aproximadamente 50 mg de amostra pura (soja, canola e algodão). Os experimentos foram efetivados usando 3,0 mL de HCl concentrado e 4,5 mL de H_2O_2 30% (v/v) utilizando um sistema de exaustão (capela) sob condições em que os tubos de vidro permaneciam fechados, e na tampa um pequeno orifício de aproximadamente 1 mm foi feito para liberação de gás e consequente redução da pressão no interior dos frascos.⁵⁴ Posteriormente, as soluções contendo biodiesel digerido e os metais foram diluídas 100x em eletrólito antes de serem submetidas às determinações.

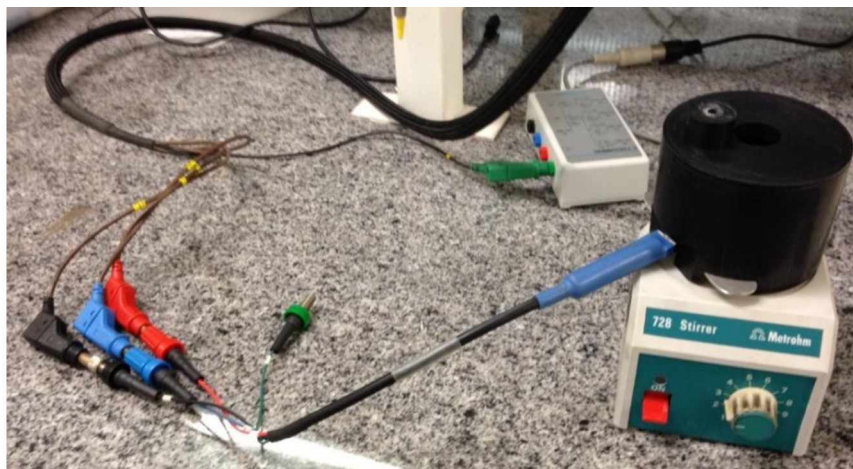
3.3. INSTRUMENTAÇÃO, ELETRODOS E CÉLULAS ELETROQUÍMICAS

3.3.1. INSTRUMENTAÇÃO

Os registros eletroquímicos foram conduzidos usando um potenciostato μ -Autolab tipo III (EcoChemie, Utrecht, The Netherlands), interfaceado à um microcomputador. Para o controle do equipamento foram utilizados os softwares GPES (versão 4.9) e NOVA (versão 1.11.12).

Na última parte da tese (sistema BIA acoplado aos eletrodos impressos de ouro – SPGE), um cabo conector (DRP-CAC) adquirido da Dropsens® foi necessário para efetivar a interface entre o potenciostato e o SPE. A Figura 3 ilustra o sistema mencionado anteriormente, acoplado cabo conector, célula BIA e sistema de agitação magnética.

Figura 3: Imagem do cabo conector, célula BIA e agitador magnético utilizados nos experimentos conduzidos utilizando SPE's.



Fonte: Próprio autor.

Para o preparo das amostras de biodiesel, um banho ultrassônico (Unique UltraCleaner 1640A), com capacidade interna de 3,8 L, frequência de 40 kHz e potência de 120 W (São Paulo, Brasil).

Como descrito na literatura por Quintino e Angnes (2004), experimentos utilizando sistemas BIA geralmente não requerem agitação.¹²⁵ Entretanto, a passivação gradual ou envenenamento do eletrodo de trabalho foi notado em trabalhos descritos em duas seções desta tese e, para solucionar o problema, dois diferentes tipos de agitação foram utilizados na etapa do condicionamento das análises por redissolução.

Nos estudos para a determinação de zinco em etanol combustível, um micromotor-DC (12V) como ilustrado na Figura 4 foi empregado para promover a agitação da solução contida no interior da célula BIA. Este agitador pode funcionar com pilhas ou bateria caso necessário, não havendo obrigatoriedade de energia elétrica no local da análise (características portáteis). Ele foi firmemente fixado na parte superior da célula BIA juntamente aos eletrodos de referência e auxiliar. A velocidade de agitação pode ser alterada a partir de variações na voltagem da bateria. No caso desta seção do trabalho, foi aplicado de forma controlada 4,5 V no micromotor-DC o que gerou agitação de 280 rpm (condições otimizadas).¹³³

Figura 4: Imagem do Micro motor-DC (12 V) utilizado nos experimentos conduzidos visando à determinação de zinco em amostras de etanol combustível.



Fonte: Próprio autor.

Nos testes que tiveram o intuito de avaliar o teor de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel, efeitos adsorptivos dos íons metálicos no eletrodo de trabalho também foram notados. O problema foi contornado com o uso do módulo de agitação controlado por software (disponível no potenciostato modelo Metrohm) utilizando uma pequena barra magnética a 1250 rpm na etapa de condicionamento da análise. Nos trabalhos desenvolvidos utilizando o MFE para determinação de cádmio, chumbo e cobre não se observou a necessidade de sistemas de agitação na célula.

Uma micropipeta eletrônica Eppendorf (multipette® stream) fabricada em Hamburgo na Alemanha, foi utilizada em todos os experimentos utilizando o sistema de análise por injeção em batelada (BIA) para injeções de soluções padrão ou de amostras. Nas duas primeiras seções da tese (determinações de cádmio, chumbo e cobre e também de zinco em etanol combustível) foi utilizada uma ponteira (Combitip®) de 1 mL que permite injeções de 10 a 1000 μL sob uma velocidade de injeção programável de 28 a 345 $\mu\text{L s}^{-1}$. Já na última parte da tese, utilizou-se uma ponteira Combitip® de 200 μL que permite injeções reprodutíveis de volumes de 1 a 200 μL com dez diferentes velocidades de injeção (de 5 a 53 $\mu\text{L s}^{-1}$). A distância do Combitip® ao eletrodo de trabalho foi mantida constante em aproximadamente 2 mm, como recomendado em trabalhos prévios usando o sistema BIA.¹²⁵

O mecanismo de injeção das soluções utilizando a micropipeta eletrônica com diferentes ponteiras (1000 μL ou 200 μL) envolve o preenchimento completo das mesmas com a solução de interesse, a inserção na célula eletroquímica (BIA), a injeção (estes procedimentos se diferem no quesito tempo devido às diferentes velocidades de injeção

que podem ser programadas), a retirada da mesma do sistema e o procedimento se repete novamente para uma próxima injeção.

3.3.2. ELETRODOS

Os eletrodos de referência e auxiliar foram Ag/AgCl (saturado com KCl) miniaturizado¹³⁴ e um fio de platina, respectivamente. O eletrodo de referência foi preparado em laboratório pela eletrodeposição de AgCl em um fio de Ag em solução ácida.¹³⁴ A ponta porosa deste eletrodo foi obtida com a inserção de um componente microporoso (utilizado em sua origem como separador de baterias automotivas) sob pressão no interior (na extremidade inferior) da ponteira.¹³⁴ Todos os potenciais apresentados nesta tese (com exceção da seção que os eletrodos impressos são utilizados) são referidos a este eletrodo.

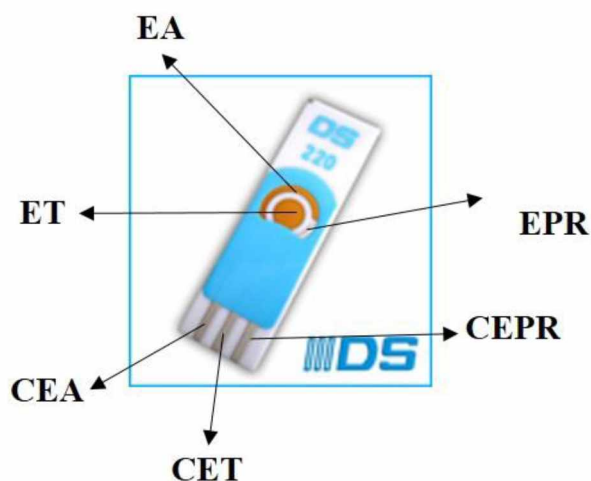
O eletrodo de filme de mercúrio (MFE) foi usado como eletrodo de trabalho, para a determinação de cádmio, chumbo e cobre em etanol combustível. O preparo de MFE (*ex situ*) envolve a deposição eletroquímica de um filme de mercúrio na superfície do eletrodo de carbono vítreo (3-mm de diâmetro) obtido da Metrohm®. O depósito foi realizado como descrito na literatura por Muñoz e colaboradores¹⁰⁵ (-800 mV por 300 s em uma solução contendo 100 mg L⁻¹ de mercúrio (II) e 0,1 mol L⁻¹ de HCl). A formação do filme de mercúrio foi realizada em uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos com volume aproximado de 10,0 mL, apenas uma vez, antes de começar o dia de trabalho. Antes da formação do fino filme de mercúrio, o eletrodo de carbono vítreo foi polido usando suspensão de alumina com partículas de 0,3 µm e depois lavado com água desionizada.

Um eletrodo de ouro (EAu) comercial adquirido da Metrohm® foi empregado como eletrodo de trabalho (diâmetro = 3 mm) no desenvolvimento do trabalho que visou à quantificação de zinco em amostras de etanol combustível. A limpeza da superfície de ouro do eletrodo foi feita mecanicamente sobre uma almofada de feltro de polimento utilizando uma suspensão de pó de alumina (0,3 µm) e enxaguada com água desionizada exaustivamente. Para medições contínuas de soluções-padrão de zinco, o eletrodo de ouro foi polido apenas antes do início do experimento. Para a análise do etanol combustível, o eletrodo de ouro foi polido antes da determinação de zinco para cada nova amostra.

Eletrodos impressos de ouro (SPGEs, do inglês, *Screen Printed Gold Electrodes*) com baixa temperatura de cura (SPGE-LT, do inglês, *Screen Printed Gold Electrode* –

Low Temperature) com código DRP-220BT comercializados pela empresa Dropsens[®], foram usados nas determinações de chumbo, cobre e mercúrio em biodiesel. Este eletrodo foi desenvolvido para suprir a configuração de três eletrodos impressos em uma mesma plataforma plana, que consiste em: eletrodo de ouro em forma de disco ($\varnothing = 4$ mm), um contra eletrodo de ouro e um pseudo-referência de prata. A cobertura (delimitação) impressa do eletrodo é feita com material orgânico desconhecido, pois está sob o domínio da empresa fabricante, de tal modo que apenas os contatos elétricos e as áreas dos três eletrodos fiquem descobertos (Figura 5).

Figura 5: Imagem de um SPGE-LT. ET: eletrodo de trabalho; EPR: eletrodo pseudo-referência; EA: eletrodo auxiliar; CET: contato do eletrodo de trabalho; CEPR: contato do eletrodo pseudo-referência; CEA: contato do eletrodo auxiliar.



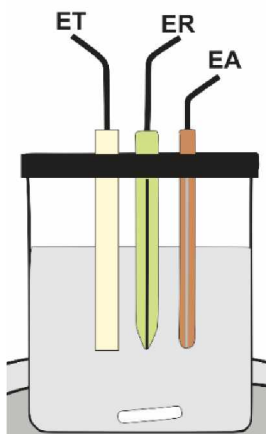
Fonte: Adaptado da Dropsens¹³⁵.

O condicionamento do SPGE-LT antes das análises (eletrodo novo) foi realizado de acordo com procedimentos previamente descritos.^{114,115,117,121} A estabilização da linha base e eliminação de ruídos foram obtidas variando-se o potencial na faixa de 0,0 a 0,7 V (por voltametria cíclica) com velocidade de varredura igual a 50 mV s⁻¹ (15 ciclos) em HCl 0,1 mol L⁻¹. Após esta etapa de condicionamento, o eletrodo responde com estabilidade por até 210 injeções de soluções simulando amostras com características oxidantes oriundas do processo de digestão no sistema BIA ou 15 corridas analíticas no sistema convencional, e então um novo eletrodo é necessário para testes posteriores.

3.3.3. CÉLULAS ELETROQUÍMICAS

Uma célula eletroquímica de polietileno com volume final de aproximadamente 10,0 mL foi confeccionada em laboratório a partir de provetas de 50,0 mL cortadas manualmente. Estas foram empregadas nas medidas eletroquímicas utilizando o sistema convencional de análise (célula eletroquímica constituída de três eletrodos), na formação do MFE e para medidas comparativas com sistema BIA visando à quantificação de zinco. Um esquema da célula convencional (Figura 6) é ilustrado, onde ET, ER e EA correspondem aos eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente. A agitação foi promovida por barra magnética com dimensões iguais a: 1,5 cm de comprimento; 0,5 cm de largura e 0,5 cm de altura, como ilustrada na parte inferior da figura.

Figura 6: Esquema da célula eletroquímica convencional com o sistema de três eletrodos, utilizada na formação do MFE. ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.

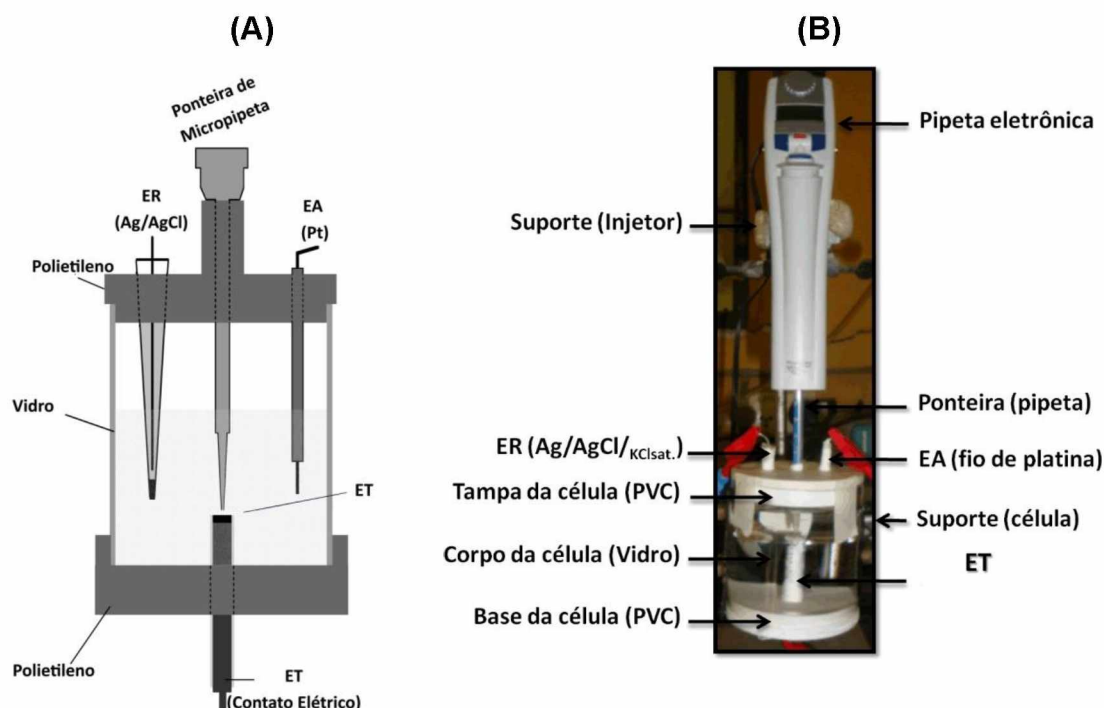


Fonte: Próprio autor.

Os testes conduzidos utilizando os SPGE-LT em sistema convencional (para estudos com chumbo, cobre e mercúrio) foram realizados em uma célula eletroquímica de polipropileno e possuía capacidade de aproximadamente 2,5 mL.

A Figura 7 ilustra a célula BIA utilizada nas análises realizadas nas duas primeiras seções da tese projetada no próprio laboratório para utilização de eletrodos sólidos, baseada em uma célula descrita na literatura.¹³⁶

Figura 7: (A) Esquema da célula utilizada nas análises em BIA para a determinação simultânea de cádmio, chumbo e cobre (utilizando um MFE) e zinco (utilizando um EAU). Volume total da célula: 180 mL; volume de eletrólito: ~ 150 mL (B) Imagem em perspectiva da célula durante as medidas eletroquímicas.



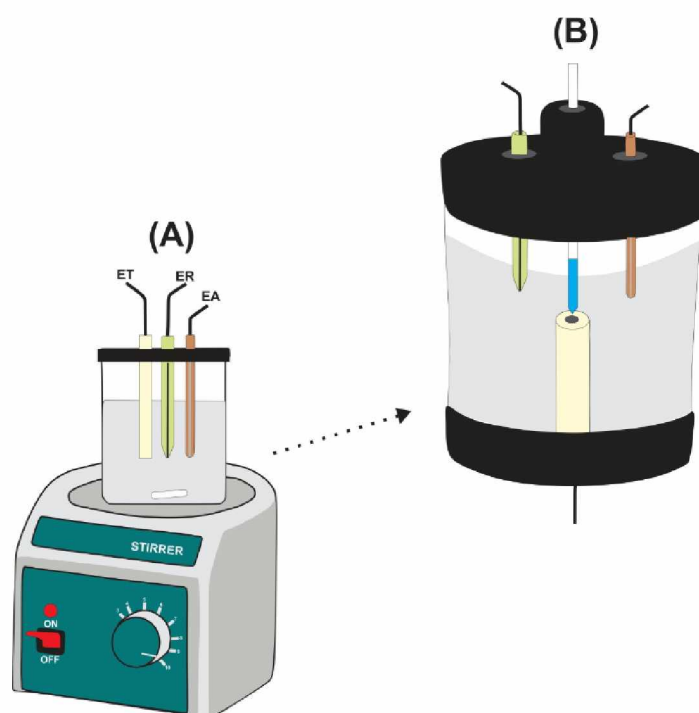
Fonte: Próprio autor.

O corpo da célula BIA foi feito de vidro (altura: $H = 7,1$ cm; diâmetro interno: $\varnothing_i = 7,3$ cm), com capacidade total de eletrólito de aproximadamente 180 mL. Cilindros rígidos de poli (cloreto de vinila) – PVC, ($\varnothing_i = 7,0$ cm, $H = 1,5$ cm) foram empregados como tampa e base da célula. A tampa da célula continha três orifícios: um deles central (6,0 mm de diâmetro), para a inserção da ponteira da micropipeta eletrônica, e os outros dois (laterais) para o posicionamento do ER ($\text{Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat.}}$) e do EA (fio de Pt). Já na base da célula foi feito um orifício de aproximadamente 11,5 mm de diâmetro exatamente no centro para o encaixe do ET, que é inserido em posição invertida à usual (configuração *wall-jet*). A extremidade da ponteira da pipeta foi mantida a uma distância fixa de 2,0 mm da superfície do ET, como recomendado previamente.¹³⁶ O design da célula BIA usada neste trabalho foi descrito anteriormente na literatura por autores do próprio Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica – NUPE.^{133,137}

A Figura 8 está correlacionada à seção da tese que apresenta os resultados para determinação de cádmio, chumbo e cobre em etanol combustível utilizando MFE, como eletrodo de trabalho. A mesma célula foi utilizada nas determinações de zinco em

amostras de etanol combustível, trocando apenas o ET por um EAU. Ela apresenta uma conformação do sistema convencional de três eletrodos utilizado para deposição *ex-situ* do filme de mercúrio sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (A) e um esquema da célula BIA-SWASV utilizada nas análises (B).

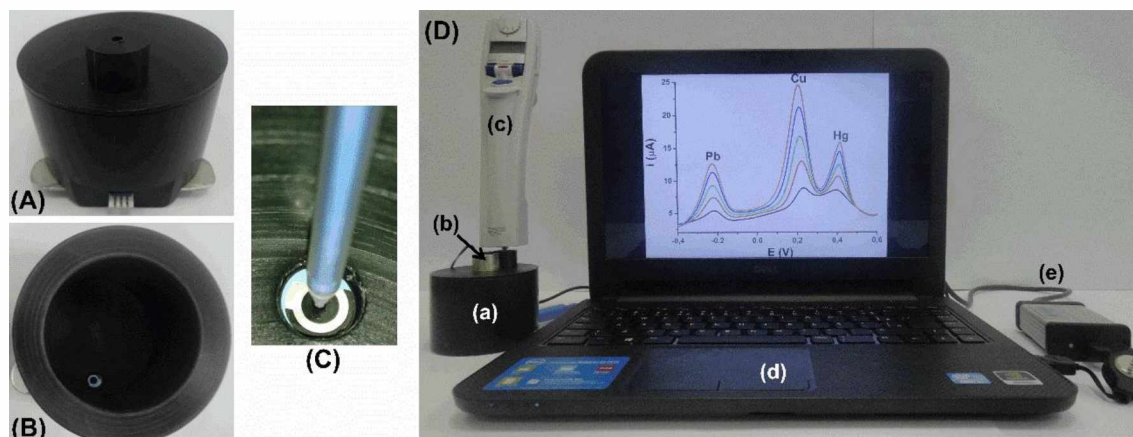
Figura 8: (A) Célula eletroquímica típica de três eletrodos para deposição *ex-situ* do filme de mercúrio. (B) Esquema do sistema BIA-SWASV acoplando o eletrodo de mercúrio (ET) e os demais eletrodos ER e EA, assim como a ponteira de uma micropipeta em posição wall-jet em relação ao ET.



Fonte: Próprio autor.

Na Figura 9, é apresentada uma fotografia do sistema eletroquímico portátil completo envolvendo o sistema BIA e a utilização de SPE. O sistema foi aplicado na última parte da tese que visou à quantificação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel.

Figura 9: (A) Célula BIA montada associada a um eletrodo impresso (SPE). (B) Célula BIA sem a tampa de polipropileno (vista superior do SPE posicionado na célula eletroquímica). (C) Imagem em aproximação do SPE com a ponteira de micropipeta posicionada para injeção. (D) Sistema eletroquímico portátil completo: (a) célula BIA (volume da célula: 80 mL; volume de eletrólito: ~ 60 mL); (b) micromotor DC; (c) micropipeta eletrônica; (d) notebook; (e) mini-potenciostato.



Fonte: Próprio autor.

A célula BIA foi construída a partir de um cilindro de polipropileno de diâmetro e comprimento iguais a 8,0 e 6,0 cm, respectivamente. Um orifício de diâmetro 5,8 cm e profundidade de 4,0 cm (Figura 9A) foi perfurado de um lado do cilindro (lado superior) mantendo o outro lado (a base) com apenas um pequeno orifício para inserção do SPE. O SPGE foi fixado com o auxílio de um O-ring (anel de borracha) para evitar vazamentos e, um diâmetro de 0,8 cm delimitou a região onde os três eletrodos (ET, EA e EPR) ficariam em contato com a solução na célula BIA (Figuras 9B e 9C). Todos SPE's com tamanhos similares podem ser adaptados nesta configuração de célula proposta.

A parte superior da célula pode ser fechada com uma tampa de polipropileno com um furo central (3 cm de diâmetro) no qual pode-se posicionar um micromotor DC alimentado por bateria usado para agitação da solução (caso necessário).¹³³ Um suporte de polipropileno contendo um orifício (diâmetro = 4,0 mm) foi posicionado sobre a parte superior da célula (verticalmente alinhado com o lugar que o SPE foi inserido), constituindo a tampa do sistema.

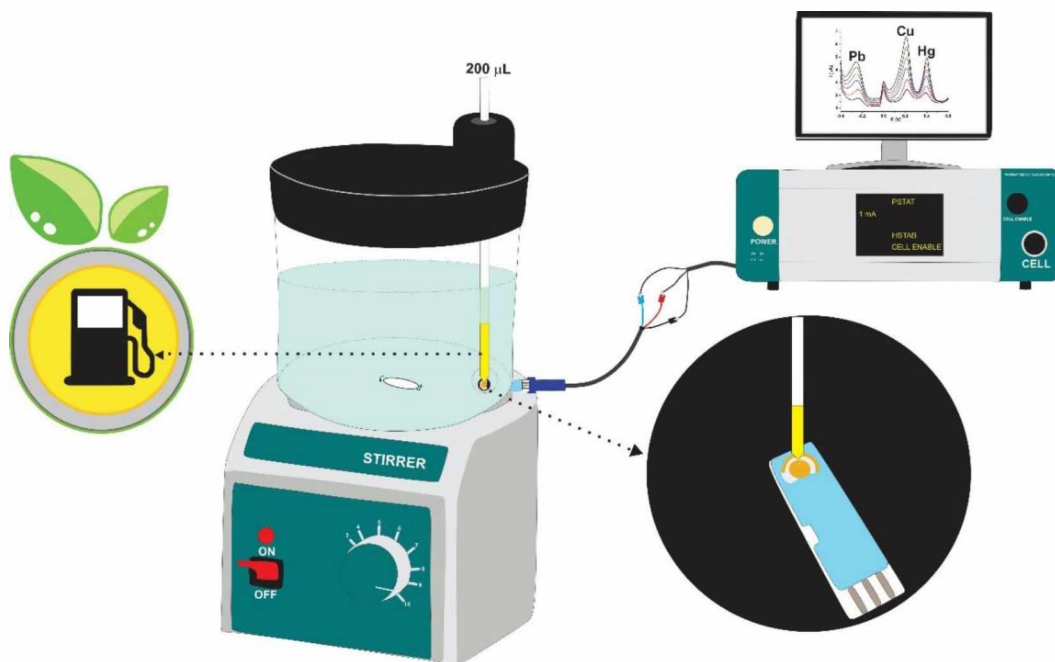
A ponteira da micropipeta (com formato de seringa e diâmetro externo regular = 3,7 mm) foi firmemente introduzida no orifício do suporte inserido na tampa da célula de tal maneira que o procedimento de injeção fosse altamente reprodutível. A altura e a posição do suporte de polipropileno necessita ser precisamente definida, de modo com

que a ponteira da micropipeta fique posicionada a uma distância constante e centralizada em relação ao eletrodo de trabalho (Figura 9C).

Os procedimentos mencionados anteriormente contribuem para a alta repetitividade do sistema proposto. A Figura 9D mostra uma imagem de todos os componentes que fazem parte do sistema eletroquímico proposto: (a) célula BIA; (b) micro motor-DC; (c) pipeta eletrônica (Eppendorf); (d) computador portátil (Dell); (e) minipotenciostato (Dropsens®, Oviedo, Espanha).

A Figura 10 ilustra o sistema completo utilizado para a determinação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel (última seção da tese).

Figura 10: Esquema completo do sistema utilizado para a quantificação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras digeridas de biodiesel. Foco na ponteira da micropipeta eletrônica utilizada (200 μ L) e na posição *wall-jet* entre o SPE e a ponteira da micropipeta.



Fonte: Próprio autor.

Recentemente uma parceria foi firmada entre o nosso grupo de pesquisa (NUPE) da UFU (Universidade Federal de Uberlândia) e a empresa Dropsens® (Oviedo, Espanha). Um novo protótipo de célula unindo o sistema BIA e os SPE's foi desenvolvido e já encontra-se disponível comercialmente.¹³⁵ O Anexo A ilustra uma vista externa da célula com a adaptação da micropipeta eletrônica (da marca Gilson); vista interna com destaque nos ímãs e O-ring (vedação da célula); uma visão do posicionamento *wall-jet* entre a ponteira da micropipeta e o SPE posicionado em um orifício lateral da célula. O volume

total aproximado da célula é de aproximadamente 120 mL. O Anexo B ilustra o sistema eletroquímico portátil completo que pode ser utilizado na condução dos experimentos, utilizando a célula BIA-SPE desenvolvida em parceria com a empresa espanhola.

É importante ressaltar que os resultados obtidos para os metais (chumbo, cobre e mercúrio) em amostras de biodiesel foram obtidos em sua totalidade com a célula BIA-SPGE desenvolvida em nosso próprio laboratório de pesquisa.

3.4. MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

Voltametria Cíclica (CV – do inglês – *Cyclic Voltammetry*) foi utilizada para realizar o pré-tratamento dos SPGE's em meio ácido (HCl 0,1 mol L⁻¹). A estabilização da linha base foi obtida variando-se o potencial na faixa entre 0,0 e 0,7 V sob uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹ por 15 ciclos.

A SWASV foi utilizada em todos os estudos para a determinação de cádmio, cobre, chumbo e zinco em etanol combustível e chumbo, cobre e mercúrio em biodiesel. A otimização dos parâmetros para os procedimentos eletroanalíticos desenvolvidos perfaz etapas dos resultados e discussões desta tese.

