

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

ANDRÉ LUIZ SQUISSATO

**ELETRODOS IMPRESSOS DESCARTÁVEIS:
APLICAÇÕES EM AMOSTRAS AMBIENTAIS,
ALIMENTÍCIAS E COMBUSTÍVEIS**

Uberlândia

2019

ANDRÉ LUIZ SQUISSATO

**ELETRODOS IMPRESSOS DESCARTÁVEIS: APLICAÇÕES EM AMOSTRAS
AMBIENTAIS, ALIMENTÍCIAS E COMBUSTÍVEIS**

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

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Eletroquímica Aplicada

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza
Muñoz

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter

Uberlândia

2019

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S774 Squissato, André Luiz, 1990-
2019 Eletrodos impressos descartáveis: aplicações em amostras ambientais, alimentícias e combustíveis [recurso eletrônico] / André Luiz Squissato. - 2019.

Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Munõz.
Coorientador: Eduardo Mathias Richter.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2223>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Munõz, Rodrigo Alejandro Abarza , 1980-, (Orient.). II. Richter, Eduardo Mathias , 1965-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

ATA DE DEFESA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 94, PPQUI				
Data:	dezenove de julho de dois mil e dezenove	Hora de início:	13:30	Hora de encerramento:	18:10
Matrícula do Discente:	11523QMI001				
Nome do Discente:	André Luiz Squissato				
Título do Trabalho:	Eletrodos impressos descartáveis: aplicações em amostras ambientais, alimentícias e combustíveis				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Eletroquímica Aplicada				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Sensores eletroquímicos de alto desempenho: novos materiais e estratégias de produção				

Reuniu-se no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Campus Santa Mônica, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: João Flávio da Silveira Petrucí, IQ/UFU; Rodrigo Amorim Bezerra da Silva, IQ/UFU; Bruno Campos Janegitz, Universidade Federal de São Carlos; Rogério Valentim Gelamo, Universidade Federal do Triângulo Mineiro e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Alejandro Abarza Munoz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 19/07/2019, às 18:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Amorim Bezerra da Silva, Professor(a) do**



Magistério Superior, em 19/07/2019, às 18:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Flávio da Silveira Petrucci, Professor(a) Substituto(a) do Magistério Superior**, em 19/07/2019, às 18:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **ROGÉRIO VALENTIM GELAMO, Usuário Externo**, em 22/07/2019, às 14:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Campos Janegitz, Usuário Externo**, em 22/07/2019, às 15:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1388208** e o código CRC **908715D8**.

*Dedico aos meus pais, Júlio Cesar e Myria Márcia e ao meu irmão por toda paciência,
carinho e suporte em todas as etapas da minha formação acadêmica.*

Aos professores, Eduardo e Rodrigo, pelos ensinamentos, companheirismo e paciência

Agradecimentos

- Agradeço a Deus que sempre iluminou meu caminho proporcionando forças para que eu pudesse seguir