Todas as medidas eletroquímicas foram conduzidas na presença de oxigênio dissolvido e a temperatura ambiente. O método de adição de padrão foi usado em todas as análises. É importante enfatizar que, em todos os trabalhos desenvolvidos nesta tese, a gaiola de Faraday não foi necessária, já que, foram empregados eletrodos com grande área superficial (macroeletrodos), o que pode ser considerado uma vantagem para análises fora de laboratórios.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

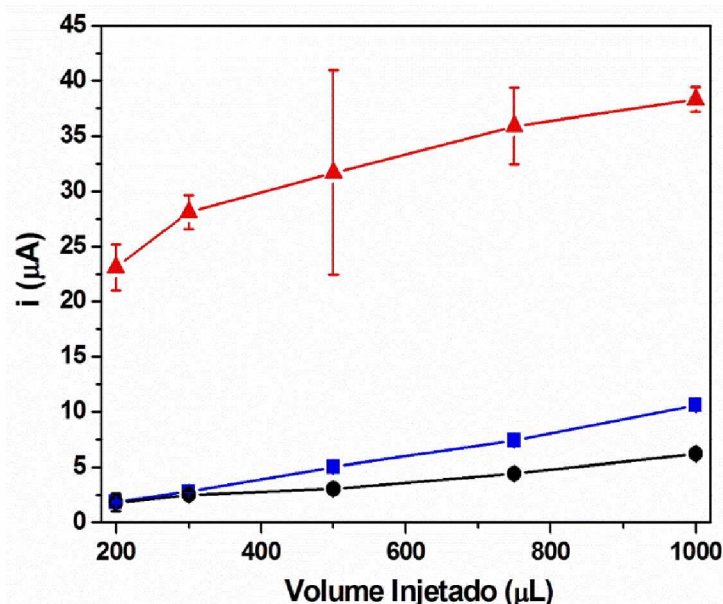
4.1. DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE USANDO ELETRODO DE FILME DE MERCÚRIO EM ETANOL COMBUSTÍVEL

A seleção dos parâmetros de SWASV foi baseada em um trabalho anterior.¹³⁸ Utilizou-se 50 Hz como frequência, 50 mV como amplitude e 7 mV como degrau de potencial, resultando em uma velocidade de varredura de 400 mV s⁻¹. As condições de limpeza e deposição de voltametria de redissolução anódica foram +0,1 V por 5 s e -1,0 V por 90 s, respectivamente. A etapa de deposição foi realizada durante a injeção de soluções padrão ou amostra através do sistema BIA, que durou aproximadamente 10 s, assim a deposição ainda ocorreu após o término da injeção.

Inicialmente, a etapa de deposição foi mantida constante (-1,0 V por 90 s). O potencial de deposição de -1,0 V foi selecionado para a determinação de cádmio, chumbo e cobre, pois um potencial mais negativo pode causar desprendimento de hidrogênio no pH do eletrólito, ocasionando o bloqueio de parte da superfície do eletrodo. O tempo de deposição de 90 s, que é por volta de nove vezes o tempo de injeção (10 s), foi selecionado baseado em trabalhos anteriores que sempre reportaram o uso de maiores tempos de deposição do que os tempos de injeção.^{126,127,128,129,130} Sob estas condições, os parâmetros BIA (volume injetado e velocidade de injeção) foram estudados baseados nas respostas analíticas de cada metal.

A resposta analítica dos três metais aumentou (quase linearmente para cádmio e chumbo) para volumes injetados de 200 a 1000 µL, como ilustrado na Figura 11. Comportamento similar (aumento dos sinais para maiores volumes injetados) foi observado em estudos prévios.^{126,127,128,129,130}

Figura 11: Estudos para otimização do volume injetado (200 a 1000 μL) para injeções ($n=3$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) de soluções contendo $75 \mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio (■), chumbo (●) e cobre (▲). Condições experimentais: -1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); $100 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).

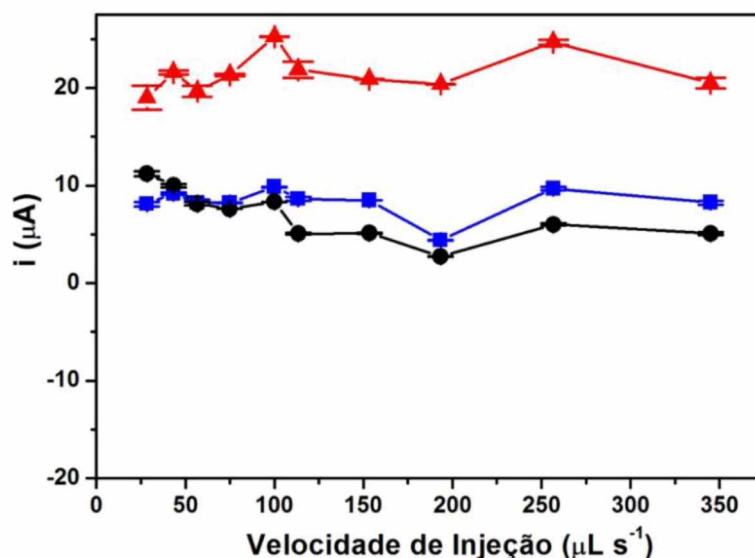


Fonte: Próprio autor.

O aumento do volume de injeção proporciona um maior tempo de contato entre os metais e a superfície do eletrodo e também uma quantidade mais elevada de metais é injetada e pré-concentrada, o que poderia explicar o aumento linear da corrente como pode ser verificado na Figura 11. Portanto, injeções de 1000 μL de soluções padrão hidroetanólicas foram selecionadas para experimentos futuros.

A resposta analítica para cádmio, chumbo e cobre foi medida e avaliada quanto à velocidade de injeção (28 a $345 \mu\text{L s}^{-1}$). A Figura 12 apresenta os sinais analíticos para os três metais obtidos por injeções no sistema BIA de 1000 μL de uma solução padrão contendo $75 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito preparadas por diluição apropriada de uma solução estoque em soluções hidroetanólicas (95% (v/v) de etanol). O MFE encontrava-se imerso na célula BIA contendo como eletrólito uma solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5).

Figura 12: Estudos para otimização da velocidade da injeção (28 a 345 $\mu\text{L s}^{-1}$) para injeções ($n=3$) de soluções contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio (■), chumbo (●) e cobre (▲) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol). Condições experimentais: -1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições de SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).

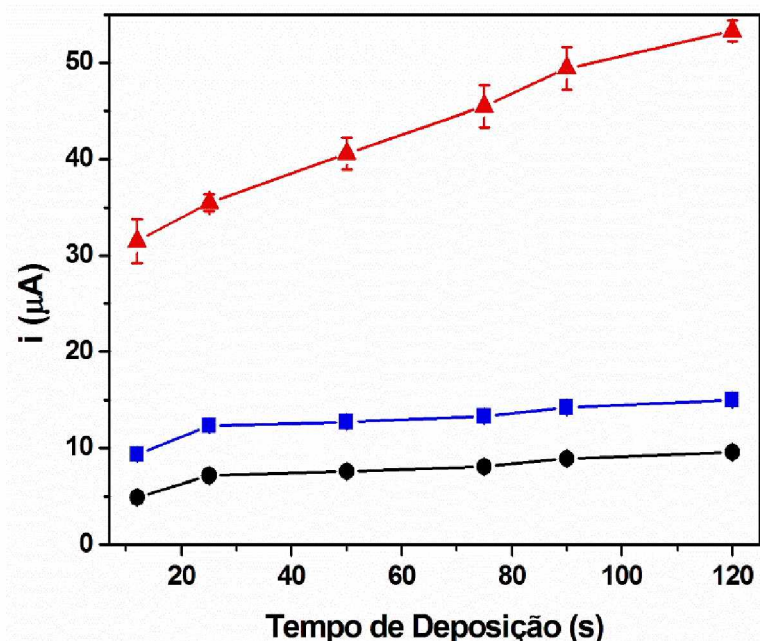


Fonte: Próprio autor.

Baseado em trabalhos anteriores¹²⁹, esperava-se um decréscimo do sinal analítico com o aumento da velocidade de injeção, uma vez que o tempo de contato entre os analitos e o eletrodo seria menor. Entretanto, um comportamento diferente foi verificado para os três metais avaliados em soluções hidroetanólicas. Um comportamento praticamente constante foi observado para cádmio e cobre na faixa de estudo. Para chumbo, um decréscimo na resposta analítica foi observado para velocidades de injeções maiores do que 100 $\mu\text{L s}^{-1}$. O uso de altas velocidades de injeção reduz proporcionalmente o tempo de injeção e/ou a geometria da célula poderia explicar o decréscimo do sinal. Assim, 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ foi usado como velocidade de injeção para experimentos futuros a fim de obter o maior sinal analítico.

O tempo de deposição foi avaliado de 12 a 120 s, baseando-se na resposta analítica de cada metal. A Figura 13 apresenta sinais analíticos obtidos para injeções no sistema BIA de 1000 μL de 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada metal em soluções hidroetanólicas (95% v/v de etanol) com MFE imerso na célula BIA contendo solução tampão acetato 0,1 mol L^{-1} sob uma velocidade de injeção de 100 $\mu\text{L s}^{-1}$.

Figura 13: Estudos para otimização do tempo de deposição (12 a 120 s) para injeções (n=3) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) de uma solução contendo $75 \mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio (■), chumbo (●) e cobre (▲). Condições experimentais: - 1,0 V (potencial de deposição); 1000 μL (volume injetado); 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).



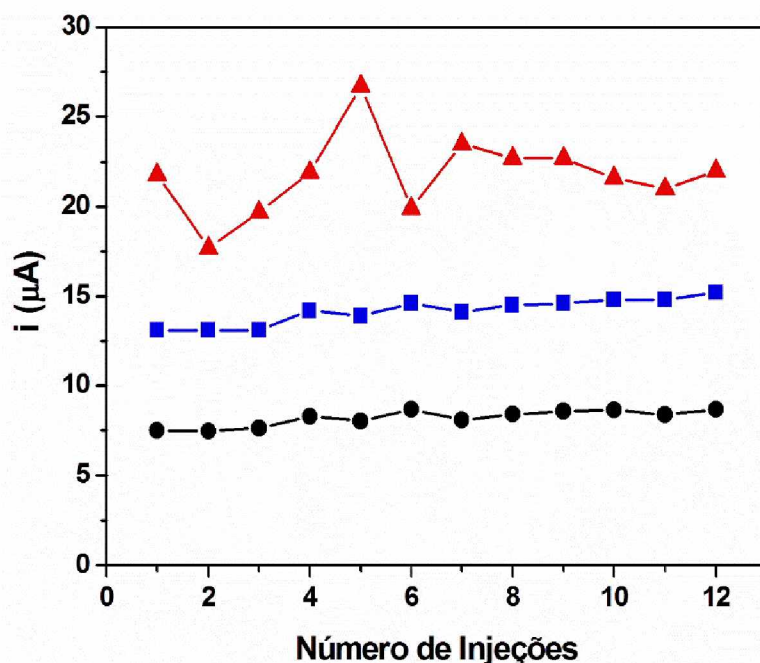
Fonte: Próprio autor.

Tipicamente, os sinais analíticos devem aumentar com o aumento do tempo de deposição como trabalhos anteriores demonstraram.^{127,128,129,130} Entretanto, comportamento similar foi verificado somente para o cobre neste estudo em que o sinal analítico aumentou quando o tempo de deposição foi aumentado de 10 a 120 s e permaneceu praticamente constante para tempos de deposição maiores do que 90 s. As respostas para cádmio e chumbo foram crescentes em pequena proporção para tempos de deposição na faixa de 25 a 120 s, ou seja, provavelmente não houve deposição destes metais aplicando-se tempos maiores de deposição do que o tempo de injeção. Para análises futuras, optou-se em escolher 90 s como tempo de deposição com intuito de obter maior detectabilidade para determinação de cobre, que é um metal controlado em etanol combustível por agências regulatórias brasileiras (limite máximo de $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$ para cobre que corresponde aproximadamente a $55 \mu\text{g L}^{-1}$)¹.

A Figura 14 retrata os valores de corrente para dez repetitivas injeções (estudo de repetitividade) no sistema BIA de soluções padrão hidroetanólicas contendo $75 \mu\text{g L}^{-1}$ de

cada metal. Os testes foram realizados sob as condições otimizadas apresentadas anteriormente: - 1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte).

Figura 14: Dados de repetitividade (n=12) obtidos a partir de injeções sucessivas de um meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio (■), chumbo (●) e cobre (▲). Condições experimentais: - 1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).



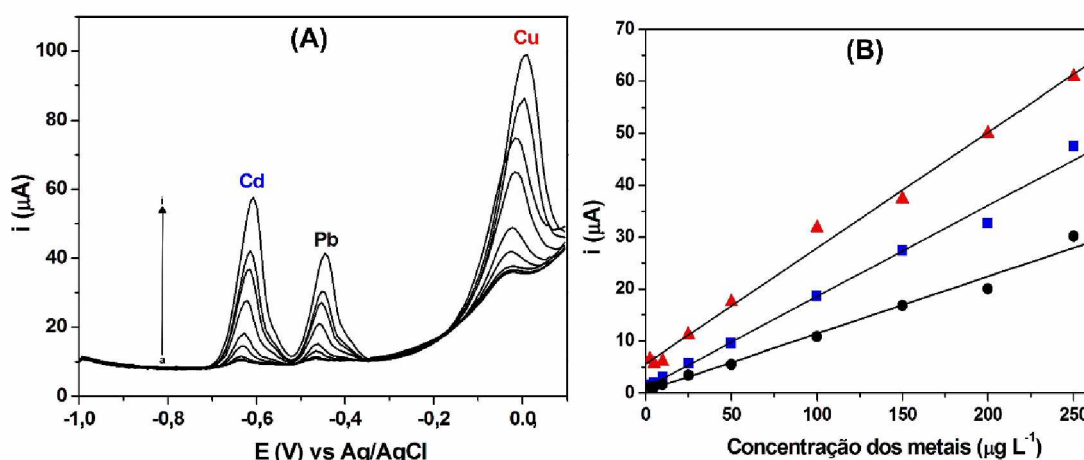
Fonte: Próprio autor.

O desvio padrão relativo (DPR) foi de 5,2%, 5,5 e 10,2% para cádmio, chumbo e cobre, respectivamente. A dispersão aleatória dos valores de corrente para os três metais apresentados na Figura 14 indica a presença de poucas fontes de erros; além disso, pode-se assumir que a dissolução do mercúrio não ocorreu com alta significância (alta estabilidade do MFE). O mesmo MFE pode ser usado durante um dia de análises.

O sistema BIA-SWASV proposto foi avaliado frente aos estudos conduzidos para encontrar a faixa linear de trabalho para a determinação simultânea de cádmio, chumbo e cobre. Uma curva analítica foi construída a partir de injeções de soluções preparadas em

meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) com concentrações crescentes (2,5 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$) dos três metais, como apresentado na Figura 15.

Figura 15: (A) Respostas voltamétricas da faixa linear de trabalho do método BIA-SWASV conduzido a partir de injeções ($n=1$) de soluções preparadas em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) com concentrações crescentes (a – i: 2,5 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$) de cádmio (■ ; $R = 0,995$), chumbo (● ; $R = 0,992$) e cobre (▲ ; $R = 0,996$). Condições experimentais: - 1,0 V (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 100 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH 4,5 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).



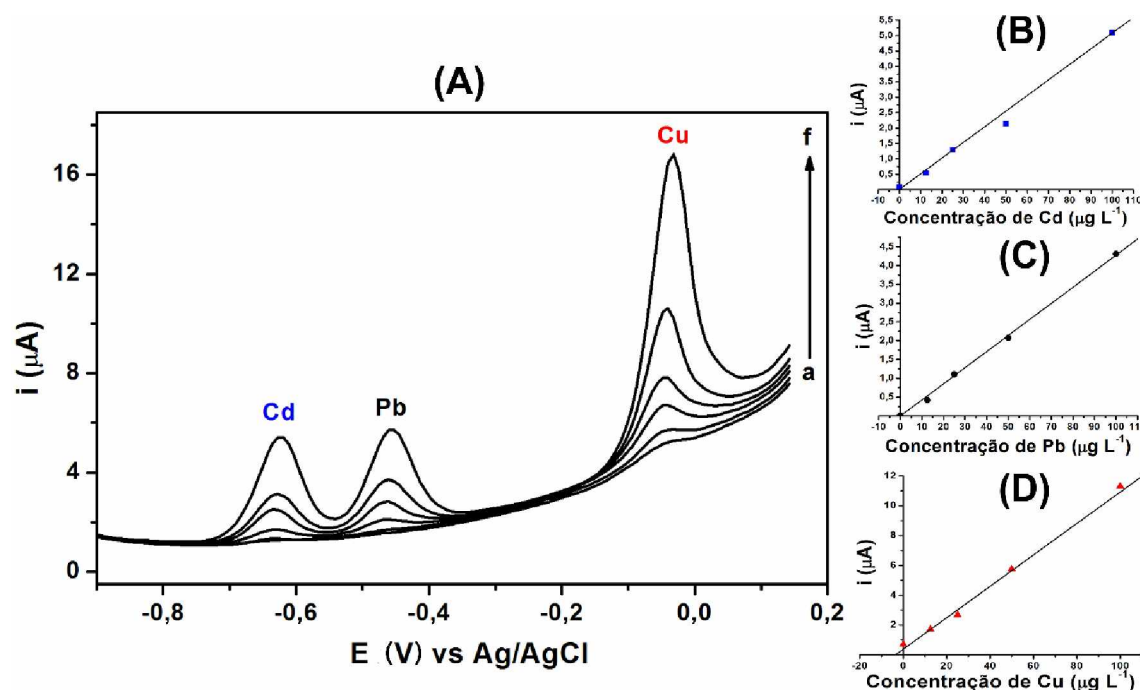
Fonte: Próprio autor.

Utilizando o sistema BIA-SWASV sob condições otimizadas, um comportamento linear com bom coeficiente de correlação ($> 0,99$) foi observado de 2,5 a 250,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos três metais. Os valores de limite de detecção (LD) sob estas condições foram estimados em 1, 1, e 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($\text{LD} = 3 \text{ DPR/S}$, em que DPR é o desvio padrão relativo do branco no potencial de pico de cada metal e S é a respectiva sensibilidade), respectivamente para cádmio, chumbo e cobre. A sensibilidade (coeficiente angular) para os três metais foi estimada em 0,175 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$ para cádmio, 0,110 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$, para chumbo e 0,223 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$ para cobre.

O método BIA-SWASV proposto foi aplicado para a determinação de cádmio, chumbo e cobre em amostras de etanol combustível em condições otimizadas. A Figura 16 apresenta as respostas do sistema BIA-SWASV para injeções de 1000 μL de uma amostra de etanol combustível, após a adição de 10% (v/v) de HNO_3 à amostra e após a adição de soluções padrão de cádmio, chumbo e cobre de (c) 12,5; (d) 25,0; (e) 50,0 e (f)

100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. A Figura 16 (B-D) apresenta as curvas de adição de padrão para a determinação de cádmio, chumbo e cobre.

Figura 16: (A) Voltamogramas para análise de uma amostra de etanol combustível (a) 100% de etanol combustível; (b) 90% de etanol combustível com 10% (v/v) de HNO_3 e após a adição de uma solução padrão contendo cádmio, chumbo e cobre com concentrações crescentes de (c) 12,5; (d) 25,0; (e) 50,0 e (f) 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada metal. (B) Curva de adição de padrão para o cádmio. (C) Curva de adição de padrão para o chumbo. (D) Curva de adição de padrão para o cobre. Condições experimentais como na Figura 13. Condições da SWASV: 7 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).



Fonte: Próprio autor.

A concentração de cádmio e chumbo nestas amostras de etanol combustível foi menor do que o LD do método, enquanto que cobre foi detectado e quantificado (Tabela 4). As injeções de amostra pura e tratada com ácido nítrico geraram respostas de corrente com diferentes magnitudes para o Cu. A adição de ácido na amostra de etanol combustível pode ter liberado íons cobre da matriz da amostra e assim, a resposta do cobre na amostra tratada com ácido foi duas vezes maior do que na amostra pura. Outra explicação pode estar correlacionada à presença de impurezas no HNO_3 utilizado, já que, não houve purificação prévia do reagente. Portanto, o método BIA-SWASV proposto pode determinar não somente a concentração total de cobre, mas também a fração lábil do metal.

Similarmente a este resultado, a especiação de cobre também foi reportada em um trabalho anterior⁷⁹, entretanto, esta informação foi possível usando microeletrodo de ouro de 25 μm de diâmetro como eletrodo de trabalho em um sistema convencional de três eletrodos dentro de uma gaiola de Faraday para medir diretamente cobre em etanol combustível sem adição de eletrólito suporte e após a adição de 1 mmol L^{-1} de H_2SO_4 para liberar os íons cobre da matriz da amostra.

A especiação química das espécies de cádmio e chumbo também foi realizada, mas somente o chumbo foi quantificado em uma amostra de etanol combustível analisada. A resposta de chumbo nesta amostra tratada com ácido foi praticamente constante em comparação ao sinal gerado pela amostra pura. Portanto, chumbo nesta amostra de etanol combustível não estava complexado fortemente à matriz orgânica da amostra. A Tabela 4 apresenta as concentrações de cádmio, chumbo e cobre em amostras comerciais de etanol combustível (obtidas pela construção de curvas de adição de padrão utilizando o método BIA-SWASV proposto) e os valores de recuperação para amostras fortificadas.

Tabela 4: Valores de recuperação para amostras fortificadas e concentração dos metais traço em amostras de etanol combustível encontrados pelo método proposto.

		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Cádmio	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	< LD	< LD	< LD
	Fortificado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	25,0	25,0	25,0
	Recuperação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	25 ± 3	25 ± 1	26 ± 1
	Recuperação (%)	100 ± 13	100 ± 4	104 ± 4
Chumbo	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	< LD	< LD	$8,2 \pm 0,2$
	Fortificado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	25,0	25,0	25,0
	Recuperação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	25 ± 3	$21,7 \pm 0,8$	$36,3 \pm 0,8$
	Recuperação (%)	100 ± 12	87 ± 4	109 ± 2
Cobre	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$2,10 \pm 0,12$	$0,95 \pm 0,02$	$0,68 \pm 0,06$
	Fortificado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	25,0	25,0	25,0
	Recuperação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	27 ± 1	$24,4 \pm 0,4$	27 ± 2
	Recuperação (%)	99 ± 4	94 ± 2	105 ± 7

Fonte: Próprio autor.

Como pode ser notado a da Tabela 4, foi encontrada uma pequena concentração de chumbo em apenas uma amostra, e os valores de cobre encontrados nas três amostras estavam abaixo dos valores estabelecidos pela Agência Nacional de Petróleo e Gás Natural (ANP), os quais devem estar abaixo de $55 \mu\text{g L}^{-1}$.

Os ensaios conduzidos visando avaliar a exatidão da metodologia forneceram valores de recuperação foram entre 87 e 109%. O método proposto apresenta limites de detecção aceitáveis, em acordo com os limites superiores estabelecidos pelas agências reguladoras.

Na Tabela 5 é apresentado um resumo das características analíticas do método proposto nesta tese em comparação a trabalhos encontrados na literatura que analisam (individualmente ou de forma simultânea a outros metais) cádmio, chumbo e cobre em etanol combustível.

Tabela 5: Comparação das características analíticas do método proposto com os estudos da literatura que empregam análise de redissolução eletroquímica para a determinação de cádmio, chumbo e cobre em etanol combustível.

Eletrodo	Analito (s)	Técnica	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	t_{dep} (min)	Ref.
GCE/modified	Pb	SV	-	1	78
Microeletrodo de Au	Cu	LSASV	1,4	5	79
CPE/silica mesoporous	Cd	SWASV	52,5	2	82
CPE/silica	Cu/Fe	LSASV	3,2/0,4	4,5	83
CPE/modified	Cu	DPASV	2,0	20	91
CE-GPT	Cu	DPASV	2,5	20	86
MFE	Zn/Cu/Pb/Cd	DPASV	0,53/0,55/ 3,31/1,09	10	87
CPE/resin	Pb	DPASV	1,6	15	88
CNPE/resin	Cd/Pb	DPASV	2,2/2,5	10	89
SPE/modified	Zn/Pb/Cu/Hg	DPASV	19,6/13,5/ 1,9/9,3	5	90
GE	Cu/Pb	SWASV	0,12/0,24	15	73
SPGE	Pb/Cu/Hg	SWASV	1,2/1,1/1,1	4	66

LME	Cu/Pb/Cd/Ni/	DPAdSV	0,5/39,4/3,7	0,5	67
	Co/Zn		/0,5/0,8/6,4		
MFE	Cd/Pb/Cu	BIA-	1,0/1,0/0,6	1,5	Esta tese
		SWASV			

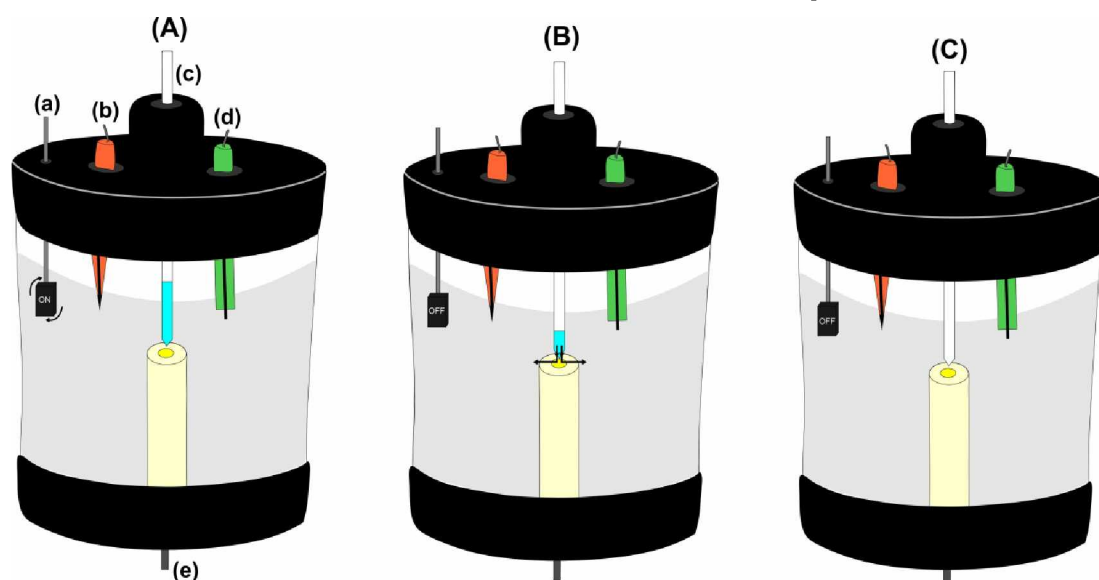
SV: do inglês, *Stripping Voltammetry*; LSASV: do inglês, *Linear Sweep Anodic Stripping Voltammetry*; SWASV: do inglês, *Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*; DPASV: do inglês, *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry*; DPAdSV: do inglês, *Differential Pulse Anodic Adsorptive Stripping Voltammetry*; BIA-SWASV: do inglês, *Batch Injection Analysis - Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*; GCE/modified: do inglês, *Glass Carbon Electrode modified with carbon ceramic*; CPE/silica mesoporous: do inglês, *Carbon Paste Electrode modified mesoporous silica*; CPE/silica: do inglês, *Carbon Paste Electrode modified with 2-aminothiazole*; CNE: do inglês, *Carbon Nanotube Electrode*; CE-GPT: do inglês, *Composite Electrode Graphite-Polyurethane-Thiol*; MFE: do inglês, *Mercury Film Electrode*; CPE/resin: do inglês, *Carbon Paste Electrode modified with ion exchange resin Amberlite IR 120*; CNPE/resin: do inglês, *Carbon Nanotube Paste Electrode modified with synthetic resin ion exchange*; SPE/modified: do inglês, *Screen Printed Electrode modified with graphite-polyurethane composite*; GE: do inglês, *Gold Electrode*; Eletrodo de ouro; SPGE: do inglês, *Screen Printed Gold Electrode*; LME: do inglês, *Leaky Mercury Electrode*;

Nota-se pela análise da Tabela 5, que o método BIA-SWASV aqui proposto apresenta ótimas características analíticas em comparação aos métodos disponíveis na literatura. Baixos valores de LD com baixos tempos de deposição foram obtidos, similarmemente a outros trabalhos, sendo que estes envolvem o uso de eletrodos modificados, análise quimiométrica, ou diluição da amostra (em alguns casos).

4.2. DETERMINAÇÃO DE ZINCO EM ELETRODO DE OURO

A Figura 17 apresenta um esquema ilustrando como o método BIA-SWASV é aplicado para a determinação de zinco em etanol combustível, com as diferenciações quanto às conformidades das etapas de condicionamento, deposição e varredura.

Figura 17: Esquema do sistema BIA-SWASV para determinação de zinco em etanol combustível contendo (a) micromotor DC, (b) eletrodo de referência, (c) ponteira da micropipeta eletrônica, (d) eletrodo auxiliar e (e) contato elétrico do eletrodo de trabalho de ouro. Os estágios das medidas são: **(A)** etapa de condicionamento (solução dentro da célula BIA sob agitação usando um micromotor DC); **(B)** etapa de deposição (solução dentro da célula BIA sem agitação e a injeção do padrão ou solução amostra usando uma pipeta eletrônica); e **(C)** Varredura usando SWASV (solução dentro da célula BIA sem agitação).



Fonte: Próprio autor.

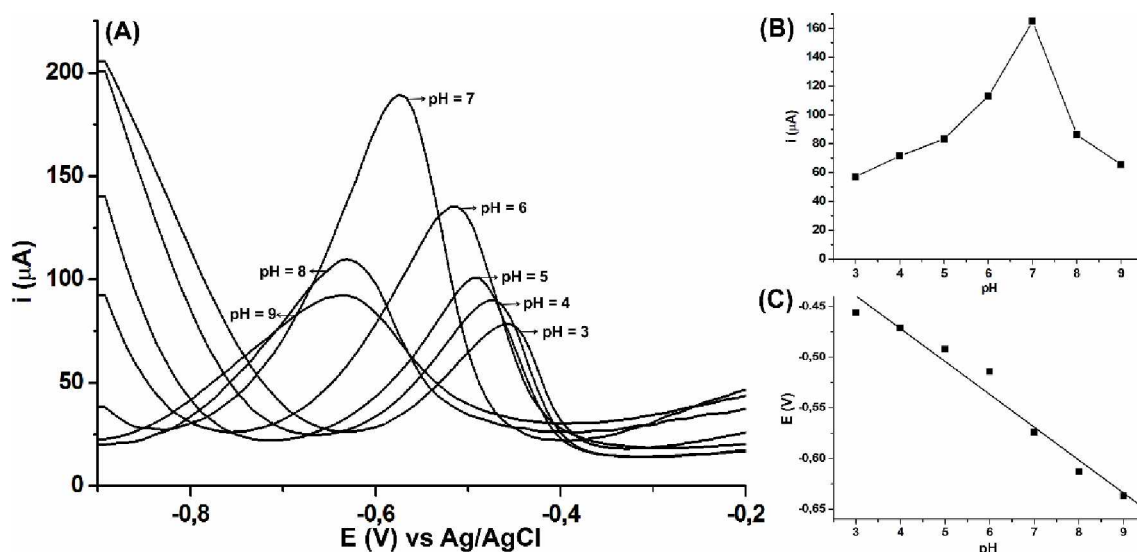
No sistema BIA apresentado na Figura 17, a etapa de condicionamento foi conduzida sob agitação fornecida por um agitador externo acoplado à célula (280 rpm para uma aplicação de 4,5 V ao micromotor DC).¹³³ A etapa de deposição (sistema BIA) foi realizada durante a injeção (tempo total de 35 s) de soluções padrão ou amostra, assim a deposição (pré-concentração) ocorreu ainda ao final da injeção (por transferência do analito por difusão). As setas representadas na Figura 17B é de cunho ilustrativo, já que vai haver difusão por todas as direções após o contato da solução com o eletrodo de trabalho. O desempenho da célula BIA proposta para determinação de zinco em amostras de etanol combustível foi comparado com uma célula eletroquímica convencional (volume interno de 10,0 mL) contendo um sistema de três eletrodos.

A voltametria de redissolução anódica (ASV) utilizando um microeletrodo (10 μm de diâmetro) de ouro apresentou baixo limite de detecção para zinco, em que a maior resposta analítica para zinco foi obtida em valores de pH variando entre 6,5 e 7,5 (usando soluções tamponadas).⁹⁶ Baseando-se neste estudo prévio, condições similares de eletrólito foram avaliadas para determinação de zinco em um macroeletrodo

convencional de ouro, mas na presença de etanol devido à proposta final deste trabalho, que é a análise de amostras de etanol combustível.

Com intuito de avaliar o efeito do pH na resposta analítica do zinco, conduziu-se um estudo variando-se o pH em uma faixa entre 3 e 9, utilizando como eletrólito suporte uma solução 0,04 mol L⁻¹ de tampão Britton-Robinson (BR). A Figura 18A apresenta as medidas obtidas utilizando o sistema BIA-SWASV para injeções de soluções padrão hidroetanólica 95% (v/v) acidificadas com 1% (v/v) de HNO₃ contendo 1000 µg L⁻¹ de zinco em um eletrodo de ouro imerso em solução tampão BR 0,04 mol L⁻¹ na faixa de pH proposta no estudo. As Figuras 18B e 18C, apresentam os registros (*i* x pH e *E* x pH, respectivamente) dos resultados obtidos pela variação do pH do sistema.

Figura 18: (A) Leituras do sistema BIA-SWASV para injeções de 95% (v/v) de soluções hidroetanólicas (acidificadas com 1% (v/v) de HNO₃) de zinco (1000 µg L⁻¹) no sistema BIA contendo um eletrodo de disco de ouro imerso em tampão BR 0,04 mol L⁻¹ com valores de pH na faixa de 3 a 9. (B) Gráfico de corrente de pico x pH. (C) Gráfico de potencial x pH. Outras condições experimentais na Tabela 6.



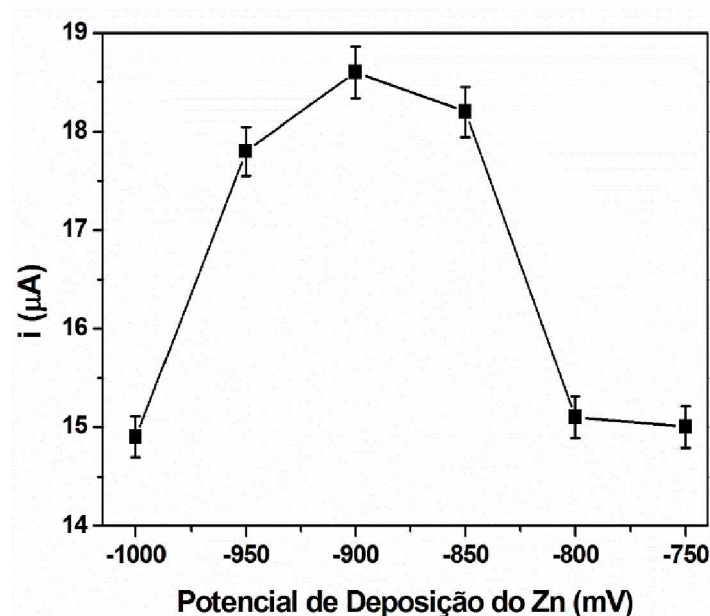
Fonte: Próprio autor.

A resposta analítica para zinco aumentou com o aumento do pH entre 3 e 7, atingindo o máximo em pH 7 (Figura 18B), que foi assim selecionado para testes subsequentes. Soluções ácidas contribuem para evolução hidrogênio, as quais podem competir com a redução de zinco no eletrodo de ouro e então contribuir com o decréscimo no sinal. Por outro lado, o decréscimo no sinal do zinco em soluções alcalinas pode ser atribuído à formação de compostos insolúveis como Zn(OH)₂, Zn₃(PO₄)₂, Zn₄(OH)PO₄

ou $\text{Zn}_5(\text{OH})_2\text{PO}_4$. Nota-se a partir da análise da Figura 18A que o pico de redissolução de zinco foi deslocado para potenciais mais negativos com o aumento do pH. O gráfico de E vs. pH (Figura 18C) para o pico de zinco é praticamente linear ($R=0,98$) com um coeficiente angular de -32 mV por unidade de pH. O efeito do sobrepotencial da deposição de íons zinco em ouro foi investigado¹³⁹ e verificou-se que o processo de adsorção de um ânion específico (fosfato) pode afetar o potencial de deposição do zinco, o que contribui para o deslocamento do potencial de pico do zinco, o que está de acordo com os resultados da Figura 18C.

Após a escolha da composição do eletrólito (tampão BR 0,04 mol L⁻¹; pH = 7), foram conduzidos outros estudos de otimização do sistema. Experimentos foram realizados objetivando avaliar o efeito do potencial de deposição do zinco e os resultados são apresentados na Figura 19. A figura apresenta os sinais analíticos obtidos para injeções no sistema BIA de 1000 µL sob velocidade de injeção de 28 µL s⁻¹ de uma solução padrão contendo 100 µg L⁻¹ de zinco preparada em solução hidroetanólica (95% v/v de etanol) acidificada com 1% (v/v) de HNO₃. As injeções foram feitas diretamente em um eletrodo de ouro (EAu) imerso na célula BIA contendo o eletrólito otimizado. O potencial e o tempo de deposição (Figuras 19 e 20, respectivamente) foram avaliados baseando-se em maiores respostas analíticas de zinco.

Figura 19: Estudos para otimização do potencial de deposição (-1000 a -750 mV) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) acidificado com 1% (v/v) de HNO_3 contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. Condições experimentais: $1000 \mu\text{L}$ (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); 90 s (tempo de deposição); tampão Britton-Robinson pH 7 (eletrólito suporte).

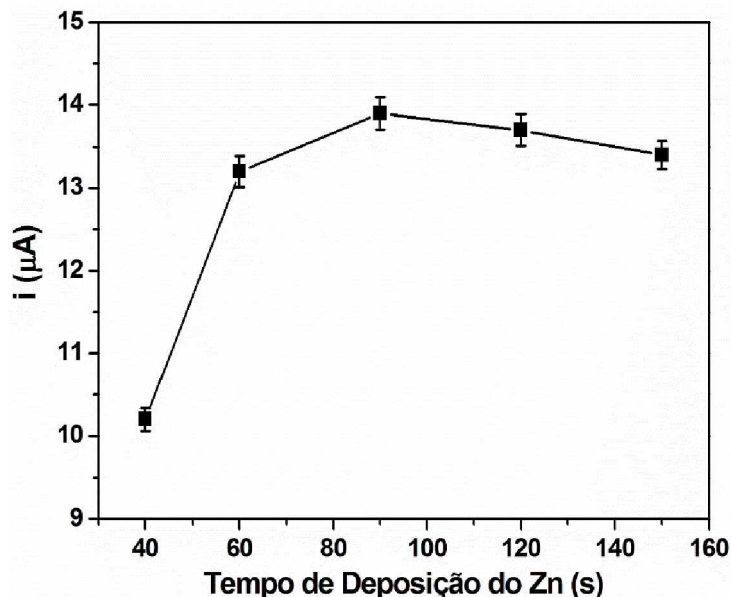


Fonte: Próprio autor.

A variação do potencial de deposição (Figura 19) revela que as maiores correntes de pico para o zinco foram obtidas entre os potenciais de deposição -850 e -950 mV. O potencial de -900 mV foi selecionado a fim de obter a maior resposta analítica em testes subsequentes. A resposta analítica em potenciais mais negativos foi provavelmente afetada pela evolução de hidrogênio.

Prosseguindo os estudos para otimização do método, o tempo de deposição foi investigado como apresentado na Figura 20. As respostas apresentadas foram obtidas para injeções de $1000 \mu\text{L}$ sob velocidade de injeção de $28 \mu\text{L s}^{-1}$ de uma solução padrão contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco preparada em solução hidroetanólica (95% v/v de etanol) acidificada com 1% (v/v) de HNO_3 .

Figura 20: Estudos para otimização do tempo de deposição (45 a 150 s) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. Condições experimentais: $1000 \mu\text{L}$ (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); -900 mV (potencial de deposição); tampão Britton-Robinson pH 7 (eletrólito suporte).

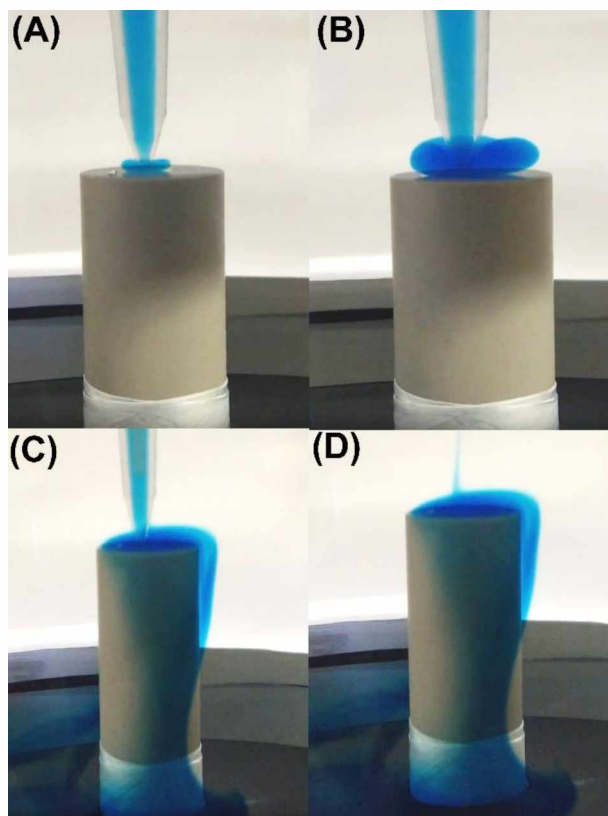


Fonte: Próprio autor.

O tempo de deposição foi variado para se investigar se a detectabilidade é reforçada com um tempo de deposição maior. Observou-se que o sinal analítico aumentou significativamente entre 45 e 90 s, tornando-se praticamente constante a partir de 120 s, como apresentado na Figura 20.

Sob a configuração convencional, o analito é constantemente transferido para o eletrodo de trabalho durante a etapa de deposição através da ação de uma barra magnética. Já no sistema BIA, a transferência de massa é feita com o auxílio de uma micropipeta. O mecanismo de injeção na célula BIA é demonstrado na Figura 21 (A-D). Os testes foram conduzidos utilizando um corante denominado azul de metileno, como solução exemplo, para melhorar a visualização dos fenômenos envolvidos.

Figura 21: Mecanismo de injeção no sistema BIA para análises por redissolução, onde em (A): início da injeção; (B) após 5 s de injeção; (C) após 35 s de injeção; (D) após 40 s do início da injeção. Condições experimentais: 1000 μL (volume injetado); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção).

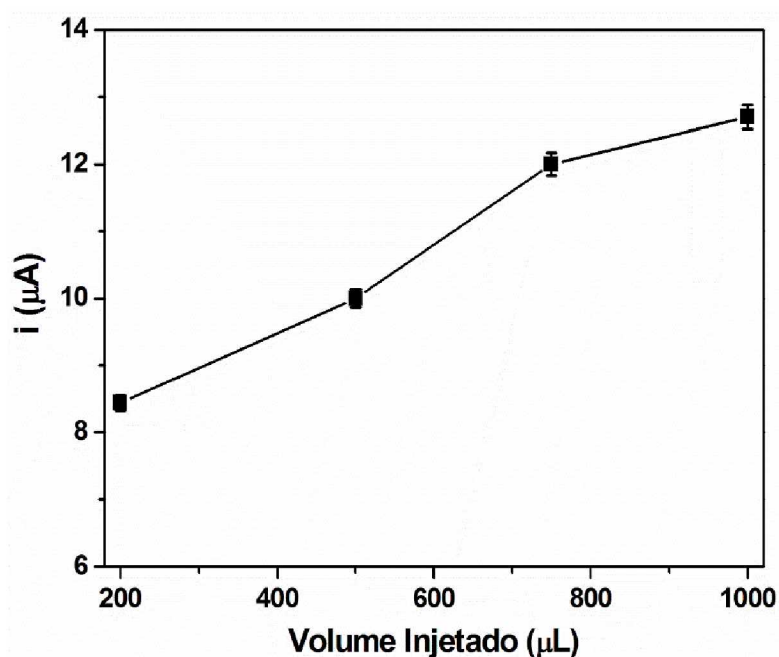


Fonte: Próprio autor.

Nas Figuras 21A e 21B, observa-se o mecanismo inicial e após 5 s da injeção começar, onde nota-se claramente a formação de uma zona de solução (“azulada”) na superfície do eletrodo. A solução/amostra é forçada para o eletrodo de trabalho apenas durante a etapa de injeção por ação da bomba da micropipeta, com tempo aproximado de 35 s (Figura 21C). Após a injeção terminar, a solução/amostra ainda cerca a superfície do eletrodo e o analito ainda pode ser transferido por difusão para o eletrodo durante a etapa de deposição (Figura 21D). Este último fenômeno, explica de forma clara, o motivo do sinal analítico do zinco continuar aumentando mesmo aplicando o potencial de redução após o fim da injeção. Vale ressaltar que o mesmo não foi observado nos estudos para a determinação de chumbo e cádmio em MFE, apenas para cobre. Isto pode ser explicado pelo fato da injeção durar apenas 10 s, o que provavelmente, pode ser elucidado pelo fato da injeção ser mais rápida e uma maior perturbação do sistema, em relação aos estudos com o zinco.

Os parâmetros BIA também foram estudados, visando obter resultados ótimos para a metodologia proposta. A Figura 22 ilustra o comportamento do sistema frente à variação do volume injetado entre 200 e 1000 μL para injeções de soluções hidroetanólicas (95% v/v de etanol + 1% v/v de HNO_3) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco.

Figura 22: Estudos para otimização do volume injetado (200 a 1000 $\mu\text{L s}^{-1}$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. Condições experimentais: - 900 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão Britton-Robinson pH 7 (eletrólito suporte).

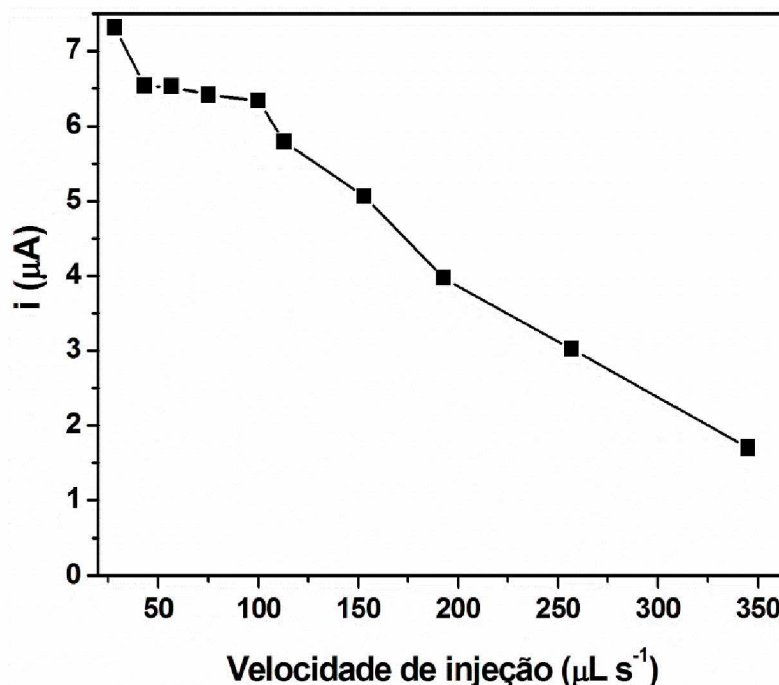


Fonte: Próprio autor.

A resposta analítica para o analito aumentou quase linearmente para volumes injetados na faixa de 200 a 1000 μL , como representado na Figura 22. Resultados similares (aumento do sinal para maiores volumes injetados) foram observados na literatura.^{126,127,128,129,130} Portanto, injeções de 1000 μL de solução padrão hidroetanólica foram selecionadas em experimentos posteriores.

A velocidade de injeção foi também avaliada como ilustrado na Figura 23. A faixa de estudo abrangeu uma gama de velocidade entre 28 e 345 $\mu\text{L s}^{-1}$ definido pela própria micropipeta eletrônica (de 1 a 10, no visor). As soluções padrão injetadas foram preparadas de forma similar ao estudo anterior (95% v/v de etanol + 1% v/v de HNO_3 + 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco).

Figura 23: Estudos para otimização da velocidade da injeção (28 a 345,0 $\mu\text{L s}^{-1}$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. Condições experimentais: - 900 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); tampão Britton-Robinson pH 7 (eletrólito suporte).



Fonte: Próprio autor.

Como pode ser notado na Figura 23, a resposta analítica para o analito diminui com o aumento da velocidade de injeção. O uso de altas velocidades de injeção reduz proporcionalmente o tempo de injeção, ou seja, o tempo de contato do analito com a superfície do eletrodo, o que pode justificar o decréscimo no sinal. Além disto, a escolha de alta velocidade de injeção causa maior dispersão da amostra. Portanto, a menor velocidade de injeção (28 $\mu\text{L s}^{-1}$) foi escolhida para experimentos futuros.

A Tabela 6 sumariza os parâmetros otimizados para as medidas eletroquímicas em meios hidroetanólicos utilizando SWASV associado ao sistema BIA e também ao sistema comparativo (convencional).

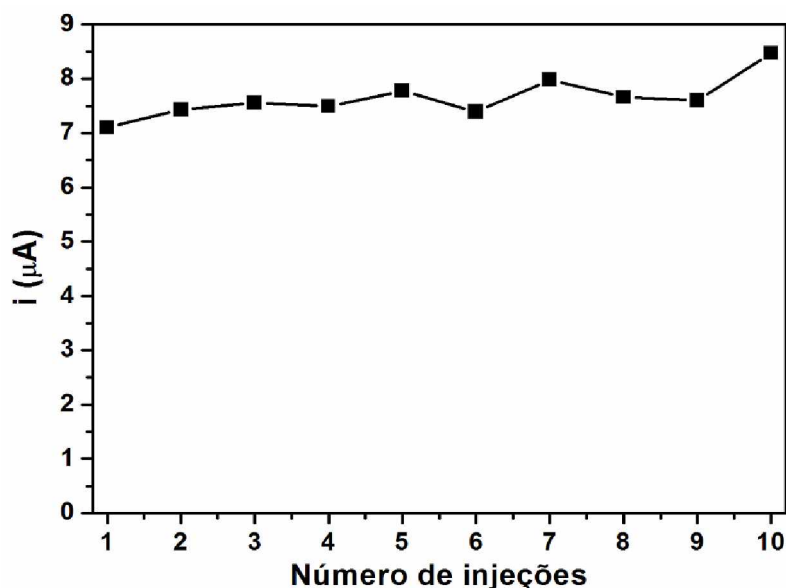
Tabela 6: Parâmetros das medidas por BIA-SWASV para a determinação de zinco em amostras de etanol combustível.

	Parâmetros eletroquímicos	Valor	Agitação externa (280 rpm)
Etapas de condicionamento	Potencial de condicionamento	500 mV	Sim
	Tempo de condicionamento	90 s	
Etapas de deposição	Potencial de deposição	-900 mV	Não
	Tempo de deposição	90 s	
	Velocidade de injeção	28 $\mu\text{L s}^{-1}$	
	Volume injetado	1000 μL	
Condições por SWASV	Potencial inicial	-900 mV	Não
	Potencial final	0mV	
	Degrau de potencial	8 mV	
	Amplitude	50 mV	
	Frequência	50 Hz	

Fonte: Próprio autor.

A Figura 24 demonstra sucessivas medidas BIA-SWASV ($n=10$) para soluções padrão com concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco preparadas em meio hidroetanólico 95% (v/v) usando um eletrodo de disco de ouro imerso em tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7) na célula BIA (configuração *wall-jet*).

Figura 24: Estudos de repetitividade (n = 10) para injeções de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco conduzidos utilizando o sistema BIA (com eletrodo de disco de ouro como eletrodo de trabalho) na presença de 95% de etanol. Condições experimentais: -900 mV (potencial de deposição); 90s (tempo de deposição); $1000 \mu\text{L}$ (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão BR pH 7 (eletrólito suporte). Condições de SWASV: 8 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).



Fonte: Próprio autor.

Determinações por BIA-SWASV de zinco em soluções contendo 95% (v/v) de etanol apresentaram respostas estáveis para injeções sucessivas no sistema BIA. Baixo valor de desvio padrão relativo (DPR) (2,9%; n = 10) foi obtido. Na obtenção de sinais mais estáveis para injeções de soluções padrão hidroetanólicas, uma eficiente limpeza da superfície de ouro do eletrodo de trabalho foi necessária. A aplicação de uma etapa de condicionamento (+500 mV por 90 s) sob agitação fornecida por um agitador externo acoplado à célula BIA foi a condição otimizada. Tempos inferiores a 90 s de condicionamento, não resultaram em uma limpeza eficiente do eletrodo (sinal de Zn aumentava indicando efeito de memória).

Após as otimizações das condições BIA-SWASV, um estudo de interferência foi realizado usando diferentes proporções de interferente/zinco (1:1 e 10:1). Com intuito de avaliar possíveis interferentes presentes em distintas amostras de etanol combustível, estudos de interferência foram realizados com diferentes íons. A resposta de zinco com concentração igual $100 \mu\text{g L}^{-1}$ foi avaliada na presença e na ausência de As(III), Cd(II),

Cr(III), Cu(II), Hg(II), Mn(II), Ni(II), e Pb(II), que são possíveis contaminantes inorgânicos encontrados em amostras de etanol combustível^{1,66,70,73,87,94,140}.

Com intuito de sumarizar todos os testes realizados com diferentes interferentes, a Tabela 7 sintetiza os resultados baseando-se nos valores de recuperação da resposta de zinco.

Tabela 7: Efeito da interferência de As(III), Cd(II), Cr(III), Cu(II), Hg(II), Mn(II), Ni(II) e Pb(II) na recuperação do sinal analítico de 100 µg L⁻¹ de zinco.

Espécies Interferentes	Espécie interferente/zinco	Recuperação do sinal analítico (%)
As(III)	1:1	102 ± 9
	10:1	113 ± 6
Cádmio(II)	1:1	94 ± 3
	10:1	57 ± 1
Cr(III)	1:1	100 ± 3
	10:1	95 ± 5
Cobre(II)	1:1	98 ± 1
	10:1	76 ± 1
Mercúrio(II)	1:1	79 ± 9
	10:1	40 ± 6
Mn(II)	1:1	100 ± 3
	10:1	98 ± 1
Ni(II)	1:1	100 ± 3
	10:1	90 ± 5
Chumbo(II)	1:1	74 ± 1
	10:1	40 ± 1

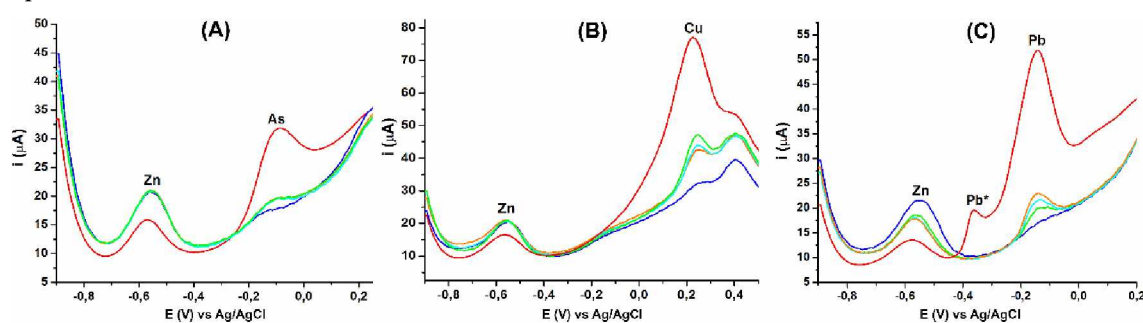
Fonte: Próprio autor.

Não foi observada interferência no pico de redissolução do zinco na presença de As(II), Cr(III), Mn(II) e Ni(II) nas proporções de concentração das espécies

interferentes/Zn (II) 1:1 e 10:1. No entanto, uma redução significativa do potencial de pico de redissolução do zinco foi verificado na presença de Cd(II), Cu(II), Hg(II) e Pb(II) na proporção de concentração 10:1 espécie interferente/zinco e também na presença de Hg(II) e Pb(II) na proporção de 1:1. Trabalhos anteriores têm demonstrado sinais ASV para Mn(II) ocorrendo em -0,93 V usando um microeletrodo de ouro, enquanto o sinal ASV para zinco ocorre por volta de -0,5 V sob condições similares ⁹⁵. Somente desta forma como descrito anteriormente, a interferência de Mn(II) no pico do zinco é negligenciável como esperado. Os metais Cr(III) e Ni(II) não acumulam na superfície de ouro, o que pode explicar a ausência de interferência dessas duas espécies.

O decréscimo no sinal do zinco é provavelmente devido ao fato da deposição concomitante das espécies metálicas interferentes durante as medidas BIA-SWASV, as quais neste caso são: Cd(II), Cu(II), Hg(II) e Pb(II). De fato, as medidas BIA-SWASV revelaram picos de redissolução para Cu(II) e Pb(II), mas também para As(III) (quando a janela de potencial em regiões mais positivas foi explorada). A Figura 25 mostra as respostas BIA-SWASV obtidas para o estudo de interferência apresentado na Tabela 7 (As (III), Cu (II) e Pb (II)).

Figura 25: Medidas BIA-SWASV para injeções de soluções hidroetanólicas (95% v/v) acidificadas com HNO₃ 1% v/v contendo 100 µg L⁻¹ de Zn (curva azul) na presença de 100 µg L⁻¹ de (A) As(III), (B) Cu(II) e (C) Pb(II) (injeções em triplicata correspondem às curvas em alarajando, ciano e verde) e 1000 µg L⁻¹ (curvas em vermelho). Condições experimentais apresentadas na Tabela 5.



Fonte: Próprio autor.

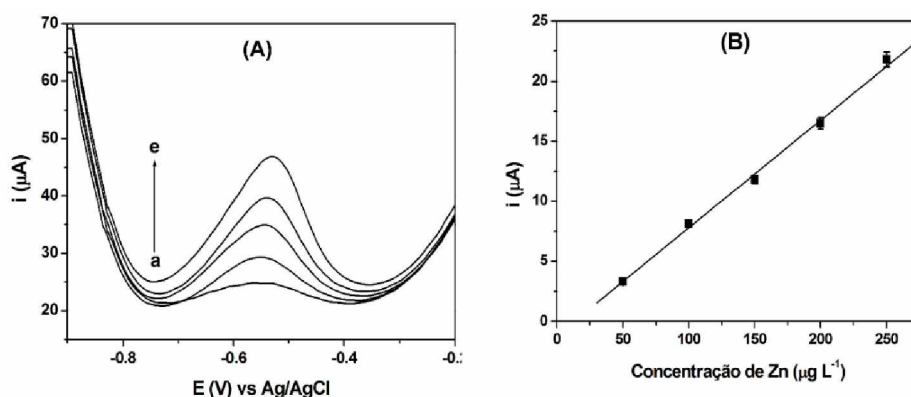
A ausência de sinais de redissolução de Cd(II) e Hg(II) pode ser explicada pela baixa sensibilidade na detecção de sinais de Cd(II) neste eletrodo de trabalho¹⁴¹ e pelo fato da deposição do Hg(II) ser irreversível em eletrodo de ouro (amalgamação).¹⁴² Baseando-se no constante aumento da corrente nos picos de redissolução, observa-se forte

adsorção de Hg(II) após medições sucessivas, e o mesmo é observado para Pb(II) e Cu(II), como observado na Figura 25. O constante aumento na corrente indica que Pb(II) e Cu(II) são parcialmente retidos na superfície de ouro mesmo após o processo de redissolução e também considerando a etapa de condicionamento executada sob agitação (condições BIA-ASV como na Tabela 6).

Por outro lado, a limpeza do eletrodo de ouro para a eletrodeposição de As(III) foi eficiente sob condições similares. A interferência no pico de redissolução do zinco foi observada principalmente na presença de Hg(II) e Pb(II), confirmado por testes de adição e recuperação em etanol combustível. O uso de uma curva de calibração externa poderia comprometer a exatidão do método. Além disso, é importante destacar que nenhum sinal foi observado na presença de todas as espécies interferentes na região de redissolução do pico do zinco, portanto a determinação do metal em amostras de etanol combustível pode ser realizada na presença das espécies interferentes estudadas utilizando o método de adição de padrão.

O sistema BIA-SWASV proposto foi avaliado frente aos estudos conduzidos para encontrar a faixa linear de trabalho que para a determinação zinco. Uma curva analítica foi construída a partir de injeções de soluções preparadas em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) com concentrações crescentes (50 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$) de zinco como apresentado na Figura 26.

Figura 26: (A) Respostas voltamétricas da faixa linear de trabalho do método BIA-SWASV conduzido a partir de injeções de soluções preparadas em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) com concentrações crescentes (a – e: 50 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$) de zinco ($R = 0,998$). Condições experimentais: -900 mV (potencial de deposição); 90s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão BR pH 7 (eletrólito suporte). Condições SWASV: 8 mV (degrau de potencial); 50 mV (amplitude); 50 Hz (frequência).

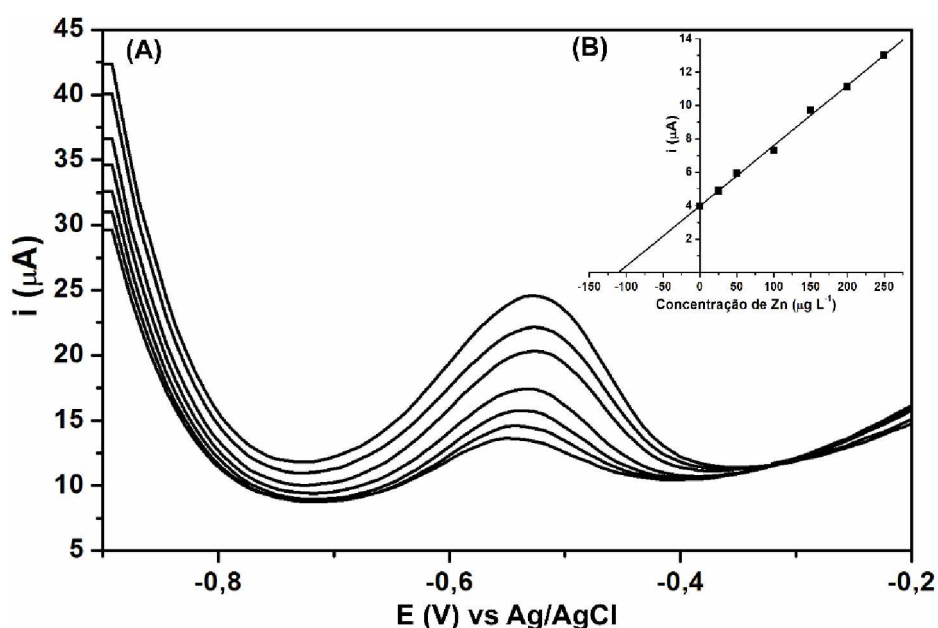


Fonte: Próprio autor.

Como pode ser observado na Figura 26, um comportamento linear com bom coeficiente de correlação ($>0,99$) foi observado de 50 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco, com valor de coeficiente angular igual a 0,085 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$. O valor do LD sob condições otimizadas foi de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($\text{LD} = 3 \text{ DPR/S}$, no qual DPR é o desvio padrão do branco no potencial de pico do zinco e S é a respectiva sensibilidade), calculado a partir da curva apresentada na Figura 31B.

O método BIA-SWASV foi aplicado em amostras fortificadas de etanol combustível sob condições otimizadas. A Figura 27 apresenta respostas típicas BIA-SWASV para injeções de 1000 μL de amostra de etanol combustível acidificada com 1% v/v de HNO_3 antes (a) e após a adição de (b) 25; (c) 50; (d) 100; (e) 150; (f) 200 e (g) 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco e as respectivas curvas de adição de padrão (“*inset*”).

Figura 27: (A) Medidas obtidas pelo sistema BIA-SWASV para análise de etanol combustível antes (a) e após adição de (b) 25; (c) 50; (d) 100; (e) 150; (f) 200 e (g) 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. (B) Respectiva curva de adição de padrão. Condições experimentais como na Tabela 5.



Fonte: Próprio autor.

O desempenho do método proposto foi avaliado pela análise de quatro amostras de etanol combustível antes e após a dopagem com zinco. A Tabela 8 apresenta os resultados de concentração encontrados para zinco em amostras de etanol combustível obtidas de diferentes postos de combustível locais pelo método BIA-SWASV e os valores de recuperação para amostras fortificadas.

Tabela 8: Valores de recuperação para amostras fortificadas e concentrações de zinco encontradas em amostras de etanol combustível pelo método proposto.

Amostras	Zinco			
	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	120 ± 9	25	142 ± 6	98 ± 4
2	104 ± 2	25	126 ± 3	98 ± 3
3	43 ± 1	25	65 ± 2	96 ± 3
4	58 ± 9	50	110 ± 16	102 ± 14

Fonte: Próprio autor.

As concentrações de zinco encontradas em diferentes amostras de etanol combustível variaram de 43 a 120 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os valores de recuperação ficaram entre 96 a 102%. Houve a necessidade do polimento eletrodo de ouro antes da análise de uma nova amostra de etanol combustível, pois, constatou-se através das medidas do branco, resíduos dos produtos de oxidação das amostras contendo os contaminantes metálicos.

A Tabela 9 apresenta um resumo das características analíticas do método proposto nesta tese em comparação a trabalhos encontrados na literatura que analisam (individualmente ou de forma simultânea a outros metais) zinco em etanol combustível.

Tabela 9: Comparação das características analíticas do método proposto com os estudos da literatura que empregam análise de redissolução eletroquímica para a determinação zinco em etanol combustível.

Eletrodo	Analito (s)	Técnica	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	t_{dep} (min)	Ref.
MFE	Zn	LSASV	17	5	80
MFE	Zn/Cu/Pb/Cd	DPASV	0,5/0,5/ 3,3/1,1	10	87
SPE/modified	Zn/Pb/Cu/Hg	DPASV	19,6/13,5/ 1,9/9,3	5	90
ME	Cu/Pb/Cd/Ni/ Co/Zn	DPAdSV	0,5/39,4/3,7/ 0,5/0,8/6,4	0,5	67
GE	Zn	BIA- SWASV	5	1,5	Esta tese

LSASV: do inglês, *Linear Sweep Adsorptive Stripping Voltammetry*; DPASV: do inglês, *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry*; DPAdSV: do inglês, *Differential Pulse Anodic Adsorptive Stripping Voltammetry*; SWASV: do inglês, *Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*; BIA-SWASV: do inglês, *Batch Injection Analysis - Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*; MFE: do inglês, *Mercury Film Electrode*; SPE/modified: do inglês, *Screen Printed Electrode modified with graphite-polyurethane composite*; ME: do inglês, *Mercury Electrode*; EAu: do inglês, *Gold Electrode*.

A partir da análise da Tabela 9, nota-se que o valor de LD obtido empregando-se o método desenvolvido nesta tese (BIA-SWASV) só não é menor do que o trabalho que realiza análise quimiométrica⁶⁷, utilizando baixos valores de tempo de deposição (1,5 min). Conclui-se que, mesmo utilizando baixos tempos de deposição, a determinação de zinco em etanol combustível utilizando BIA-SWASV é um método promissor para aplicação em análises em campo e de rotina de zinco em etanol combustível.

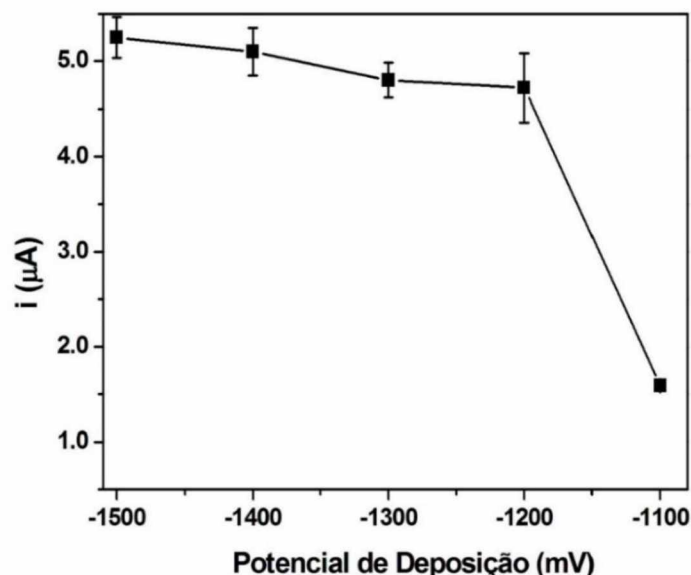
4.3. DETERMINAÇÃO DE ZINCO EM ELETRODO DE FILME DE MERCÚRIO

Após a otimização da metodologia utilizando o sistema BIA-SWASV acoplado a um eletrodo de ouro (como eletrodo de trabalho) para a determinação de zinco em amostras de etanol combustível, alguns testes foram conduzidos visando avaliar o desempenho do método para quantificação do analito em outra superfície. Os testes apresentados nesta seção foram realizados utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de mercúrio (MFE), como eletrodo de trabalho.

Todos os testes conduzidos nesta seção foram realizados utilizando uma janela de potencial entre - 1400 e 400 mV. A etapa de condicionamento foi efetivada aplicando-se um potencial de 0,4 V por 30 s. Os parâmetros de voltametria de onda quadrada utilizados foram: frequência (20 Hz), amplitude (40 mV) e degrau de potencial (4 mV).

A Figura 28 apresenta as respostas voltamétricas do estudo conduzido para obtenção do potencial de deposição ótimo para injeções de 1000 μL de solução hidroetanólica (95% v/v de etanol) acidificada com 1% (v/v) de HNO_3 contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco. O MFE foi imerso em uma célula BIA contendo tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH = 4,5 (eletrólito) sob uma velocidade de injeção de 28 $\mu\text{L s}^{-1}$.

Figura 28: Estudos para otimização do potencial de deposição (-1500 a -1100 mV) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) acidificado com 1% (v/v) de HNO_3 contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco ($n=3$). Condições experimentais: $1000 \mu\text{L}$ (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); 60 s (tempo de deposição); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).

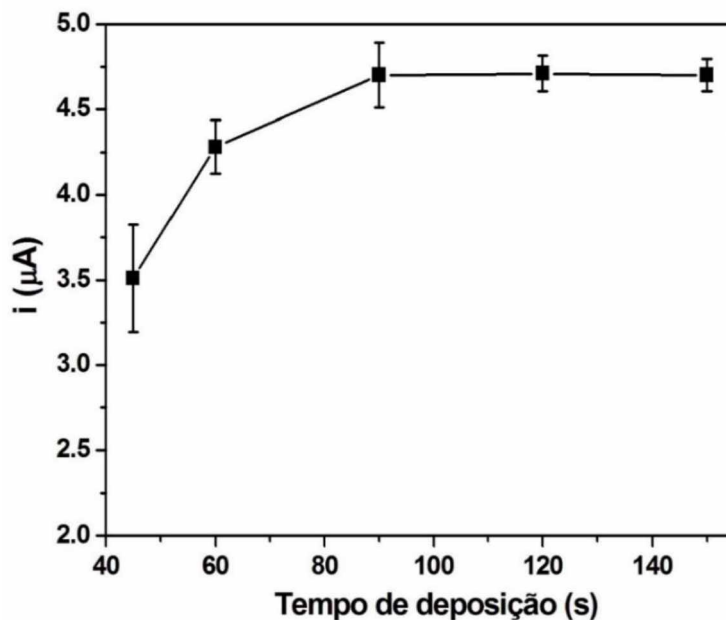


Fonte: Próprio autor.

Avaliando a Figura 28, observa-se claramente um aumento súbito na corrente do analito quando o potencial é alterado de -1100 mV (em torno $1,5 \mu\text{A}$) para -1200 mV (em torno de $5,0 \mu\text{A}$). Em potenciais mais negativos (de -1300 a -1500 mV) observa-se praticamente uma constância no sinal, mas com diferentes desvios entre as injeções realizadas em triplicata (ilustrado pelas barras de desvio). Em -1500 mV, mesmo o sinal sendo maior, não se optou por este potencial de deposição pelo fato do constante despendimento de hidrogênio, o que poderia ocasionar a lixiviação do filme de mercúrio da superfície do eletrodo de trabalho. Logo, optou-se por -1400 mV como potencial ótimo, pois forneceu um sinal de corrente de pico considerável com baixo valor de desvio entre as medidas.

A Figura 29 apresenta as respostas do sistema frente às variações do tempo de deposição. Os registros apresentados foram obtidos para injeções (diretamente ao MFE) de $1000 \mu\text{L}$ sob velocidade de injeção de $28 \mu\text{L s}^{-1}$ de uma solução padrão contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco preparada em solução hidroetanólica (95% v/v de etanol) acidificada com 1% (v/v) de HNO_3 .

Figura 29: Estudos para otimização do tempo de deposição (45 a 150 s) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco ($n=3$). Condições experimentais: $1000 \mu\text{L}$ (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); -1400 mV (potencial de deposição); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).

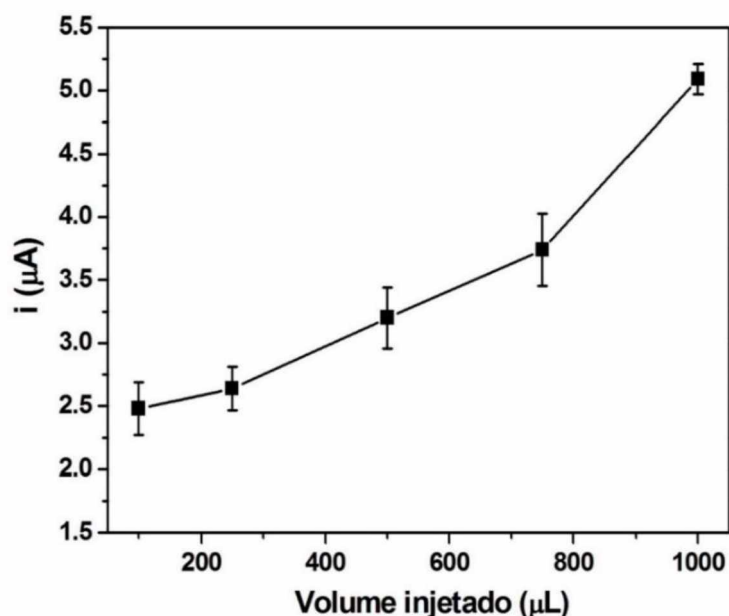


Fonte: Próprio autor.

Como já reportado na literatura, observou-se um aumento da corrente de redissolução com o aumento do tempo de deposição.^{126,127,129,130,140} Nota-se a partir da figura acima um aumento gradual de corrente entre 45 e 90 s. Entretanto, tempos de deposição superiores a 90 s não resultaram em aumento da corrente, assim como foi observado na seção para a determinação de zinco utilizando eletrodo de ouro. Logo, optou-se para testes futuros em 90 s como tempo de deposição.

Utilizando uma ponteira da micropipeta eletrônica com volume de $1000 \mu\text{L}$, diferentes volumes foram injetados (de 100 a $1000 \mu\text{L}$) para avaliar o desempenho do método, como apresentado na Figura 30. Soluções hidroetanólicas (95% v/v de etanol) contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco foram injetadas diretamente ao MFE imerso na célula BIA contendo solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 4,5 como solução eletrólito.

Figura 30: Estudos para otimização do volume injetado (100 a 1000 μL) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco ($n=3$). Condições experimentais: -1400 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).

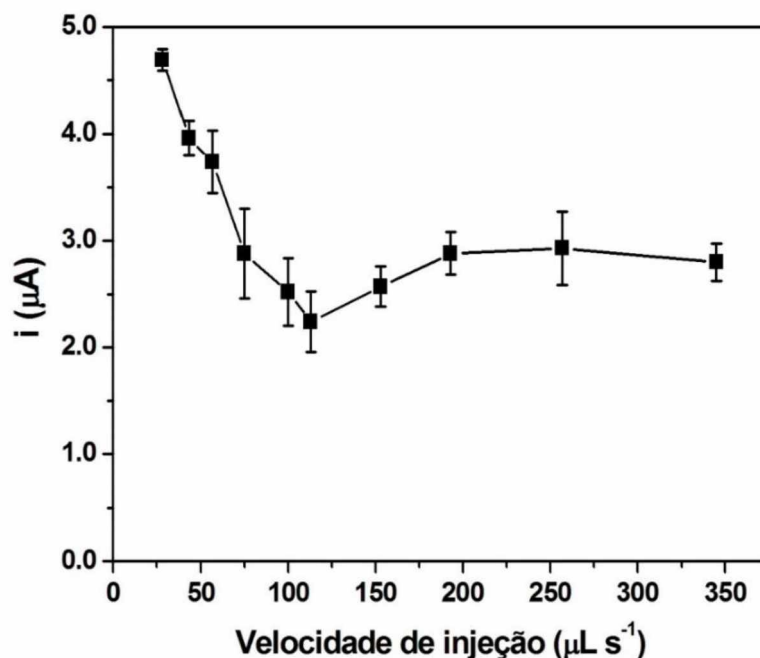


Fonte: Próprio autor.

Nota-se a partir da análise da Figura 30 um aumento gradual da corrente com o aumento do volume injetado mantendo-se fixa a velocidade de injeção em 28 $\mu\text{L s}^{-1}$. Tal comportamento se deve ao fato do maior tempo de residência da solução contendo o analito no momento de injeção para volumes maiores de solução, como já observado anteriormente por outros autores.^{126,127,128,129,130} Logo, o volume de 1000 μL foi selecionado para análises futuras, similarmente aos resultados obtidos utilizando eletrodo de ouro como eletrodo de trabalho.

As respostas analíticas para os estudos de otimização da velocidade de injeção (28 a 345,0 $\mu\text{L s}^{-1}$) são apresentadas na Figura 31. Utilizando o mesmo eletrodo de trabalho, o MFE, soluções hidroetanólicas contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco foram injetadas diretamente na superfície do mesmo que se encontrava imerso em solução contendo tampão acetato 0,1 mol L^{-1} pH = 4,5 (eletrólito).

Figura 31: Estudos para otimização da velocidade da injeção (28 a 345,0 $\mu\text{L s}^{-1}$) em meio hidroetanólico (95% v/v de etanol) contendo 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de zinco ($n=3$). Condições experimentais: -1400 mV (potencial de deposição); 90 s (tempo de deposição); 1000 μL (volume injetado); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).



Fonte: Próprio autor.

Baixos valores de velocidade de injeção permitem maior contato da solução injetada antes da diluição. Observa-se a partir da Figura 31 que não há um comportamento uniforme do sinal de corrente de zinco em função da velocidade injeção. Nota-se uma queda na corrente do primeiro até o sexto ponto (de 28 a 113 $\mu\text{L s}^{-1}$) apresentado no gráfico e depois, um aumento não muito significativo para velocidades maiores que 113 $\mu\text{L s}^{-1}$. Logo, de maneira idêntica aos resultados obtidos para zinco em eletrodo de ouro, a velocidade de 28 $\mu\text{L s}^{-1}$ foi selecionada como condição ótima para este parâmetro, pois apresentou alto valor de corrente em comparação às demais velocidades avaliadas e baixo valor de desvio entre as injeções realizadas em triplicata. A Tabela 10 sumariza as condições otimizadas para a determinação de zinco utilizando como eletrodo de trabalho um MFE.

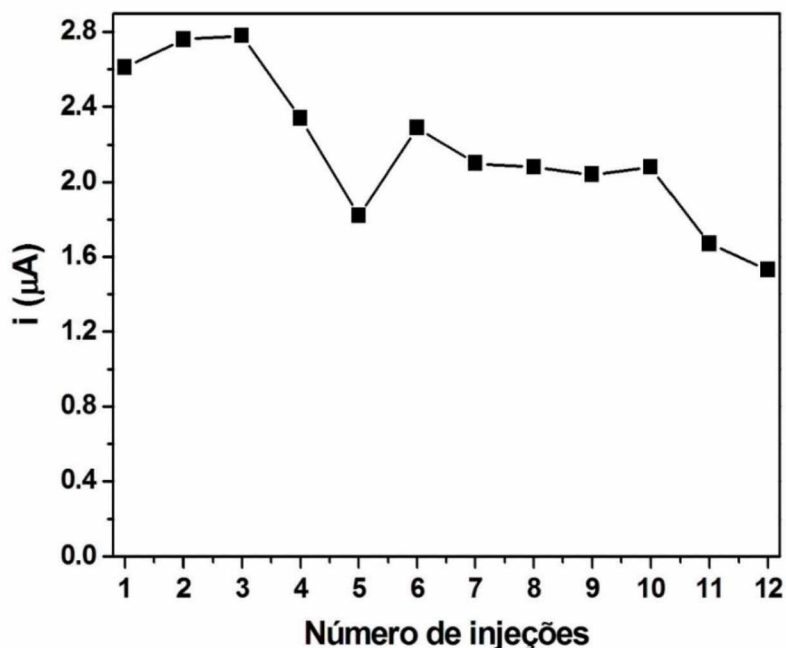
Tabela 10: Parâmetros das medidas por BIA-SWASV para a determinação de zinco utilizando MFE.

	Parâmetros eletroquímicos	Valor
Etapa de condicionamento	Potencial de condicionamento	+400 mV
	Tempo de condicionamento	30 s
	Agitação	Não
Etapa de deposição	Potencial de deposição	- 1400 mV
	Tempo de deposição	90 s
	Velocidade de injeção	28 $\mu\text{L s}^{-1}$
	Volume injetado	1000 μL
Condições por SWASV	Potencial inicial	-1400 mV
	Potencial final	400 mV
	Degrau de potencial	4 mV
	Amplitude	40 mV
	Frequência	20 Hz

Fonte: Próprio autor.

Utilizando as condições otimizadas apresentadas na Tabela 10, um estudo de repetitividade foi conduzido. Injeções sucessivas ($n=12$) de soluções hidroetanólicas contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco foram realizadas diretamente na superfície do MFE utilizando uma célula BIA. As respostas analíticas são apresentadas na Figura 32.

Figura 32: Valores de correntes de pico obtidas para um estudo de repetitividade (n=12) para injeções sucessivas de soluções hidroetanólicas (95% v/v) contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinco utilizando MFE. Condições experimentais: -1400 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 1000 μL (volume injetado); $28 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); tampão acetato pH 4,5 (eletrólito suporte); ET (MFE).



Fonte: Próprio autor.

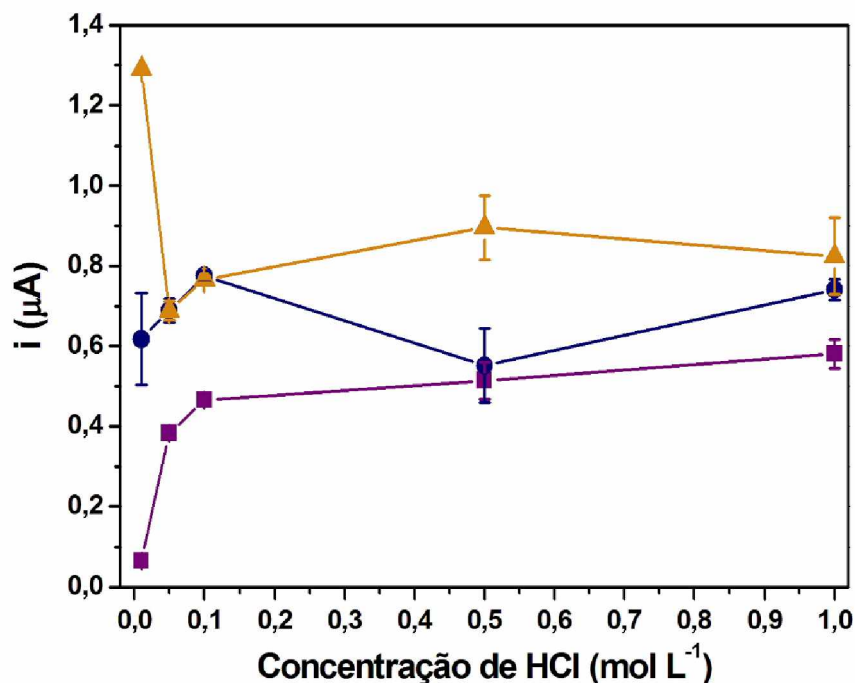
Pode-se observar a partir dos testes conduzidos no sistema BIA acoplado a um MFE para análise de uma solução hidroetanólica contendo zinco, uma boa repetitividade dos sinais com DPR de 5,34% (n=12). Apesar de estes valores estarem levemente superiores aos obtidos utilizando EAU nas mesmas condições (DPR = 2,9% para n=10), verificou-se um contínuo decréscimo do sinal ao longo das medidas sucessivas. Este resultado pode indicar que utilizar um MFE em célula BIA para a determinação de zinco em amostras de etanol combustível pode ser um problema, uma vez que o filme não se mostrou estável empregando soluções padrão contendo o metal.

4.4. DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE CHUMBO, COBRE E MERCÚRIO EM BIODIESEL USANDO ELETRODO IMPRESSO DE OURO

4.4.1. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO BIA-SWASV ACOPLADO A UM SPGE-LT

Inicialmente foi feito um estudo para avaliar o efeito da concentração do eletrólito (HCl) sobre a resposta do SPGE. Os resultados obtidos variando a concentração de HCl de 0,01 a 1,0 mol L⁻¹ para injeções no sistema BIA de uma solução aquosa contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo, cobre e mercúrio são apresentados na Figura 33.

Figura 33: Estudo para otimização da concentração de HCl (0,01 a 0,1 mol L⁻¹) contido no interior da célula BIA-SPGE, conduzidos a partir de injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,01 a 1,0 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 µL (volume injetado); velocidade de injeção (5 µL s⁻¹); tempo de deposição (90 s); potencial de deposição (-550 mV). Condições SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 40 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



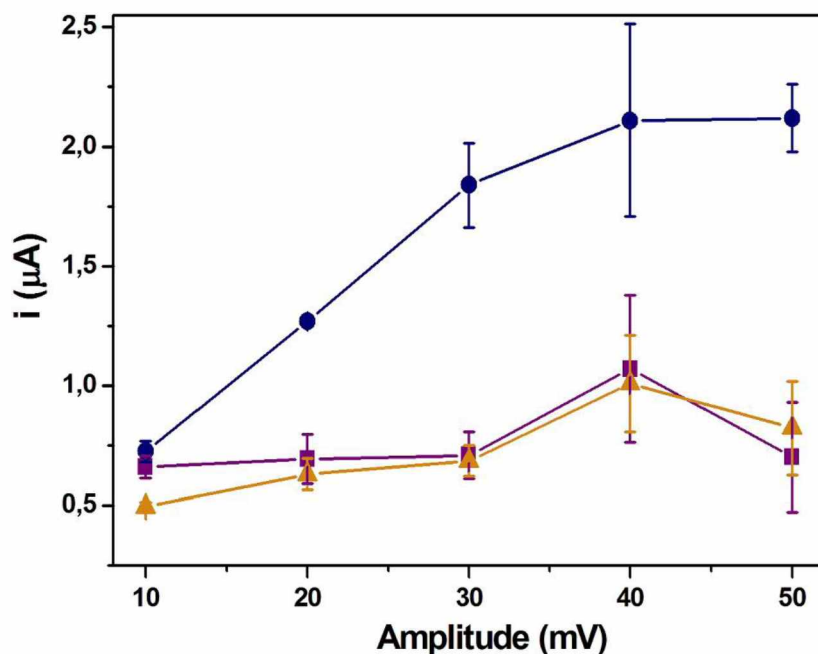
Fonte: Próprio autor.

Como pode ser observado na Figura 33, concentrações de HCl acima de 0,5 mol L⁻¹ provocam o aumento considerável do desvio padrão entre as medidas realizadas em

triplicata e o sinal de corrente para os metais permaneceram praticamente inalterado. Optou-se em utilizar o eletrólito com concentração igual a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, já que um baixo desvio padrão e uma boa resposta analítica foram obtidos.

Os parâmetros de SW foram estudados visando melhor relação entre sinal analítico e desvio padrão. Efetuou-se um estudo variando a amplitude do sistema de 10 a 50 mV para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo, cobre e mercúrio e os resultados obtidos apresentados na Figura 34.

Figura 34: Estudo para otimização da amplitude (10 a 50 mV) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 μL (volume injetado); velocidade de injeção ($5 \text{ } \mu\text{L s}^{-1}$); tempo de deposição (90 s); potencial de deposição (-550 mV); eletrólito (HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 20 Hz (frequência).

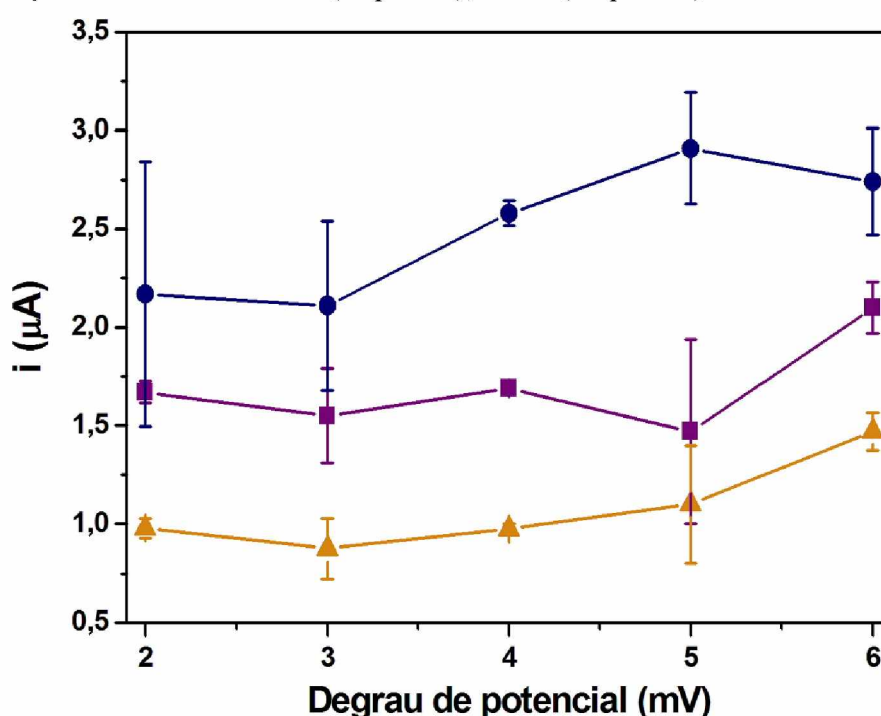


Fonte: Próprio autor.

Um aumento no sinal de corrente foi observado para todos os metais em uma faixa de 10 a 40 mV de amplitude. Nota-se um aumento mais significativo no sinal do cobre, encontrando uma constância em aproximadamente 40 mV. Amplitudes maiores que 30 mV ocasionaram uma distorção no pico de redissolução dos metais, o que provocou um aumento do desvio padrão e redução do sinal de corrente para chumbo e mercúrio. Logo, selecionou-se 30 mV como a amplitude otimizada do sistema, pois um bom sinal de corrente foi obtido para os três metais com baixo desvio padrão entre as medidas.

A Figura 35 apresenta os resultados obtidos para o estudo que visou à otimização do degrau de potencial. Os experimentos foram conduzidos variando o parâmetro numa faixa de 2 a 6 mV para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo, cobre e mercúrio.

Figura 35: Estudo para otimização do degrau de potencial (2 a 6 mV) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 µL (volume injetado); velocidade de injeção (5 µL s⁻¹); tempo de deposição (90 s); potencial de deposição (-550 mV); eletrólito (HCl 0,1 mol L⁻¹). Condições de SWASV: 40 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



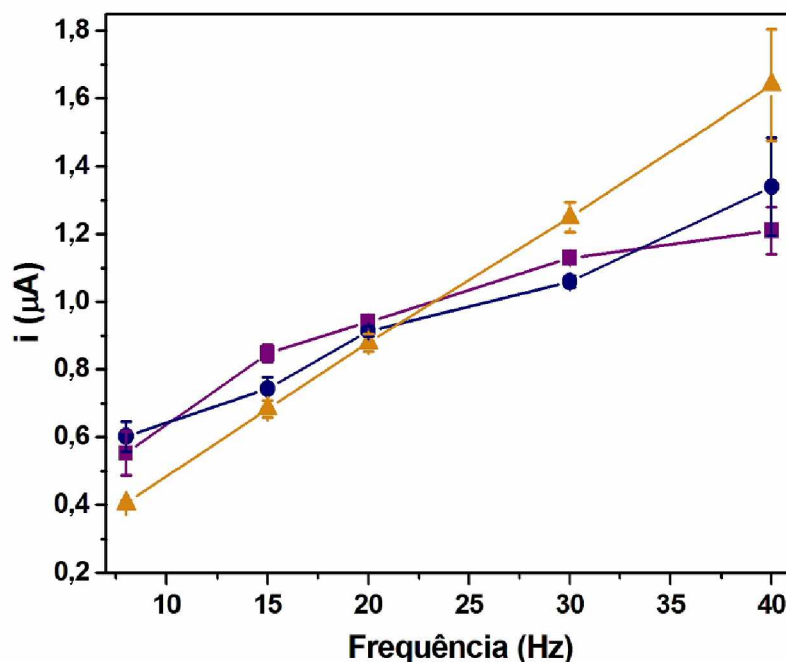
Fonte: Próprio autor.

Para o degrau de potencial de 4 mV, observam-se sinais de corrente de pico consideráveis para os três metais (aproximadamente 1,6, 2,6 e 1,0 µA para chumbo, cobre e mercúrio, respectivamente) e baixos valores de desvio padrão, como pode ser observado pelas barras apresentadas na Figura 35, e este valor escolhido para análises futuras. Degrau de potenciais abaixo de 4 mV apresentaram menores correntes de pico para os metais e acima destes, altos valores de desvio padrão (n=3) entre as medidas confirmados pelas barras de desvio exibidas na Figura 35.

Outro estudo de otimização, o da frequência foi realizado e os resultados apresentados na Figura 36. Variou-se o parâmetro na faixa de 8 a 40 Hz. Para os

experimentos, foram efetivadas injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo, cobre e mercúrio.

Figura 36: Estudo para otimização da frequência (8 a 40 Hz) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 µL (volume injetado); velocidade de injeção (5 µL s⁻¹); tempo de deposição (90 s); potencial de deposição (-550 mV); eletrólito (HCl 0,1 mol L⁻¹). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 40 mV (amplitude).



Fonte: Próprio autor.

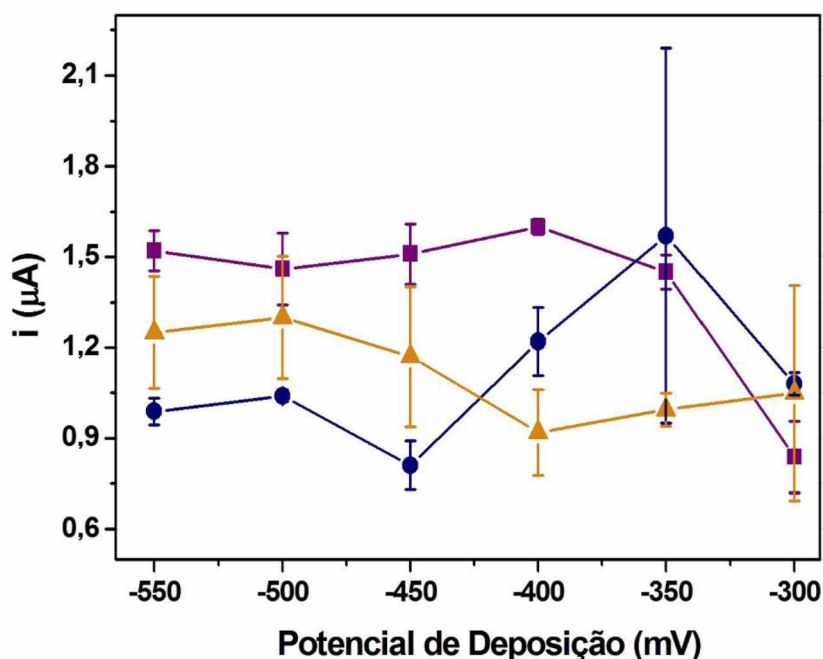
Observa-se um aumento praticamente linear das correntes de pico em função da frequência para chumbo, cobre e mercúrio. Em 40 Hz, nota-se o máximo de corrente para os três metais, mas com altos valores de desvio padrão entre as medidas (representado pelas barras inseridas na Figura 36). Portanto, optou-se em utilizar a frequência de 20 Hz onde há uma boa relação entre o valor da corrente (aproximadamente 0,9 µA para os três metais) e valores negligenciáveis de desvio padrão, além de fornecer razoável velocidade de varredura (80 mV s⁻¹).

Vale salientar que todos os estudos de otimização apresentados anteriormente foram realizados com um único eletrodo impresso de ouro (SPGE). Entretanto, de um estudo para outro, lavou-se o mesmo com água desionizada em abundância.

A Figura 37 apresenta os sinais analíticos do estudo conduzido para obtenção do potencial de deposição ótimo para injeções de 200 µL de soluções aquosas de HCl

0,1 mol L⁻¹ contendo 75 µg L⁻¹ de chumbo, cobre e mercúrio em um SPGE-LT imerso em uma célula BIA contendo HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito) sob uma velocidade de injeção de 5 µL s⁻¹.

Figura 37: Estudo para otimização do potencial de deposição (-550 a -300 mV) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 75 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 µL (volume injetado); velocidade de injeção (5 µL s⁻¹); tempo de deposição (90 s); eletrólito (HCl 0,1 mol L⁻¹). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



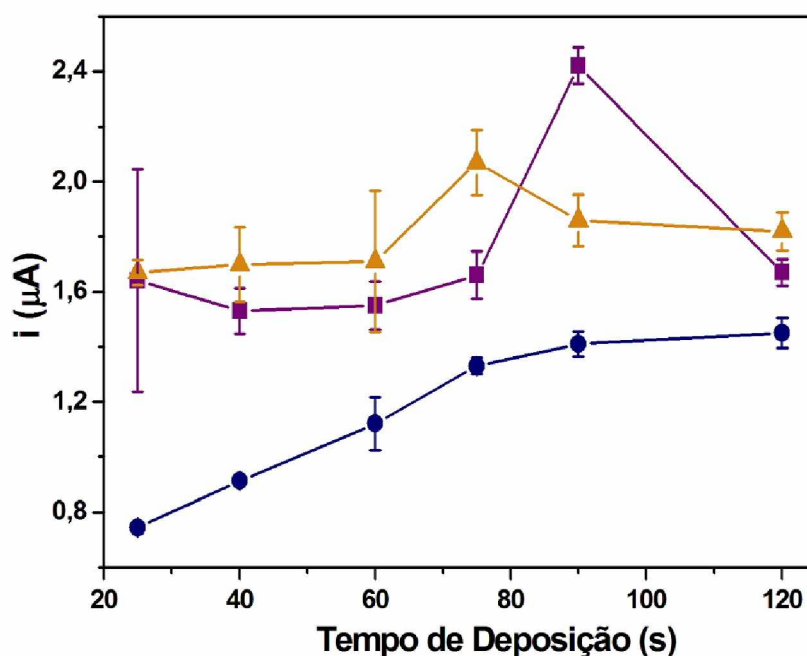
Fonte: Próprio autor.

A variação do potencial de deposição apresentada na Figura 37 mostra que os maiores valores de corrente para chumbo, cobre e mercúrio foram obtidos com aplicação de -400, -350 mV e -500 mV, respectivamente. Embora fosse observada uma maior resposta analítica para o cobre em -350 mV e um decréscimo da resposta quando potenciais mais negativos foram aplicados, os potenciais de deposição mais apropriados foram na faixa entre -500 e -550 mV a fim de obter uma resposta analítica adequada para os três metais em uma mesma corrida e baseada em baixos valores de desvio padrão.

A resposta analítica não teve mudanças significativas quando o potencial de deposição ficou entre -500 e -550 mV. Portanto, qualquer potencial nesta faixa poderia ser selecionado. O potencial de -550 mV foi selecionado para experimentos futuros.

O tempo de deposição foi avaliado baseado na resposta analítica de cada metal. A Figura 38 apresenta sinais analíticos obtidos para injeções no sistema BIA de 200 μL de 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada metal em soluções aquosas de HCl 0,1 mol L^{-1} em uma SPGE-LT imerso na célula BIA contendo uma solução de HCl 0,1 mol L^{-1} sob uma velocidade de injeção de 5 $\mu\text{L s}^{-1}$.

Figura 38: Estudo para otimização do tempo de deposição (25 à 120 s) para injeções em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L^{-1} contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: 200 μL (volume injetado); 5 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); -550 mV (potencial de deposição); HCl 0,1 mol L^{-1} (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



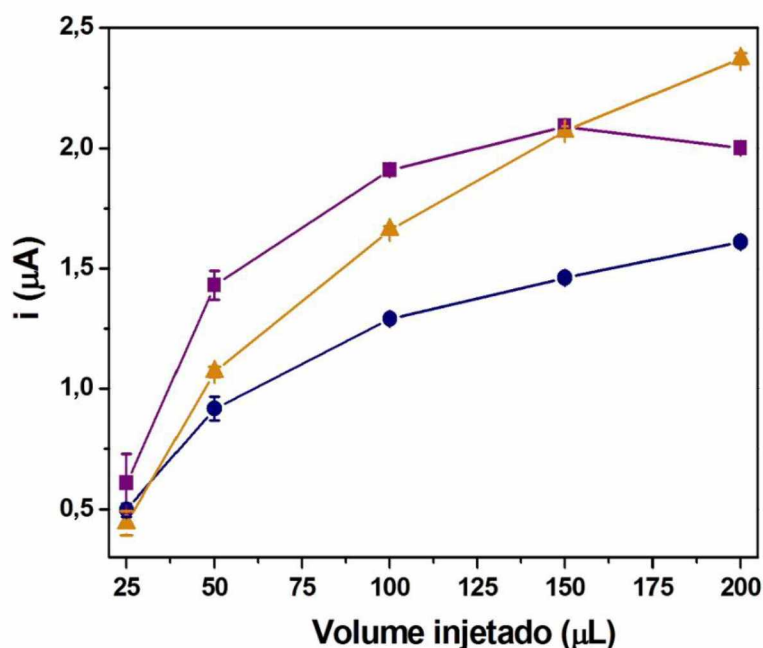
Fonte: Próprio autor.

A Figura 38 ilustra como variam as respostas de corrente para chumbo, cobre e mercúrio com o aumento do tempo de deposição. Como já descrito na literatura, geralmente um aumento no tempo de deposição acarreta em um aumento do sinal analítico.^{127,128,129,130} No entanto, comportamento semelhante foi verificado apenas para cobre neste estudo, em que o sinal analítico aumentou quase linearmente quando o tempo de deposição foi aumentando na escala entre 25 e 75 s. As respostas para chumbo e mercúrio ficaram maiores com o aumento do tempo de deposição na escala de 40 a 90 s e, 40 a 75 s, respectivamente. Aplicando maiores tempos de deposição, 120 s para chumbo e 90 s para mercúrio, um decréscimo no valor de corrente foi observado em ambos os

casos e não se observou qualquer aumento adicional para o cobre, quando o tempo de deposição foi de 120 s. Para análises futuras, 90 s foi selecionado como tempo de deposição ótimo a fim de obter boa detectabilidade e baixos valores de desvio padrão para determinação simultânea dos três metais.

Parâmetros do sistema BIA (volume injetado e velocidade de injeção) foram avaliados baseando-se nas respostas analíticas de cada metal. A Figura 39 apresenta o comportamento das respostas analíticas dos três metais para variações no volume de solução injetada (de 25 a 200 μL). A solução utilizada no estudo continha 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo, cobre e mercúrio preparada em HCl 0,1 mol L^{-1} .

Figura 39: Estudo para otimização do volume injetado (25 a 200 μL) conduzido a partir de injeções em triplicata de uma solução aquosa de HCl 0,1 mol L^{-1} contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 5 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol L^{-1} (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



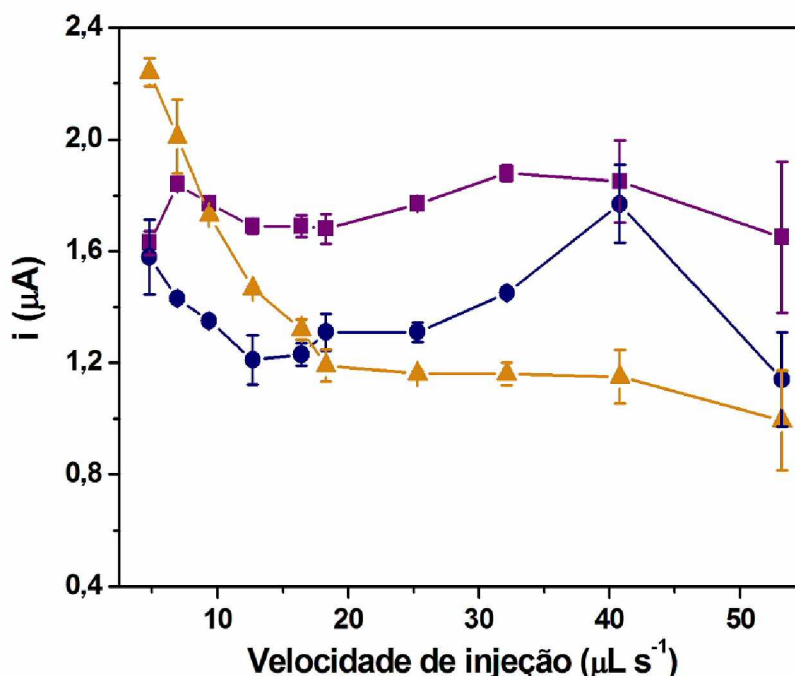
Fonte: Próprio autor.

As respostas analíticas para chumbo, cobre e mercúrio aumentaram para os volumes injetados de 25 a 200 μL como mostrado na Figura 39, usando a menor velocidade de injeção (5 $\mu\text{L s}^{-1}$) permitida pela micropipeta eletrônica. Altos valores de desvio padrão entre as injeções foram encontrados para baixos volumes injetados (por exemplo, para a injeção de 25 μL , os valores de DPR de 20,09% para chumbo, 11,63%

para mercúrio e 5,63% para cobre foram obtidos para $n=3$). Adicionalmente, uma maior resposta analítica foi obtida com a injeção de 200 μL de solução (valor de DPR menor do que 1,1% para os três metais). Portanto, este volume foi selecionado para experimentos futuros. Estes resultados são similares (aumento de corrente com o aumento do volume injetado) a aqueles reportados na literatura^{126,127,128,129,130}, assim como nos estudos prévios empregando eletrodos comerciais mostrados nesta tese.

As respostas analíticas para chumbo, cobre e mercúrio foram avaliadas após variações da velocidade de injeção na faixa entre 5 a 53 $\mu\text{L s}^{-1}$, onde o volume injetado foi mantido constante em 200 μL . A Figura 40 apresenta os sinais analíticos para chumbo, cobre e mercúrio obtidos por injeções de soluções no sistema BIA de 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada metal preparadas em soluções aquosas de HCl 0,1 mol L^{-1} .

Figura 40: Estudo para otimização da velocidade de injeção (5 a 53 $\mu\text{L s}^{-1}$) conduzido a partir de injeções em triplicata de uma solução aquosa de HCl 0,1 mol L^{-1} contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 μL (volume injetado); HCl 0,1 mol L^{-1} (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



Fonte: Próprio autor.

Como pode ser observado e analisado na Figura 40, as respostas analíticas para o aumento da velocidade de injeção não tiveram um comportamento constante. Altos

valores de desvio padrão foram obtidos para valores de velocidade de injeção entre 41 e 53 $\mu\text{L s}^{-1}$. O uso de altos valores de velocidades de injeção proporciona uma redução no tempo de injeção, o que pode justificar o decréscimo do sinal de corrente para os analitos estudados. Portanto, optou-se em usar para os experimentos futuros o valor de 5 $\mu\text{L s}^{-1}$ como velocidade de injeção, o qual proporcionou baixos valores de desvio padrão e bons sinais de corrente para os três metais. Com o uso desta velocidade de injeção, o contato dos analitos com a superfície do eletrodo ocorre durante 40 s, aproximadamente.

A Tabela 11 sumariza os parâmetros otimizados anteriormente utilizando o método BIA-SWASV visando à determinação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel. Com exceção dos parâmetros exclusivos do sistema BIA (volume e velocidade de injeção), os outros também foram os mesmos para os testes conduzidos no sistema convencional de análise.

Tabela 11: Resumo dos parâmetros otimizados (BIA-SWASV) para a determinação de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel.

	Parâmetros eletroquímicos	Valor	Agitação externa
Etapa de condicionamento	Potencial de condicionamento	+550 mV	Sim
	Tempo de condicionamento	90 s	
Etapa de deposição	Potencial de deposição	-550 mV	Não
	Tempo de deposição	90 s	
	Velocidade de injeção	5 $\mu\text{L s}^{-1}$	
	Volume injetado	200 μL	
SWASV	Potencial inicial	-400 mV	Não
	Potencial final	+600 mV	
	Degrau de potencial	4 mV	
	Amplitude	30 mV	
	Frequência	20 Hz	

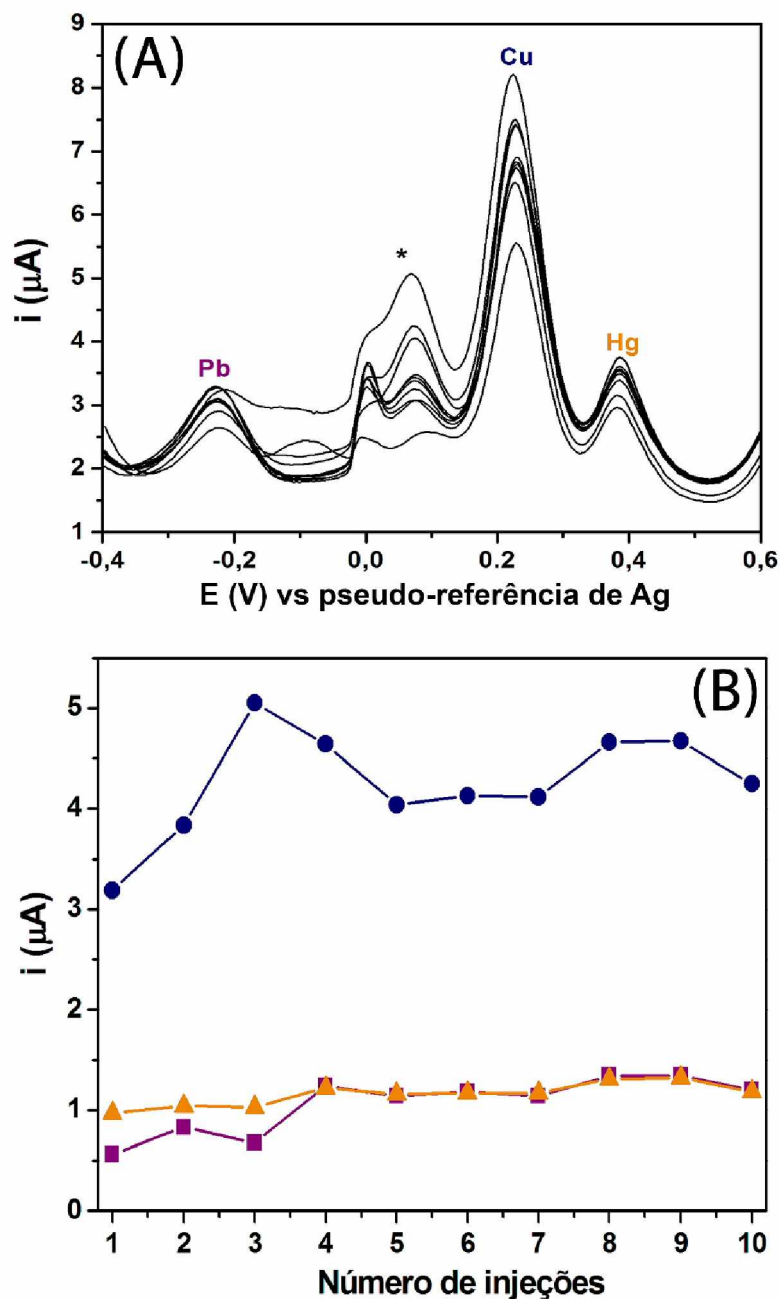
Fonte: Próprio autor.

4.4.2. COMPARAÇÃO ENTRE O SISTEMA BIA-SPGE E O MÉTODO CONVENCIONAL

Com intuito de realizar uma comparação com o método proposto nesta parte da tese, foram conduzidos experimentos utilizando o sistema convencional para análises de redissolução (sistema convencional de análise). Neste sistema, o eletrodo impresso foi conectado ao cabo que realiza a interface com o potenciostato e inserido em uma célula eletroquímica com volume de 10,0 mL de uma solução aquosa contendo $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1} + 0,5\% \text{ v/v de H}_2\text{O}_2$. As soluções contendo os três metais foram preparadas sob as mesmas condições que foram feitas as digestões das amostras de biodiesel (3,0 mL de HCl concentrado e 4,5 mL de H_2O_2 30% (v/v))⁵⁴. Por este procedimento, a determinação simultânea dos três metais usando ambos sistemas, BIA e convencional, foi avaliada.

Diferentes estudos de repetitividade ($n=10$) foram conduzidos sob condições otimizadas na ausência (Figura 41) e na presença (Figura 42) de um agitador externo por meio de injeções sucessivas de soluções aquosas ($\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1} + 0,5\% \text{ v/v de H}_2\text{O}_2$) contendo $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo, cobre e mercúrio. A Figura 46 apresenta o estudo de repetitividade realizado a partir do sistema BIA-SPGE na ausência do sistema de agitação. Neste estudo, desejou-se verificar a eficiência da etapa de condicionamento do sistema ($E_{\text{cond}} = +550 \text{ mV}$ e $t_{\text{cond}} = 90\text{s}$) na ausência de um agitador externo e a resistência do eletrodo impresso ao meio oxidante.

Figura 41: (A) Respostas voltamétricas obtidas para um estudo de repetitividade (n=10) conduzido no sistema BIA-SPGE sem agitação na etapa de condicionamento para injeções sucessivas de soluções aquosas (HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂) contendo 50 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). (B) Picos de correntes em função do número de injeções. Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 µL (volume injetado); 5 µL s⁻¹ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).

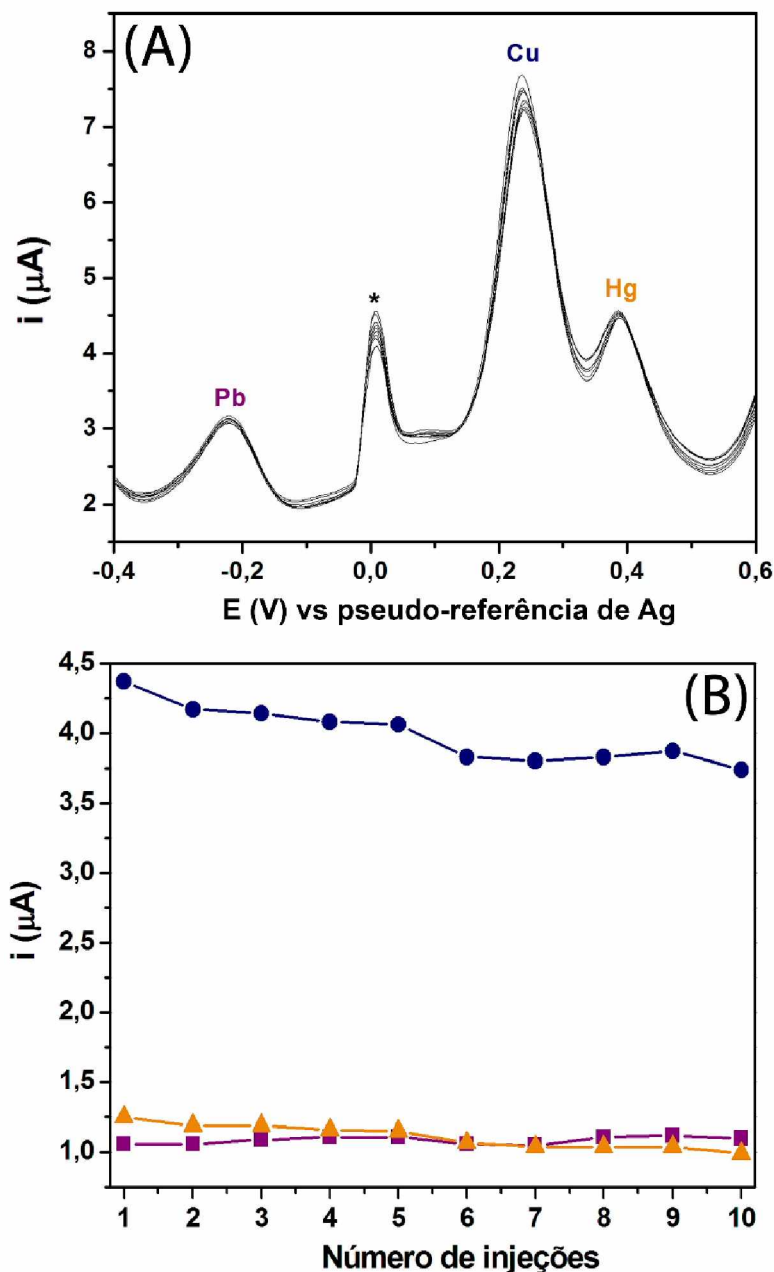


Fonte: Próprio autor.

Como pode ser observado na Figura 41, a repetitividade dos sinais sem a presença de um agitador externo na etapa de condicionamento (limpeza da superfície do eletrodo) entre uma medida e outra foi baixa. Grandes flutuações dos sinais de corrente dos metais foram observadas, particularmente para o cobre. Esta grande variação dos sinais de corrente entre as injeções se deve, provavelmente, à ineficiência da etapa de remoção das espécies reduzidas no momento da deposição. O desvio padrão relativo (DPR) foi de 8,0, 4,0 e 3,0% para chumbo, cobre e mercúrio, respectivamente.

Entretanto, com intuito de melhorar a eficiência da limpeza da superfície eletródica, optou-se em realizar um novo experimento de repetitividade acoplando um agitador mecânico externo à célula BIA. A Figura 42 ilustra as respostas voltamétricas para os três metais (A) e o sinal de corrente dos mesmos em função do número de injeções (B). Neste experimento, a etapa de condicionamento do sistema ($E_{\text{cond}} = 550 \text{ mV}$ e $t_{\text{cond}} = 90 \text{ s}$) foi mantida inalterada em relação ao estudo anterior e um novo SPGE foi utilizado.

Figura 42: (A) Respostas voltamétricas obtidas para um estudo de repetitividade (n=10) conduzido no sistema BIA-SPGE com agitação na etapa de condicionamento para injeções sucessivas de soluções aquosas ($\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1} + 0,5\% \text{ v/v de } \text{H}_2\text{O}_2$) contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). (B) Picos de correntes em função do número de injeções. Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); $200 \mu\text{L}$ (volume injetado); $5 \mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).

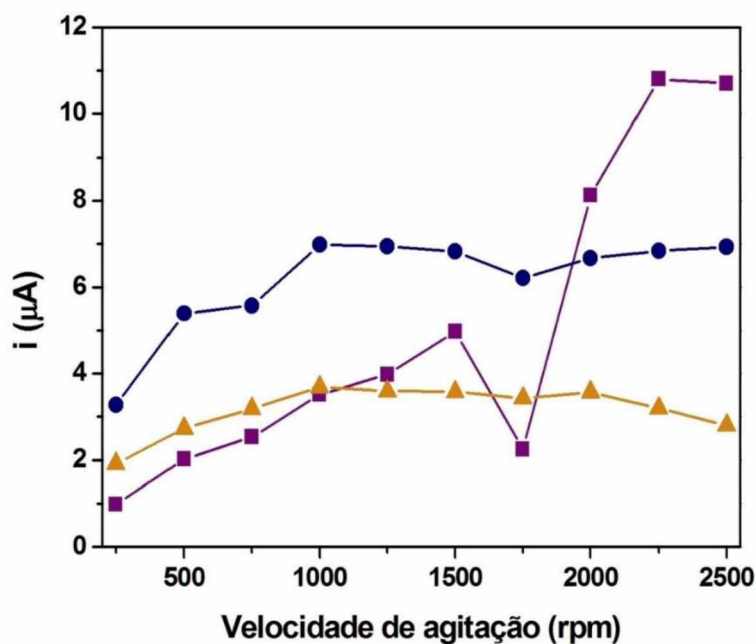


Fonte: Próprio autor.

Pode-se observar a partir dos testes conduzidos no sistema BIA acoplado a um agitador externo (agitação apenas na etapa de condicionamento) uma grande melhora na repetitividade dos sinais e baixos valores de DPR (0,8, 1,6 e 2,4%, para chumbo, cobre e mercúrio, respectivamente). O aperfeiçoamento na repetição dos sinais se dá pelo fato da eficiência da limpeza do eletrodo de trabalho (SPGE) causada pela movimentação da solução do eletrólito contida no interior da célula BIA, o que proporcionou uma melhor precisão ao método se comparado ao sistema sem agitação. Logo, optou-se em utilizar a agitação externa em todos os experimentos futuros que utilizam a célula BIA-SPGE.

As análises voltamétricas utilizando o sistema convencional necessitam de uma agitação (barra magnética) para a realização do transporte de massa dos analitos até à superfície do eletrodo. A Figura 43 ilustra os resultados para os estudos da velocidade de agitação (250 a 2500 rpm) com o uso de agitador e barra magnética conduzidos em sistema convencional. Os testes foram realizados em solução eletrólito (HCl 0,1 mol L⁻¹) na presença de 30 µg L⁻¹ de chumbo, cobre e mercúrio.

Figura 43: Estudos de otimização da velocidade de agitação (250 a 2500 rpm) utilizando o sistema convencional para leituras de 30 µg L⁻¹ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).

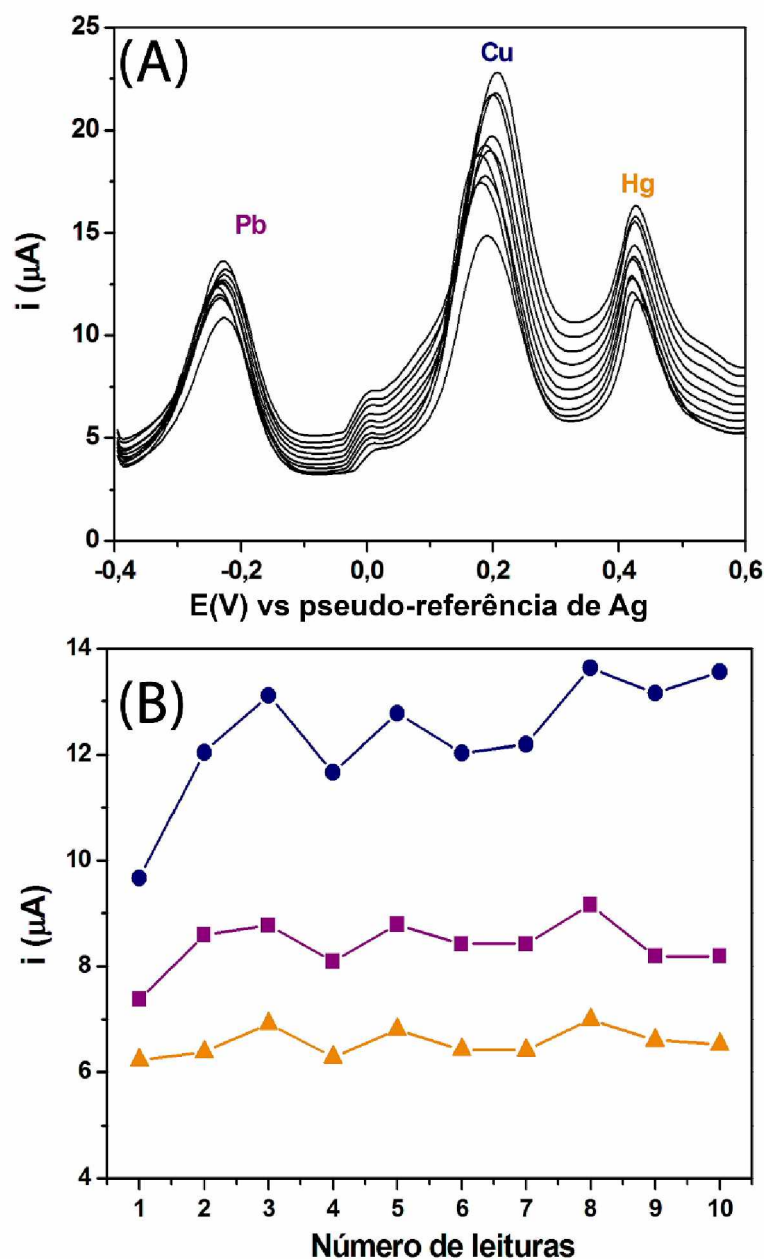


Fonte: Próprio autor.

Verifica-se um comportamento diferente para os três metais frente ao aumento da velocidade de agitação. Para o chumbo, um comportamento praticamente linear é observado na faixa de 250 a 1500 rpm. Entretanto, uma queda no sinal de corrente (1750 rpm) e logo depois um súbito aumento foi observado. O perfil voltamétrico para o sinal de corrente do chumbo foi diferente em relação aos outros metais, pois o sinal tornava-se mais largo (redução da seletividade) com o aumento da velocidade de agitação. Já para cobre e mercúrio, o aumento da corrente foi gradual (melhora no processo de deposição), mas uma leve queda da corrente em altas velocidades foi observada, podendo ser justificada pela limpeza ineficiente da superfície eletródica de uma análise para outra. Portanto, a velocidade de 1000 rpm foi selecionada para as análises seguintes já que, bons sinais de corrente foram obtidos para os três metais simultaneamente, sendo que, os sinais de cobre e mercúrio em velocidades de agitação maiores permaneceram praticamente inalterados.

Com a intenção de simular uma comparação entre o sistema proposto (BIA-SPGE) e o método convencional, experimentos visando comparar as repetitividades dos sistemas foram conduzidos. Dez leituras sucessivas de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo, cobre e mercúrio foram realizadas usando como solução eletrólito ($\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1} + 0,5\% \text{ v/v de H}_2\text{O}_2$), como demonstrado na Figura 44.

Figura 44: (A) Respostas voltamétricas obtidas para um estudo de repetitividade (n=10) para leituras sucessivas de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo (■), cobre (●) e mercúrio (▲) conduzido no sistema convencional utilizando como solução eletrólito HCl 0,1 mol L^{-1} + 0,5% v/v de H_2O_2 (meio em que ocorre a digestão do biodiesel). (B) Picos de correntes em função do número de leituras. Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 1000 rpm (velocidade de agitação); HCl 0,1 mol L^{-1} + 0,5% v/v de H_2O_2 (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



Fonte: Próprio autor.

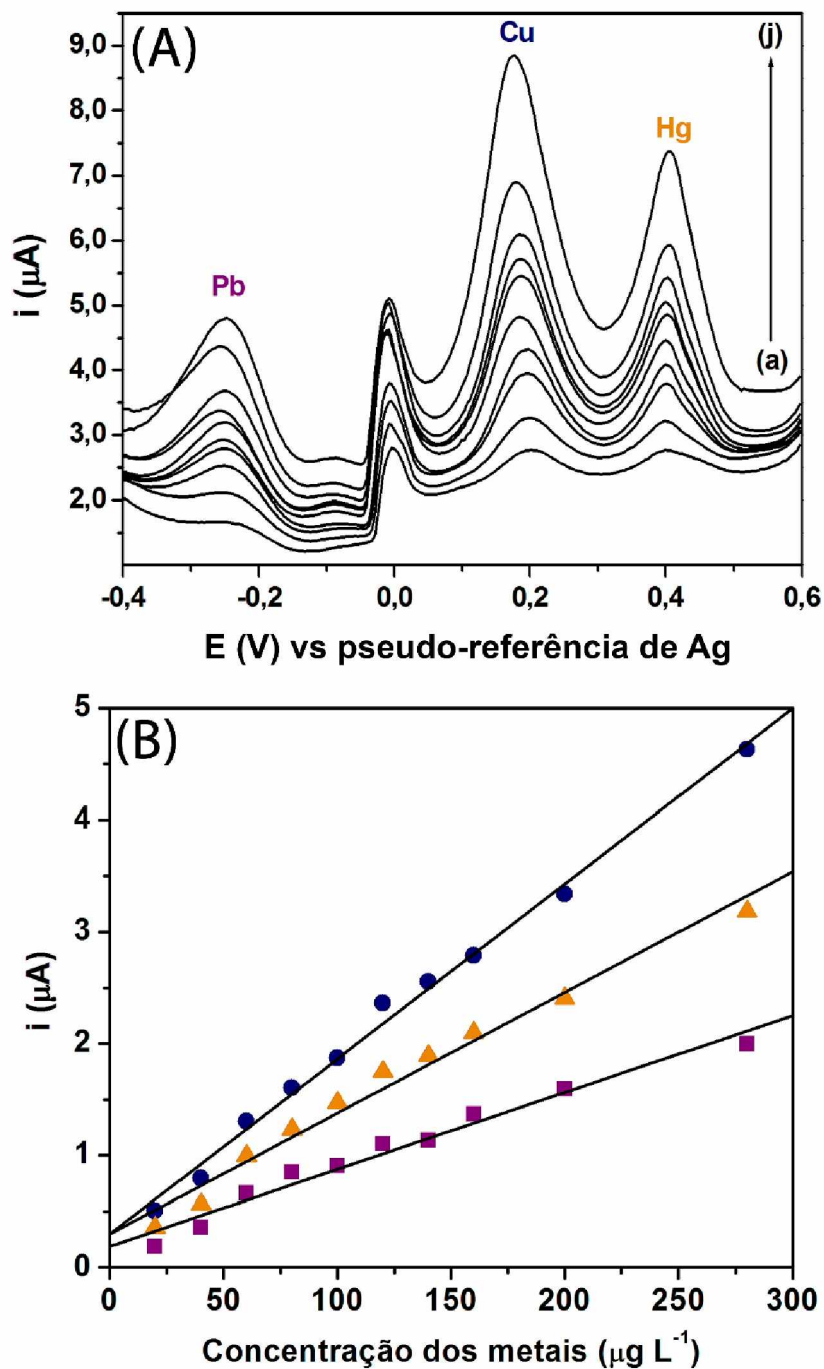
Para o método usando o sistema convencional de análise, observa-se uma boa concordância entre os sinais de corrente para os três metais. Os valores de DPR estão de

acordo com os que foram obtidos utilizando o sistema BIA e estimado em 1,8, 3,0 e 1,3% para chumbo, cobre e mercúrio, respectivamente. Estes valores são comparáveis com os obtidos utilizando o sistema BIA com agitação embora se observe uma flutuação da linha de base; entretanto, este efeito não afetou os valores de DPR para a resposta dos três metais.

Uma comparação de características visuais do eletrodo impresso foi realizada após os estudos de repetitividade utilizando os dois sistemas (BIA-SPGE e convencional). Observou-se que, após o uso no sistema BIA, o eletrodo permanecia praticamente intacto, podendo ser reutilizado em outros experimentos. Entretanto, o uso do SPGE no sistema convencional resultou em danos visíveis nos três eletrodos impressos na tinta condutora dos eletrodos sobre a superfície de cerâmica (ET, ER e EA). Isto pode ser correlacionado à interação da superfície eletródica com o eletrólito utilizado. A presença de HCl e H₂O₂ (reagentes utilizados na digestão das amostras de biodiesel) no sistema convencional provocou danos à tinta impressa no eletrodo de ouro. Já no sistema BIA, o contato destes reagentes com o SPGE ocorre apenas na etapa de deposição (injeção das soluções) e o eletrólito suporte que foi utilizado (HCl 0,1 mol L⁻¹) na célula BIA pode ter auxiliado no processo de limpeza do eletrodo.

O sistema BIA-SPGE proposto foi avaliado frente aos estudos conduzidos para encontrar a faixa linear de trabalho que visou à determinação simultânea de chumbo, cobre e mercúrio. Uma curva analítica foi construída a partir de injeções de soluções aquosas contendo HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂ e concentrações crescentes (20 a 280 µg L⁻¹) dos três metais, como apresentado na Figura 45

Figura 45: (A) Respostas voltamétricas da faixa linear de trabalho do método BIA-SPGE conduzido a partir de injeções de soluções aquosas contendo HCl 0,1 mol L⁻¹ + 0,5% v/v de H₂O₂ e concentrações crescentes (a – j: 20 a 280 µg L⁻¹) de chumbo, cobre e mercúrio. (B) Curva analítica para de chumbo (■; R = 0,985), cobre (●; R = 0,996) e mercúrio (▲; R = 0,990). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 µL (volume injetado); 5 µL s⁻¹ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol L⁻¹ (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).

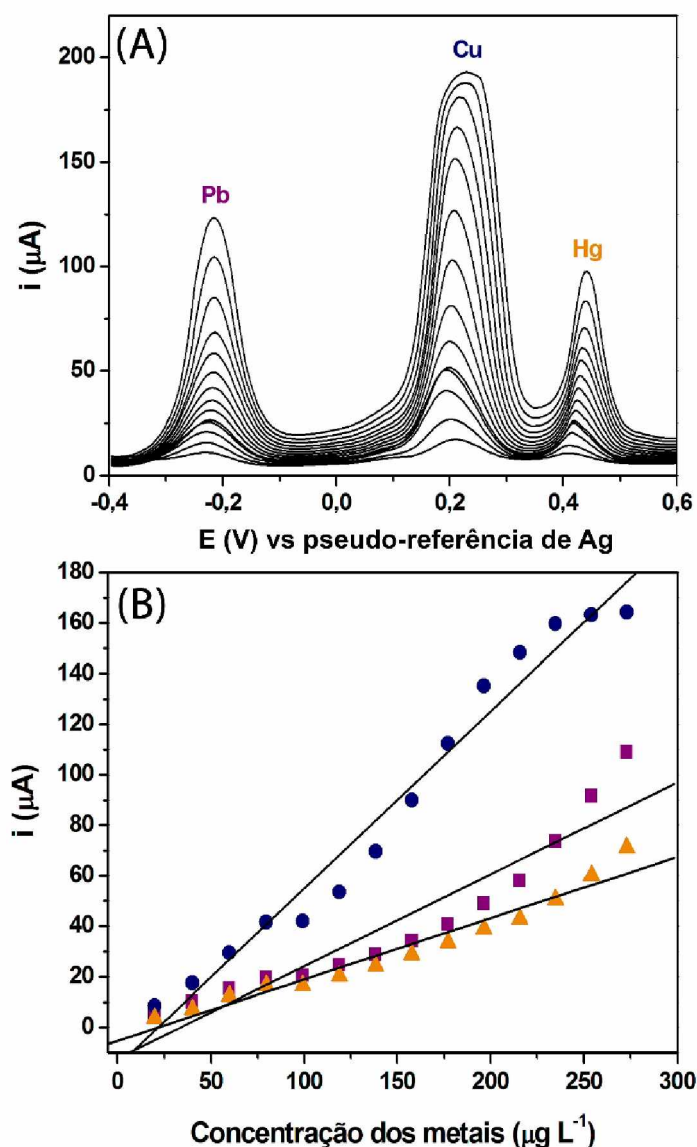


Fonte: Próprio autor.

No que se refere aos estudos apresentados anteriormente, pode ser observada uma adequada linearidade entre os pontos das curvas analíticas para os três metais na faixa de trabalho estudada (20 a 280 $\mu\text{g L}^{-1}$) com LD estimado em 1,00, 0,50 e 0,70 $\mu\text{g L}^{-1}$ (6,0, 3,00 e 4,2 $\mu\text{g g}^{-1}$) para chumbo, cobre e mercúrio, respectivamente. Os valores de LD foram calculados considerando o tempo de deposição otimizado (90 s). A sensibilidade (coeficiente angular) e os valores de R foram estimados em 0,007 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,985 para chumbo, 0,016 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,996 para cobre 0,011 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,990 para mercúrio. Observou-se uma perda de linearidade para os três metais em valores de concentração acima de 280 $\mu\text{g L}^{-1}$, fato que pode estar correlacionado com a alta quantidade de analito depositado na superfície do eletrodo e baixo rendimento na limpeza do mesmo entre as medidas.

Estudos semelhantes ao apresentado anteriormente foram geridos utilizando o sistema convencional. A Figura 46 apresenta os resultados adquiridos para adições crescentes de chumbo, cobre e mercúrio (20 a 275 $\mu\text{g L}^{-1}$) em uma célula eletroquímica de aproximadamente 10,0 mL contendo HCl 0,1 mol L^{-1} + 0,5% v/v de H_2O_2 (eletrólito).

Figura 46: (A) Respostas voltamétricas para o estudo da faixa linear de trabalho utilizando o método convencional conduzido a partir de adições crescentes de soluções contendo chumbo, cobre e mercúrio (a – j: 20 a 280 $\mu\text{g L}^{-1}$). (B) Curvas analíticas para chumbo (■; $R = 0,940$), cobre (●; $R = 0,980$) e mercúrio (▲; $R = 0,970$). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 1000 rpm (velocidade de agitação); HCl 0,1 mol L^{-1} + 0,5% v/v de H_2O_2 (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



Fonte: Próprio autor.

Os resultados da linearidade ($R = 0,940$ para chumbo; $R = 0,980$ para cobre; $R = 0,970$ para mercúrio) obtidos na faixa estudada, que compreende o intervalo entre 20 a 275 $\mu\text{g L}^{-1}$, foram menos expressivos quando comparado ao sistema BIA. Entretanto, o sistema convencional proporcionou maiores valores de sensibilidade para os três metais:

0,364 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$ para chumbo, 0,701 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$ para cobre e 0,242 $\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$ para mercúrio. Tais valores foram 52x (para o chumbo), 44x (para o cobre) e 22x (para o mercúrio) maiores do que os obtidos usando o sistema BIA-SPGE. Este resultado pode ser explicado pelo fato do sistema convencional oferecer uma melhor eficiência (por um tempo maior) no transporte de massa gerado pela agitação da barra magnética na etapa de deposição⁷³ quando comparado à injeção da pipeta eletrônica (sistema BIA). O transporte de massa no sistema BIA ocorre apenas durante a injeção (40 s), enquanto no sistema em batelada convencional o transporte ocorre durante todo o tempo de deposição (90 s). Os valores de LD para o sistema em batelada convencional foram mais baixos quando comparado ao sistema BIA e calculados considerando o tempo de deposição otimizado (90 s): 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ ou 1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ (para chumbo), 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$ ou 0,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ (para cobre) e 0,07 $\mu\text{g L}^{-1}$ ou 1,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ (para mercúrio).

A Tabela 12 sumariza as características analíticas dos sistemas BIA-SPGE e convencional sob condições otimizadas onde se incluem: o coeficiente angular (CA), o limite de detecção (LD), o limite de quantificação (LQ), a faixa linear de trabalho (FLT), a coeficiente correlação (R) e o desvio padrão relativo (DPR).

Tabela 12: Resultado dos parâmetros analíticos para a determinação de chumbo, cobre e mercúrio utilizando o sistema BIA (com agitação externa) e o sistema convencional utilizando um SPGE-LT.

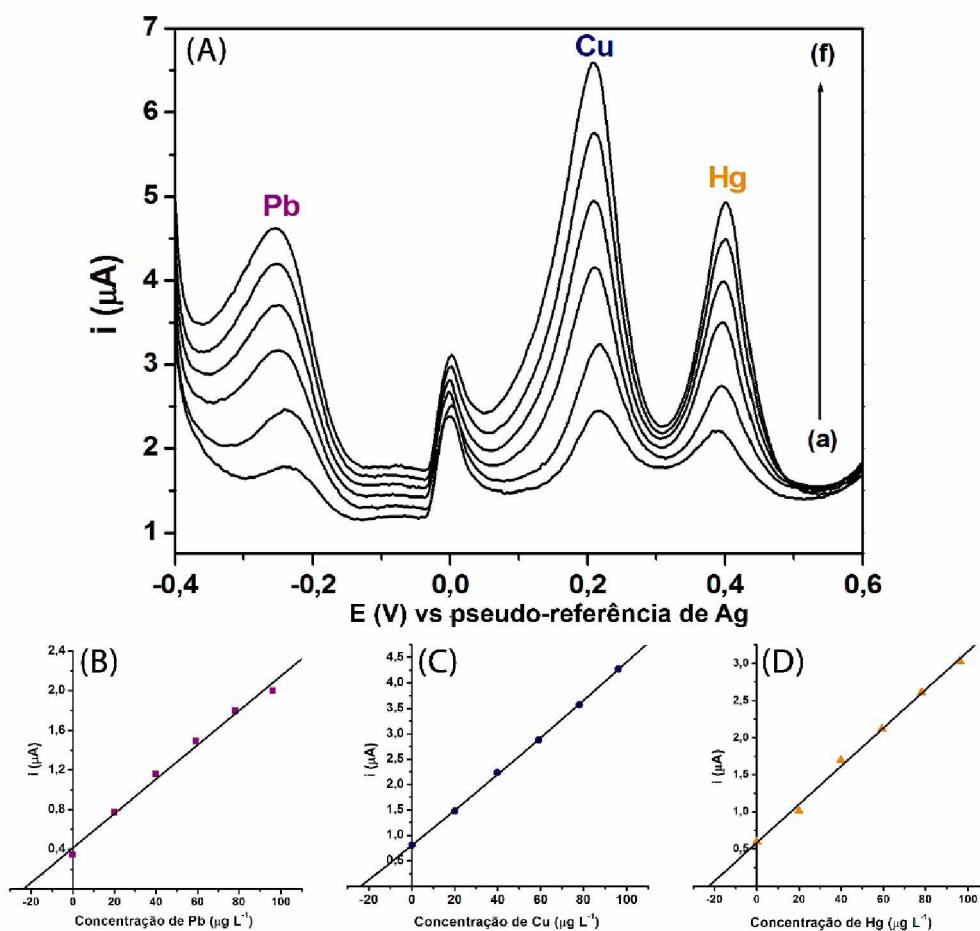
Parâmetros analíticos	Sistema BIA			Sistema Convencional		
	Chumbo	Cobre	Mercúrio	Chumbo	Cobre	Mercúrio
CA ($\mu\text{A}/\mu\text{g L}^{-1}$)	0,007	0,016	0,011	0,364	0,701	0,242
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,0	0,5	0,7	0,05	0,03	0,07
LD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	6,0	3,0	4,2	1,0	0,6	1,4
LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	20,1	10,0	14,1	3,3	2,0	4,7
FLT ($\mu\text{g L}^{-1}$)	20-280	20-280	20-280	20-275	20-275	20-275
R	0,985	0,996	0,990	0,940	0,980	0,970
% DPR	0,8	1,6	2,4	1,8	3,0	1,3
(n = 10)						

Fonte: Próprio autor.

O método BIA-SWASV acoplado a um SPGE foi aplicado à análise de amostras fortificadas de biodiesel (através do método de adição de padrão) após todas as condições

experimentais otimizadas, inclusive o processo de tratamento da amostra (digestão). A Figura 47A apresenta as respostas voltamétricas típicas para injeções de 200 μL de (a) amostra fortificada de biodiesel após digestão, seguida da adição de soluções padrão de chumbo, cobre e mercúrio (b) 20; (c) 39,8; (d) 59,3; (e) 78,1 e (f) 96,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ e as respectivas curvas de adição de padrão (47B, 47C e 47D).

Figura 47: (A) Respostas voltamétricas para a análise de uma amostra digerida de biodiesel (a – amostra fortificada) e amostras fortificadas após a adição de (b) 20,0; (c) 39,8; (d) 59,3; (e) 78,1 e (f) 96,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo, cobre e mercúrio. (B) Curva de adição de padrão para chumbo (■). (C) Curva de adição de padrão para cobre (●). (D) Curva de adição de padrão para mercúrio (▲). Condições experimentais: -550 mV (potencial de deposição); 90 s (potencial de deposição); 200 μL (volume injetado); 5 $\mu\text{L s}^{-1}$ (velocidade de injeção); HCl 0,1 mol L^{-1} (eletrólito). Condições de SWASV: 4 mV (degrau de potencial); 30 mV (amplitude); 20 Hz (frequência).



Fonte: Próprio autor.

Os valores elevados de coeficiente de correlação linear ($>0,99$) foram observados par as curvas de adição de padrão. As concentrações dos metais nas amostras sem fortificação estavam abaixo do LD do método proposto.

O desempenho da metodologia proposta foi avaliado para a análise de três amostras de biodiesel antes e após a adição dos metais em concentração conhecida. A Tabela 13 lista a concentração de chumbo, cobre e mercúrio nas amostras de biodiesel obtidas de diferentes oleaginosas (soja, canola e algodão) sintetizadas no laboratório de produção de biocombustíveis da UFU, que foram fortificadas com $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada metal.

Tabela 13: Valores de recuperação ($n = 3$) para amostras fortificadas e concentrações de chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel (1 – soja; 2 – canola e 3 – algodão) pelo método proposto (BIA-SPGE-LT).

		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Chumbo	Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	20	20	20
	Fortificação ($\mu\text{g g}^{-1}$)	120	120	120
	Recuperação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	21 ± 2	18 ± 3	19 ± 2
	Recuperação ($\mu\text{g g}^{-1}$)	126 ± 15	108 ± 16	114 ± 11
	Recuperação (%)	105 ± 12	90 ± 15	95 ± 10
Cobre	Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	20	20	20
	Fortificação ($\mu\text{g g}^{-1}$)	120	120	120
	Recuperação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	21 ± 3	21 ± 4	22 ± 2
	Recuperação ($\mu\text{g g}^{-1}$)	126 ± 18	126 ± 24	132 ± 13
	Recuperação (%)	105 ± 14	105 ± 19	110 ± 10
Mercúrio	Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	20	20	20
	Fortificação ($\mu\text{g g}^{-1}$)	120	120	120
	Recuperação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	21 ± 2	20 ± 3	21 ± 3
	Recuperação ($\mu\text{g g}^{-1}$)	126 ± 14	120 ± 18	126 ± 18
	Recuperação (%)	105 ± 11	100 ± 15	105 ± 14

Fonte: Próprio autor.

A análise pelo método BIA-SWASV acoplado ao SPGE dos biodieseis digeridos pelo procedimento mencionado na parte experimental desta tese forneceu valores de recuperação entre 90 e 111%, mostrando boa exatidão do método desenvolvido.

Um único SPGE no sistema BIA pode ser usado para a análise contínua de tais amostras digeridas durante um dia de trabalho (10 h) sem a necessidade de substituição. Por outro lado, o tempo de vida útil dos SPGEs foi reduzido para 45 minutos quando o sistema em batelada convencional foi utilizado para a análise de amostras digeridas. O meio fortemente oxidante em contato direto com os SPGEs pode ser a razão para a sua vida útil ter sido reduzida (reação com a tinta impressa no SPGEs) ou a formação de AuCl_4^- . Já, utilizando-se o sistema BIA, em que o SPGE é imerso em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, o contato da matriz da amostra com o eletrodo de trabalho ocorre, basicamente, durante a injeção da amostra (40 s). Após o término da injeção, a alíquota de $200 \mu\text{L}$ da amostra é diluída na solução de eletrólito dentro da célula BIA ($\sim 80 \text{ mL}$; diluição de cerca de 400 vezes).

A Tabela 14 exibe um resumo das características analíticas do método proposto nesta tese em comparação a trabalhos encontrados na literatura que analisam (individualmente ou de forma simultânea a outros metais) chumbo, cobre e mercúrio em amostras de biodiesel.

Tabela 14: Comparação das características analíticas do método proposto com os estudos da literatura que empregam análise de redissolução eletroquímica para a determinação chumbo, cobre e mercúrio em biodiesel.

Eletrodo	Analito (s)	Técnica	LD	T _{dep} (min)	Ref.
EAu	Cu	SCP	$0,2 \mu\text{g g}^{-1}$	5	¹⁰⁷
MFE/SPGE	Cd/Cu/Pb/Zn/Hg	SWASV	$3,9/0,2/5,8/$ $6,5/3,5 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,5/1,5$	⁵⁴
SPGE	Pb/Cu/Hg	BIA- SWASV	$6,0/3,0/4,2 \mu\text{g g}^{-1}$ $1,0/0,5/0,7 \mu\text{g L}^{-1}$	1,5	Esta tese

SCP: do inglês, *Stripping Chronopotentiometry*; SWASV: do inglês, *Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*; EAU: Eletrodo de ouro; SPGE: do inglês, *Screen Printed Gold Electrode*; MFE: do inglês, *Mercury Film Electrode*.

Como podem ser observados a partir da Tabela 14, poucos trabalhos são encontrados na literatura para determinação de metais em biodiesel, possibilitando muita

pesquisa nesta área. Dentre os métodos analíticos encontrados, o que se propõe nesta tese (BIA-SPGE-LT), apresenta uma ótima correlação entre o valor de LD e o tempo de deposição para a análise dos três metais em biodiesel.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos analíticos desenvolvidos empregando o sistema BIA acoplado a eletrodos de disco (convencionais) ou SPE's mostraram-se bastante robustos. O procedimento de injeção, embora não automático, é muito reproduzível, pois os parâmetros de volume e a velocidade de injeção são precisamente controlados pela pipeta eletrônica. Os métodos desenvolvidos requerem mínima manipulação da amostra (exceto biodiesel) de biocombustíveis, empregam pequenos volumes e podem ser considerados para análises em campo.

Demonstrou-se a aplicação de BIA-SWASV para a determinação de cádmio, chumbo e cobre em etanol combustível após a injeção de 1 mL de amostra à célula BIA. O método proposto foi viável também para estimar a fração lábil de metais em amostras de etanol combustível. O método desenvolvido é preciso, exato (confirmado por testes de recuperação), com baixo limite de detecção ($LD \leq 1 \mu\text{g L}^{-1}$) e rápido (por volta de 30 injeções por hora usando tempo de deposição de 90 s e por volta de 60 injeções por hora se o tempo de deposição for reduzido para 45 s).

O método BIA-SWASV foi aplicado com sucesso para a análise de amostras de etanol combustível e tem diversas vantagens sobre o sistema convencional, como a redução dos processos adsorptivos na superfície do eletrodo de trabalho e a capacidade de realizar análises de amostras *in natura* (não requer diluição da amostra). O método desenvolvido é preciso, exato (confirmado por testes de recuperação), sensível, com baixo LD ($5 \mu\text{g L}^{-1}$) e rápido (20 injeções por hora usando um tempo de deposição de 90 s ou 24 injeções por hora se o tempo de deposição for reduzido para 60 s).

O uso de técnicas voltamétricas de redissolução anódica na determinação simultânea de chumbo, cobre e mercúrio usando um SPGE com o auxílio de um sistema BIA (200 μL de injeção) foi comparado ao sistema em batelada convencional. O método BIA-SWASV foi aplicado com sucesso para a análise de amostras de biodiesel e apresenta, com a principal vantagem em relação ao sistema convencional, o baixo consumo de amostra o que reduz a interferência da matriz de amostras no sinal analítico. Tal fato acarretou no aumento do tempo de vida útil do SPGE, possibilitando análises consecutivas durante um dia de trabalho. No sistema SWASV convencional, o SPGE é exposto por um longo tempo de análise na presença de amostras digeridas de biodiesel, a qual apresenta condições oxidantes responsáveis pela perda da funcionalidade do eletrodo. Este efeito negativo também afetou a linearidade das curvas analíticas, nas quais

os valores de coeficiente de correlação ficaram menores em relação ao método BIA-SWASV proposto.

Apesar do sistema em batelada convencional usando agitação (promovida por barra magnética) ser mais sensível, os valores de LD para as determinações de chumbo, cobre e mercúrio foram $\leq 6 \mu\text{g g}^{-1}$ de amostra para os três íons metálicos, o que torna-o aplicável para a análise de biodiesel e outros biocombustíveis, já que, estes valores atendem aos valores de concentração dos metais encontrados neste tipo de amostra, de acordo com dados da literatura. Consequentemente, o método BIA-SWASV proposto é preciso com baixos valores de desvio padrão relativo (DPR), exato (confirmado por testes de recuperação para amostras de biodiesel digeridas), sensível e rápido.

As características analíticas apresentadas nesta tese, atestam a aplicação promissora do método proposto BIA-ASV para análise de rotina e em campo (como por exemplo, em postos de combustível) para amostras de etanol combustível e biodiesel. Além disso, as metodologias propostas podem ser adaptadas e aplicadas para avaliar o conteúdo de outros metais em amostras de biocombustíveis, usando eletrodos baseados em mercúrio ou outros tipos de eletrodos.

6. PERSPECTIVAS

Destaca-se como perspectivas deste trabalho:

- Aplicar a metodologia acoplando o sistema BIA e as técnicas voltamétricas para análise de outras amostras de biocombustíveis (como por exemplo, o bioquerosene) e combustíveis fósseis (como por exemplo, diesel e gasolina);
- Utilizar do sistema BIA-SWASV para determinação de metais pesados em amostras de cosméticos (por exemplo, em batons e sombras);
- Aprofundar os estudos utilizando o sistema BIA acoplado aos SPE's para determinação de constituintes orgânicos e inorgânicos em amostras de cunho farmacêutico e forense;
- Empregar a célula BIA com uso de SPE's no desenvolvimento de metodologias analíticas rápidas para o uso em análises clínicas, como dosagem de glicose, colesterol e ácido úrico, por exemplo;
- Desenvolver estudos visando à detecção simultânea de antioxidantes (como TBHQ, BHA, BHT e PG) e metais utilizando o sistema BIA para amostras de biocombustíveis;
- Desenvolver metodologias de preparo de amostra e detecção com intuito de quantificar a presença de metais pesados nos subprodutos da produção de biodiesel, em especial, a água de lavagem e o glicerol;
- Realizar testes comparativos para obtenção de prós e contras entre os métodos eletroanalíticos e os espectrométricos, como espectrometria de absorção em forno de grafite e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado.

REFERÊNCIAS

- ¹ SANTOS, A. L. et al. Electrochemical Determination of Inorganic Contaminants in Automotive Fuels. **Electroanalysis**, v. 24, n. 8, p. 1681-1691, 2012.
- ² DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L.; RAMPIN, M. A. Biodiesel: A critical overview on the current status and perspectives at the academy and industry. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 776-792, 2009.
- ³ Biodiesel BR. Disponível em: < <http://www.biodieselbr.com/> >. Acesso em: 03 de junho de 2016.
- ⁴ KNOTHE, G.; DUNN, R. O.; BAGBY, M. O. Biodiesel: The use of vegetable oils and their derivatives as alternative diesel fuels. In: (Ed.). **Fuels and Chemicals from Biomass**, v.666, 1997. p.172-208. (ACS Symposium Series). ISBN 0097-61560-8412-3508-2.
- ⁵ BRASIL, Lei n. 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nºs 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. Lex: DOU 14.1.2005.
- ⁶ CUNHA, M. E. **Caracterização de biodiesel produzido com misturas de matérias primas: sebo bovino, óleo de frango e óleo de soja**. 2008. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS.
- ⁷ FERREIRA DA SILVA, P. R.; STELLA DE FREITAS, T. F. Biodiesel: the charge and the bond of the fuel producing. **Ciencia Rural**, v. 38, n. 3, p. 843-851, 2008.

- ⁸ ANP - Agência Nacional do Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/>>. Acesso em 12 de junho 2016.
- ⁹ GERIS, R. et al. Biodiesel from soybean oil - Experimental procedure of transesterification for organic chemistry laboratories. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1369-1373, 2007.
- ¹⁰ LOBO, I. P.; COSTA FERREIRA, S. L.; DA CRUZ, R. S. Biodiesel: quality parameters and analytical methods **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.
- ¹¹ KNOTHE, G.; DUNN, R. O. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 80, n. 10, p. 1021-1026, 2003.
- ¹² YANEZSEDENO, P.; PINGARRON, J. M.; DIEZ, L. M. P. Determination of tert-butylhydroxyanisole and tert-butylhydroxytoluene by flow-injection with amperometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 252, n. 1-2, p. 153-159, 1991.
- ¹³ ASTM - American Society for Testing & Materials. D910 – 11 - Standard Specification for Aviation Gasolines. Disponível em: <<https://www.astm.org/Standards/D910.htm>>. Acesso em 01 de julho 2016.
- ¹⁴ KNOTHE, G. **Manual de Biodiesel**. São-Paulo: 2006.
- ¹⁵ SARIN, A. et al. Oxidation Stability of Palm Methyl Ester: Effect of Metal Contaminants and Antioxidants. **Energy & Fuels**, v. 24, p. 2652-2656, 2010.

- ¹⁶ SARIN, A. et al. Synergistic effect of metal deactivator and antioxidant on oxidation stability of metal contaminated Jatropha biodiesel. **Energy**, v. 35, n. 5, p. 2333-2337, 2010.
- ¹⁷ SARIN, A. et al. Effect of Metal Contaminants and Antioxidants on the Oxidation Stability of the Methyl Ester of Pongamia. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 87, n. 5, p. 567-572, 2010.
- ¹⁸ SARIN, A. et al. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. **Energy**, v. 34, n. 9, p. 1271-1275, 2009.
- ¹⁹ KNOTHE, G. Analyzing biodiesel: Standards and other methods. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 83, n. 10, p. 823-833, 2006.
- ²⁰ MONTEIRO, M. R. et al. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Talanta**, v. 77, n. 2, p. 593-605, 2008.
- ²¹ LOBO, I. P.; COSTA FERREIRA, S. L.; DA CRUZ, R. S. Biodiesel: quality parameters and analytical methods. **Quimica Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.
- ²² AZEVEDO SILVA, J. S. et al. Calibration Techniques and Modifiers for the Determination of Cd, Pb and Tl in Biodiesel as Microemulsion by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 4, p. 620-626, 2010.
- ²³ LOBO, F. A. et al. Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Cu, Pb, Ni and Cd in biodiesel by GFAAS. **Fuel**, v. 88, n. 10, p. 1907-1914, 2009.

- ²⁴ LYRA, F. H. et al. Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (F AAS) using microemulsion as sample preparation. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 180-185, 2010.
- ²⁵ LOBO, F. A. et al. Development of a method to determine Ni and Cd in biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fuel**, v. 90, n. 1, p. 142-146, 2011.
- ²⁶ VIEIRA, M. A. et al. Determination of As in Vegetable Oil and Biodiesel by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Energy & Fuels**, v. 23, p. 5942-5946, 2009.
- ²⁷ SANCHEZ, R. et al. Universal calibration for metal determination in fuels and biofuels by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry based on segmented flow injection and a 350 degrees C heated chamber. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 6, p. 937-945, 2012.
- ²⁸ CHAVES, E. S. et al. Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 66, n. 9-10, p. 733-739, 2011.
- ²⁹ KORN, M. G. A. et al. Evaluation of Digestion Procedures for Simultaneous Determination of Ca, P, Mg, K and Na in Biodiesel by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 12, p. 2278-2284, 2010.
- ³⁰ OROZCO, F. D. A. et al. Analysis of metals and phosphorus in biodiesel B100 from different feedstock using a Flow Blurring((R)) multinebulizer in inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 827, p. 15-21, 2014.

- ³¹ LISBOA, M. T. et al. An Easy and Fast Procedure for the Determination of Ca, Cu, Fe, Mn, Mg, Na, K and Si in Biodiesel by ICP OES Using Emulsification as Sample Preparation Strategy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 1, p. 143-151, 2014.
- ³² SANCHEZ, R. et al. Quantification of nickel, vanadium and manganese in petroleum products and biofuels through inductively coupled plasma mass spectrometry equipped with a high temperature single pass spray chamber. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 29, n. 2, p. 242-248, 2014.
- ³³ CHAVES, E. S. et al. Determination of Co, Cu, Fe, Mn, Ni and V in diesel and biodiesel samples by ETV-ICP-MS. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 10, p. 1211-1216, 2008.
- ³⁴ AMAIS, R. S. et al. Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 146-150, 2010.
- ³⁵ CHAVES, E. S. et al. Determination of Na and K in biodiesel by flame atomic emission spectrometry and microemulsion sample preparation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 5, p. 856-861, 2008.
- ³⁶ DE OLIVEIRA, A. P. et al. Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation. **Fuel**, v. 88, n. 4, p. 764-766, 2009.
- ³⁷ FERREIRA, C. C.; COSTA, L. M.; BARBEIRA, P. J. S. Methyl oleate as matrix simulacrum for the simultaneous determination of metals in biodiesel samples by flame atomic emission spectroscopy. **Talanta**, v. 138, p. 8-14, 2015.

- ³⁸ DANCSAK, S. E. et al. Direct determination of sodium, potassium, chromium and vanadium in biodiesel fuel by tungsten coil atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 806, p. 85-90, 2014.
- ³⁹ BARROS, A. I. et al. Determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry, with dissolution in ethanol as a single sample preparation step. **Fuel**, v. 93, n. 1, p. 381-384, 2012.
- ⁴⁰ AMAIS, R. S. et al. A simple dilute-and-shoot procedure for Si determination in diesel and biodiesel by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 318-322, 2013.
- ⁴¹ QUADROS, D. P. C. et al. A simple and fast procedure for the determination of Al, Cu, Fe and Mn in biodiesel using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 66, n. 5, p. 373-377, 2011.
- ⁴² GHISI, M. et al. Simple method for the determination of Cu and Fe by electrothermal atomic absorption spectrometry in biodiesel treated with tetramethylammonium hydroxide. **Microchemical Journal**, v. 98, n. 1, p. 62-65, 2011.
- ⁴³ SHISHOV, A. Y. et al. Fully automated spectrophotometric procedure for simultaneous determination of calcium and magnesium in biodiesel. **Talanta**, v. 135, p. 133-137, 2015.
- ⁴⁴ PEREIRA, F. M. et al. Extraction induced by emulsion breaking as a tool for Ca and Mg determination in biodiesel by fast sequential flame atomic absorption spectrometry (FS-FAAS) using Co as internal standard. **Microchemical Journal**, v. 117, p. 172-177, 2014.

- 45 DE MAGALHAES, M. R. L. et al. Dissolution in Ethanol as a Sample Preparation Procedure for Determination of Metals in Biodiesel by FAAS. **Current Analytical Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 166-171, 2014.
- 46 PEREIRA, F. M. et al. Novel extraction induced by emulsion breaking as a tool for the determination of trace concentrations of Cu, Mn and Ni in biodiesel by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 117, p. 32-38, 2013.
- 47 DE QUADROS, D. P. C.; BORGES, D. L. G. Determination of Trace Elements in B5-diesel Oil by HR-CS ET AAS Using a Simple Dilute-and-Shoot Approach. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 12, p. 9, 2013.
- 48 DE OLIVEIRA, L. C. C. et al. Determination of Na, K, Mg and Ca in Biodiesel by LS F AAS and HR-CS F AAS: Studies that Supported the Proposal of the ABNT NBR 15556 Norm. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 7, p. 1400-+, 2012.
- 49 AMAIS, R. S. et al. Determination of Ca, Mg, and Zn in biodiesel microemulsions by FAAS using discrete nebulization. **Fuel**, v. 93, n. 1, p. 167-171, 2012.
- 50 DE JESUS, A. et al. Determination of Calcium and Magnesium in Biodiesel by Flame Atomic Absorption Spectrometry Using Microemulsions as Sample Preparation. **Energy & Fuels**, v. 24, p. 2109-2112, 2010.
- 51 DE JESUS, A.; SILVA, M. M.; VALE, M. G. R. The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 74, n. 5, p. 1378-1384, 2008.

- ⁵² ARANDA, P. R. et al. Total and inorganic mercury determination in biodiesel by emulsion sample introduction and FI-CV-AFS after multivariate optimization. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, n. 10, p. 1441-1445, 2009.
- ⁵³ FRENA, M. et al. In situ bismuth-film electrode for square-wave anodic stripping voltammetric determination of tin in biodiesel. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 12, p. 4678-4684, 2011.
- ⁵⁴ FREITAS, H. C. et al. Ultrasound-assisted digestion of biodiesel samples for determination of metals by stripping voltammetry. **Analytical Methods**, v. 7, n. 17, p. 7170-7176, 2015.
- ⁵⁵ ZEZZA, T. R. C.; PAIM, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Determination of Mg (II) in Biodiesel by Adsorptive Stripping Voltammetry at a Mercury Film Electrode in the Presence of Sodium Thiopentone. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 8, n. 1, p. 658-669, 2013.
- ⁵⁶ CASTILHO, M. D. S.; STRADIOTTO, N. R. Determination of potassium ions in biodiesel using a nickel(II) hexacyanoferrate-modified electrode. **Talanta**, v. 74, n. 5, p. 1630-1634, 2008.
- ⁵⁷ PIOVEZAN, M. et al. Development of a fast capillary electrophoresis method to determine inorganic cations in biodiesel samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 673, n. 2, p. 200-205, 2010.
- ⁵⁸ NOGUEIRA, T.; DO LAGO, C. L. Determination of Ca, K, Mg, Na, sulfate, phosphate, formate, acetate, propionate, and glycerol in biodiesel by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Microchemical Journal**, v. 99, n. 2, p. 267-272, 2011.

- ⁵⁹ DE CALAND, L. B.; SILVEIRA, E. L. C.; TUBINO, M. Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium cations in biodiesel by ion chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 718, p. 116-120, 2012.
- ⁶⁰ BALAT, M.; BALAT, H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. **Applied Energy**, v. 86, n. 11, p. 2273-2282, 2009.
- ⁶¹ SANTOS, F. A. et al. Potential of sugarcane straw for ethanol production. **Quimica Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012.
- ⁶² WACLAWOVSKY, A. J. et al. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, v. 8, n. 3, p. 263-276, 2010.
- ⁶³ ZHENG, Y. et al. Enzymatic saccharification of dilute acid pretreated saline crops for fermentable sugar production. **Applied Energy**, v. 86, n. 11, p. 2459-2465, 2009.
- ⁶⁴ BRASIL, Decreto de Lei n. 76.593, de 14 de novembro de 1975. Institui o Programa Nacional do Alcool e dá outras Providências
- ⁶⁵ KOHLHEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 68, p. 223-253, 2010.
- ⁶⁶ ALMEIDA, E. S.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. On-site fuel electroanalysis: Determination of lead, copper and mercury in fuel bioethanol by anodic stripping voltammetry using screen-printed gold electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 837, p. 38-43, 2014.

- ⁶⁷ NASCIMENTO, D. S. et al. Simultaneous determination of Cu, Pb, Cd, Ni, Co and Zn in bioethanol fuel by adsorptive stripping voltammetry and multivariate linear regression. **Fuel**, v. 137, p. 172-178, 2014.
- ⁶⁸ MUNOZ, R. A. A. et al. Determination of inorganic ions in ethanol fuel by capillary electrophoresis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 4, p. 523-526, 2004.
- ⁶⁹ DE OLIVEIRA, M. F. et al. Analytical Methods Employed at Quality Control of Fuel Ethanol. **Energy & Fuels**, v. 23, p. 4852-4859, 2009.
- ⁷⁰ PADILHA, P. M.; PADILHA, C. C. F.; ROCHA, J. C. Flame AAS determination of metal ions in fuel ethanol after preconcentration on acid carboxymethylcellulose (CMCH). **Quimica Analitica**, v. 18, n. 4, p. 299-303, 1999.
- ⁷¹ ALMEIDA, E. S. et al. Behaviour of the antioxidant tert-butylhydroquinone on the storage stability and corrosive character of biodiesel. **Fuel**, v. 90, n. 11, p. 3480-3484, 2011.
- ⁷² JAIN, S.; SHARMA, M. P. Correlation development for effect of metal contaminants on the oxidation stability of Jatropha curcas biodiesel. **Fuel**, v. 90, n. 5, p. 2045-2050, 2011.
- ⁷³ MUNOZ, R. A. A.; ANGNES, L. Simultaneous determination of copper and lead in ethanol fuel by anodic stripping voltammetry. **Microchemical Journal**, v. 77, n. 2, p. 157-162, 2004.
- ⁷⁴ NETO, J. A. G. et al. Determination of mercury in agroindustrial samples by flow-injection cold vapor atomic absorption spectrometry using ion exchange and reductive elution. **Talanta**, v. 51, n. 3, p. 587-594, 2000.

- ⁷⁵ LIMA, A. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Alternative Analytical Method for Metal Determination in Inorganic Fertilizers Based on Ultrasound-Assisted Extraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1519-1524, 2011.
- ⁷⁶ NETO, G. O.; SERRANO, S. H. P.; NEVES, E. F. A. A new type of precipitating agent for copper membrane-electrode. **Analytical Letters**, v. 20, n. 9, p. 1363-1377, 1987.
- ⁷⁷ MOTONAKA, J. et al. Behavior of cadmium ion-selective eletctrode in alcohol mixtures. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 59, n. 3, p. 737-740, 1986.
- ⁷⁸ KAMENEV, A. I.; KOVALENKO, M. A. Determination of lead(II) in water-alcohol media by stripping voltammetry at a modified carbon-glass-ceramic electrode. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 55, n. 6, p. 594-597, 2000.
- ⁷⁹ TAKEUCHI, R. M. et al. Copper determination in ethanol fuel samples by anodic stripping voltammetry at a gold microelectrode. **Microchimica Acta**, v. 164, n. 1-2, p. 101-106, 2009.
- ⁸⁰ DE OLIVEIRA, M. F. et al. Determination of zinc in fuel alcohol by anodic stripping voltammetry. **Ecletica Quimica**, v. 27, p. 153-160, 2002.
- ⁸¹ MATTOS, C. D. S. et al. Voltammetric determination of total iron in fuel ethanol using a 1,10 fenantroline/nafton carbon paste-modified electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 3, n. 3, p. 338-345, 2008.
- ⁸² POPA, D. E. et al. Carbon Paste Electrode Modified with Organofunctionalized Mesoporous Silica for Electrochemical Detection and Quantitative Determination

- of Cadmium (II) Using Square Wave Anodic Stripping Voltammetry. **Revista De Chimie**, v. 61, n. 2, p. 162-167, 2010.
- ⁸³ SILVA, J. J.; PAIM, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Simultaneous Determination of Iron and Copper in Ethanol Fuel Using Nafion/Carbon Nanotubes Electrode. **Electroanalysis**, v. 26, n. 8, p. 1794-1800, 2014.
- ⁸⁴ LIMA, F. F. et al. Stripping voltammetric determination of manganese in bioethanol. **Microchemical Journal**, v. 116, p. 178-182, 2014.
- ⁸⁵ TAKEUCHI, R. M. et al. Copper determination in ethanol fuel by differential pulse anodic stripping voltammetry at a solid paraffin-based carbon paste electrode modified with 2-aminothiazole organofunctionalized silica. **Talanta**, v. 71, n. 2, p. 771-777, 2007.
- ⁸⁶ CESARINO, I.; MARINO, G.; GOMES CAVALHEIRO, E. T. A novel graphite-polyurethane composite electrode modified with thiol-organofunctionalized silica for the determination of copper ions in ethanol fuel. **Fuel**, v. 89, n. 8, p. 1883-1888, 2010.
- ⁸⁷ DE OLIVEIRA, M. F. et al. Simultaneous determination of zinc, copper, lead, and cadmium in fuel ethanol by anodic stripping voltammetry using a glassy carbon-mercury-film electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 380, n. 1, p. 135-140, 2004.
- ⁸⁸ BERGAMINI, M. F. et al. Determinação de chumbo em álcool combustível por voltametria de redissolução anódica utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com resina de troca iônica Amberlite IR 120. **Ecletica Quimica**, v. 31, p. 45-52, 2006.

- ⁸⁹ DE OLIVEIRA, P. R. et al. Anodic Stripping Voltammetric Determination of Lead (II) and Cadmium (II) by Using a Carbon Nanotubes Paste Electrode Modified with Ion Exchange Synthetic Resin. **Current Analytical Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 520-527, 2012.
- ⁹⁰ SACIOTO, T. R.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Simultaneous Voltammetric Determination of Zn(II), Pb(II), Cu(II), and Hg(II) in Ethanol Fuel Using an Organofunctionalized Modified Graphite-Polyurethane Composite Disposable Screen-Printed Device. **Electroanalysis**, v. 26, n. 12, p. 2664-2676, 2014.
- ⁹¹ TAKEUCHI, R. M. et al. A solid paraffin-based carbon paste electrode modified with 2-aminothiazole organofunctionalized silica for differential pulse adsorptive stripping analysis of nickel in ethanol fuel. **Analytica Chimica Acta**, v. 584, n. 2, p. 295-301, 2007.
- ⁹² OLIVEIRA TARTAROTTI, F. et al. Determination of nickel in fuel ethanol using a carbon paste modified electrode containing dimethylglyoxime. **Microchimica Acta**, v. 155, n. 3-4, p. 397-401, 2006.
- ⁹³ GOMES TEIXEIRA, L. S.; SANTOS, E. S.; NUNES, L. S. Determination of copper, iron, nickel and zinc in ethanol fuel by energy dispersive X-ray fluorescence after pre-concentration on chromatography paper. **Analytica Chimica Acta**, v. 722, p. 29-33, 2012.
- ⁹⁴ TEIXEIRA, L. S. G. et al. Determination of copper, iron, nickel, and zinc in ethanol fuel by flame atomic absorption spectrometry using on-line preconcentration system. **Separation Science and Technology**, v. 40, n. 12, p. 2555-2565, 2005.

- ⁹⁵ GARNIER, C. et al. Voltammetric procedure for trace metal analysis in polluted natural waters using homemade bare gold-disk microelectrodes. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 2, p. 313-323, 2006.
- ⁹⁶ GIBBON-WALSH, K.; SALAUEN, P.; VAN DEN BERG, C. M. G. Determination of manganese and zinc in coastal waters by anodic stripping voltammetry with a vibrating gold microwire electrode. **Environmental Chemistry**, v. 8, n. 5, p. 475-484, 2011.
- ⁹⁷ WANG, J. et al. Simultaneous Detection of Copper, Lead and Zinc on Tin Film/Gold Nanoparticles/Gold Microelectrode by Square Wave Stripping Voltammetry. **Electroanalysis**, v. 24, n. 8, p. 1783-1790, 2012.
- ⁹⁸ BARKER, G. C.; JENKINS, I. L. Square-Wave polarography. **Analyst**, v. 77, n. 920, p. 685-696, 1952.
- ⁹⁹ WANG, V. J. **Analytical Electrochemistry**. New York: 1994.
- ¹⁰⁰ WANG, J. et al. Stripping analysis into the 21st century: faster, smaller, cheaper, simpler and better. **Analytica Chimica Acta**, v. 385, n. 1-3, p. 429-435, 1999.
- ¹⁰¹ BRETT, C. M. A. Electroanalytical techniques for the future: The challenges of miniaturization and of real-time measurements. **Electroanalysis**, v. 11, n. 14, p. 1013-1016, 1999.
- ¹⁰² WANG, J. **Stripping Analysis– Principles, Instrumentation and Applications**. Deerfield Beach: VCH Publishers, 1985.
- ¹⁰³ RIZZATTI, I. M.; ZANETTE, D. R.; MELLO, L. C. Potenciometric determination of the critical micellar concentration of the surfactants: a new

methodological application in the chemical learning. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 518-521, 2009.

- ¹⁰⁴ NOBRE, A. L. D. R.; MAZO, L. H. Análise potenciométrica de redissolução com ultramicroeletrodos: fundamentos e aplicações na determinação de metais traços. **Química Nova**, v. 20, p. 412-419, 1997.
- ¹⁰⁵ MUNOZ, R. A. A. et al. Electroanalysis of crude oil and petroleum-based fuel for trace metals: Evaluation of different microwave-assisted sample decompositions and stripping techniques. **Energy & Fuels**, v. 21, n. 1, p. 295-302, 2007.
- ¹⁰⁶ MARTINIANO, L. C. et al. Direct simultaneous determination of Pb(II) and Cu(II) in biodiesel by anodic stripping voltammetry at a mercury-film electrode using microemulsions. **Fuel**, v. 103, p. 1164-1167, 2013.
- ¹⁰⁷ ALMEIDA, E. S. et al. Direct Determination of Copper in Biodiesel Using Stripping Analysis. **Electroanalysis**, v. 22, n. 16, p. 1846-1850, 2010.
- ¹⁰⁸ DOMINGUEZ RENEDO, O.; ALONSO-LOMILLO, M. A.; ARCOS MARTINEZ, M. J. Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications. **Talanta**, v. 73, n. 2, p. 202-219, 2007.
- ¹⁰⁹ LI, M. et al. Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays-A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 734, p. 31-44, 2012.
- ¹¹⁰ METTERS, J. P.; KADARA, R. O.; BANKS, C. E. New directions in screen printed electroanalytical sensors: an overview of recent developments. **Analyst**, v. 136, n. 6, p. 1067-1076, 2011.

- 111 WANG, J. Portable electrochemical systems. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 226-232, 2002.
- 112 HART, J. P.; WRING, S. A. Recent developments in the design and application of screen-printed electrochemical sensors for biomedical, environmental and industrial analyses. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 16, n. 2, p. 89-103, 1997.
- 113 HONEYCHURCH, K. C.; HART, J. P. Screen-printed electrochemical sensors for monitoring metal pollutants. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 7, p. 456-469, 2003.
- 114 BERNALTE, E.; SANCHEZ, C. M.; GIL, E. P. Gold nanoparticles-modified screen-printed carbon electrodes for anodic stripping voltammetric determination of mercury in ambient water samples. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 161, n. 1, p. 669-674, 2012.
- 115 BERNALTE, E.; MARIN SANCHEZ, C.; PINILLA GIL, E. Determination of mercury in ambient water samples by anodic stripping voltammetry on screen-printed gold electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 689, n. 1, p. 60-64, 2011.
- 116 GUEELL, R. et al. Sensitive and stable monitoring of lead and cadmium in seawater using screen-printed electrode and electrochemical stripping analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 627, n. 2, p. 219-224, 2008.
- 117 LASCHI, S.; PALCHETTI, I.; MASCINI, M. Gold-based screen-printed sensor for detection of trace lead. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 114, n. 1, p. 460-465, 2006.
- 118 MANDIL, A.; IDRISSE, L.; AMINE, A. Stripping voltammetric determination of mercury(II) and lead(II) using screen-printed electrodes modified with gold films,

and metal ion preconcentration with thiol-modified magnetic particles. **Microchimica Acta**, v. 170, n. 3-4, p. 299-305, 2010.

- 119 INJANG, U. et al. Determination of trace heavy metals in herbs by sequential injection analysis-anodic stripping voltammetry using screen-printed carbon nanotubes electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 668, n. 1, p. 54-60, 2010.
- 120 METTERS, J. P.; KADARA, R. O.; BANKS, C. E. Electroanalytical sensing of chromium(III) and (VI) utilising gold screen printed macro electrodes. **Analyst**, v. 137, n. 4, p. 896-902, 2012.
- 121 RUEDA-HOLGADO, F. et al. Miniaturized voltammetric stripping on screen printed gold electrodes for field determination of copper in atmospheric deposition. **Talanta**, v. 101, p. 435-439, 2012.
- 122 FELIX, F. S.; ANGNES, L. Fast and Accurate Analysis of Drugs Using Amperometry Associated With Flow Injection Analysis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 12, p. 4784-4804, 2010.
- 123 TROJANOWICZ, M. Recent developments in electrochemical flow detections-A review Part I. Flow analysis and capillary electrophoresis. **Analytica Chimica Acta**, v. 653, n. 1, p. 36-58, 2009.
- 124 WANG, J.; TAHA, Z. Batch injection-analysis. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 10, p. 1053-1056, 1991.
- 125 QUINTINO, M. S. M.; ANGNES, L. Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool. **Electroanalysis**, v. 16, n. 7, p. 513-523, 2004.

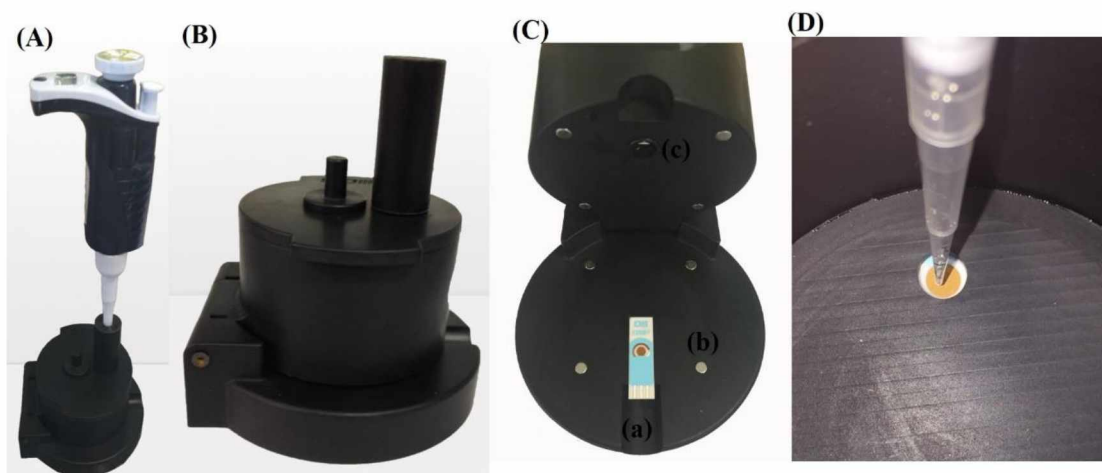
- 126 TROJANOWICZ, M. et al. Batch-injection stripping voltammetry (tube-less flow-injection analysis) of trace metals with on-line sample pretreatment. **Talanta**, v. 68, n. 2, p. 394-400, 2005.
- 127 WANG, J.; LU, J. M.; CHEN, L. Batch injection stripping voltammetry of trace-metals. **Analytica Chimica Acta**, v. 259, n. 1, p. 123-128, 1992.
- 128 BRETT, C. M. A. et al. Nafion-coated mercury thin film electrodes for batch-injection analysis with anodic stripping voltammetry. **Talanta**, v. 43, n. 11, p. 2015-2022, 1996.
- 129 BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O.; TUGULEA, L. Anodic stripping voltammetry of trace metals by batch injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 322, n. 3, p. 151-157, 1996.
- 130 BRETT, C. M. A.; FUNGARO, D. A. Poly(ester sulphonic acid) coated mercury thin film electrodes: characterization and application in batch injection analysis stripping voltammetry of heavy metal ions. **Talanta**, v. 50, n. 6, p. 1223-1231, 2000.
- 131 FERNANDES, D. M. et al. Preparation and characterization of methylic and ethylic biodiesel from cottonseed oil and effect of tert-butylhydroquinone on its oxidative stability. **Fuel**, v. 97, p. 658-661, 2012.
- 132 SERQUEIRA, D. S. et al. Influence of blending soybean, sunflower, colza, corn, cottonseed, and residual cooking oil methyl biodiesels on the oxidation stability. **Fuel**, v. 118, p. 16-20, 2014.
- 133 PEREIRA, P. F. et al. Fast batch injection analysis system for on-site determination of ethanol in gasohol and fuel ethanol. **Talanta**, v. 90, p. 99-102, 2012.

- 134 PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L.; GUTZ, I. G. R. Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions. **Electroanalysis**, v. 8, n. 7, p. 673-675, 1996.
- 135 Dropsens. Disponível em: <
http://www.dropsens.com/en/screen_printed_electrodes_pag.html>. Acesso em 14 de junho de 2016.
- 136 QUINTINO, M. S. M. et al. Batch injection analysis utilizing modified electrodes with tetraruthenated porphyrin films for acetaminophen quantification. **Electroanalysis**, v. 14, n. 23, p. 1629-1634, 2002.
- 137 TORMIN, T. F. et al. Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection. **Talanta**, v. 85, n. 3, p. 1274-1278, 2011.
- 138 WOJCIECHOWSKI, M.; BALCERZAK, J. Square-wave anodic-stripping voltammetry at glassy-carbon-based thin mercury film electrodes in solutions containing dissolved-oxygen. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 13, p. 1325-1331, 1990.
- 139 ARAMATA, A. et al. Underpotential deposition of zinc ions at single crystal electrodes and the effect of the adsorbed anions. **Electrochimica Acta**, v. 44, n. 6-7, p. 999-1007, 1998.
- 140 TORMIN, T. F. et al. Batch-injection stripping voltammetry of metals in fuel bioethanol. **Fuel**, v. 117, p. 952-956, 2014.

- ¹⁴¹ WANG, E.; SUN, W.; YANG, Y. Potentiometric stripping analysis with a thin-film gold electrode for determination of copper, bismuth, antimony, and lead. **Analytical Chemistry**, v. 56, n. 11, p. 1903-1906, 1984.
- ¹⁴² WATSON, C. M. et al. Stripping analyses of mercury using gold electrodes: Irreversible adsorption of mercury. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 15, p. 3181-3186, 1999.

ANEXO A

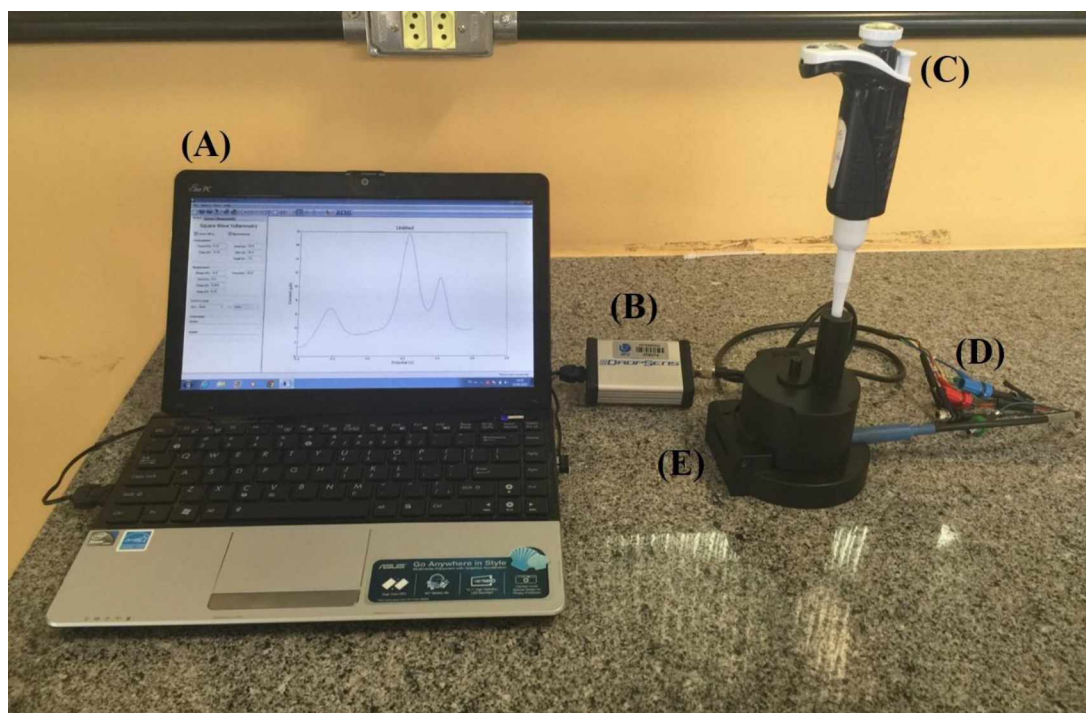
(A) Vista externa do posicionamento da micropipeta eletrônica (Gilson) adaptada em um suporte na tampa superior do sistema. (B) Vista aproximada da célula. (C) Vista da célula aberta com o posicionamento correto do SPE e o (a) degrau para encaixe do cabo conector; (b) imãs; (c) O-ring. (D) Vista do interior da célula com o posicionamento wall-jet entre a ponteira da micropipeta e o SPE.



Fonte: Próprio autor.

ANEXO B

Fotografia ilustrativa do sistema de análise completo acoplando BIA e SPE. (A) Computador portátil. (B) Mini-potenciostato. (C) Micropipeta eletrônica (Gilson). (D) Cabos conectores. (E) BIA-SPE.



Fonte: Próprio autor.

ANEXO C

- TRABALHOS DESENVOLVIDOS DURANTE O DOUTORADO
- PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS EM REVISTAS CIENTÍFICAS RELACIONADOS À TESE DE DOUTORADO

1. TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; SILVA, R. A. B.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. Combination of screen-printed electrodes and batch injection analysis: A simple, robust, high-throughput, and portable electrochemical system. **Sensors and Actuators. B Chemical**, v. 202, p. 93-98, 2014.

2. TORMIN, T. F.; NARCISO, L. C. D.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Batch-injection stripping voltammetry of metals in fuel bioethanol. **Fuel**, v. 117, p. 952-956, 2014.

3. TORMIN, T. F.; NARCISO, L. C. D.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Batch-injection stripping voltammetry of zinc at a gold electrode: application for fuel bioethanol analysis. **Electrochimica Acta**, v. 164, p. 90-96, 2015.

4. TORMIN, T. F.; OLIVEIRA, G. K. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Voltammetric Determination of lead, copper and mercury in Biodiesel Using Gold Screen-printed Electrode: Comparison of Batch-injection Analysis with Conventional Electrochemical Systems. **Electroanalysis**, v. 28, p. 940-946, 2016.

- PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS EM REVISTAS CIENTÍFICAS REALIZADOS EM COLABORAÇÃO

1. CUNHA, R. R.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Determinação rápida de hidroquinona usando análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica. **Química Nova**, v. 36, p. 663-668, 2013.

2. LIMA, F. F.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Stripping voltammetric determination of manganese in bioethanol. **Microchemical Journal**, v. 116, p. 178-182, 2014.
3. DORNELLAS, R. M.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; AUCELIO, R. Q.; MUNOZ, R. A. A. Electrochemical Oxidation of the Fungicide Dimoxystrobin and Its amperometric Determination by Batch-Injection Analysis. **Analytical Letters**, v. 47, p. 492-503, 2014.
4. FREITAS, H. C.; ALMEIDA, E. S.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Ultrasound-assisted digestion of biodiesel samples for determination of metals by stripping voltammetry. **Analytical Methods**, v. 17, p. 7170-7176, 2015.
5. RODRIGUES FILHO, G.; ALMEIDA, F.; RIBEIRO, S. D.; TORMIN, T. F.; MUÑOZ, R. A. A.; ASSUNÇÃO, R. M. N.; BARUD, H. Controlled release of drugs from cellulose acetate matrices produced from sugarcane bagasse: monitoring by square-wave voltammetry. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 42, p. 1066-1072, 2016.
6. OLIVEIRA, G. K. F.; TORMIN, T. F.; SOUSA, R. M. F.; DE OLIVEIRA, A.; DE MORAIS, S. A. L.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 192, p. 691-697, 2016.
7. RICHTER, E. M.; TORMIN, T. F.; MUÑOZ, R. A. A.; CUNHA, R. R. A compact batch injection analysis for screen printed electrodes: a portable electrochemical system for on-site analysis. **Electroanalysis**, v. 28, p. 1856-1859, 2016.
8. OLIVEIRA, G. K. F.; TORMIN, T. F.; MONTES, R. H.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Electrochemical oxidation of Astaxanthin on glassy-carbon electrode and its amperometric determination using batch injection analysis (BIA). **Electroanalysis**, v. 28, p. 2143-2148, 2016.

- **CAPÍTULO DE LIVRO**

1. TORMIN, T. F.; ALMEIDA, E. S. ; SOUSA, R. M. F. ; RICHTER, E. M. ; MUNOZ, R. A. A. Determination of Butylhydroxytoluene, Butylhydroxyanisole, and tert Butylhydroquinone. Flow Injection Analysis of Food Additives. 1ed.: 1ed. Boca Raton: CRC Press -Taylor & Francis group, 2015, v. 13, p. 223-237.

• **TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS**

1. NARCISO, L. C. D.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M.; TORMIN, T. F.; RODRIGUES FILHO, G.; RIBEIRO, S. D.; ALMEIDA, F. G. Controle de liberação de paracetamol através da membrana de acetato de celulose empregando voltametria. 2012.

2. SILVA, L. A. J.; TORMIN, T. F.; Munoz, Rodrigo A.A.; Richter, Eduardo M.; OLIVEIRA, A. C. Estudos iniciais para a determinação de Rutina e Quercetina em amostras de chá utilizando análise por injeção em batelada (BIA) e eletrodo de diamante dopado com boro. 2012.

3. SANTOS, R. F.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M.; TORMIN, T. F.; RIBEIRO, S. D. Uso de voltametria para analisar a liberação controlada de paracetamol em membrana assimétrica produzida a partir de resíduos agroindustriais provenientes da palha de milho. 2013.

4. NARCISO, L. C. D.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Estudo comparativo entre os sistemas BIA e batelada convencional para a determinação de zinco em etanol combustível. 2013.

5. LIMA, F. F.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Determinação de manganês em etanol combustível por voltametria de redissolução. 2013.

6. TORMIN, T. F.; NARCISO, L. C. D.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Determinação de metais em álcool combustível por redissolução voltamétrica associada à análise por injeção em batelada (BIA). 2013.

7. RICHTER, E. M.; DORNELLAS, R. M.; AUCELIO, R. Q.; MUNOZ, R. A. A.; TORMIN, T. F. Oxidação eletroquímica do fungicida dimoxistrobina e a sua determinação por Batch Injection Analysis (BIA). 2013.
8. ALMEIDA, E. S.; TORMIN, T. F.; ZAQUEO, R. P.; RICHTER, E. M.; ANGNES, L.; MUNOZ, R. A. A. Determinação voltamétrica de metais em bioetanol e biodiesel empregando arranjo de microeletrodos de ouro obtidos de chips eletrônicos. 2013.
9. TORMIN, T. F.; NARCISO, L. C. D.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Determinação rápida e direta de Zn^{2+} em álcool combustível usando BIA com detecção voltamétrica. 2013.
10. NARCISO, L. C. D.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Determinação de Cobre, Chumbo e Zinco em álcool combustível usando análise por injeção em batelada (BIA) associada a voltametria de redissolução. 2013.
11. ALMEIDA, E. S.; TORMIN, T. F.; ZAQUEO, R. P.; RICHTER, E. M.; ANGNES, L.; MUNOZ, R. A. A. Determinação voltamétrica de cobre em biodiesel empregando microeletrodos de ouro obtidos de chips. 2013.
12. NARCISO, L. C. D.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Estudo comparativo entre os sistemas BIA e batelada convencional para a determinação de zinco em etanol combustível. 2014.
13. NARCISO, L. C. D.; ALMEIDA, E. S.; MUNOZ, R. A. A.; TORMIN, T. F. Efeito de diferentes solventes em eletrodos impressos de ouro para a determinação de mercúrio. 2014.
14. DORNELLAS, R. M.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A.; AUCELIO, R. Q. Estudo voltamétrico de dimoxistrobina e sua determinação em sistema BIA com detecção amperométrica. 2014.
15. ALMEIDA, E. S.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M.; LIMA, A. F.; TORMIN, T. F. Determinação de Chumbo em gasolina de avião por voltametria de onda quadrada

utilizando eletrodo impresso de ouro e análise por injeção em batelada após digestão em ultrassom. 2014.

16. RICHTER, E. M.; TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; MUNOZ, R. A. A. Combination of Screen-printed Electrodes and Batch Injection Analysis: a Simple, Robust, High-throughput and Portable Electrochemical System. 2014.

17. OLIVEIRA, G. K. F.; SILVA, L. A. J.; TORMIN, T. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Determinação de Astaxantina na presença de B-caroteno em ração para peixes utilizando análise por injeção em batelada com detecção amperométrica. 2015.

18. TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; SILVA, W. P.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. Sistema eletroquímico portátil: combinação de eletrodos impressos e análise por injeção em batelada. 2015.

19. OLIVEIRA, G. K. F.; TORMIN, T. F.; SOUSA, R. M. F.; MORAIS, S. A. L.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity. 2015.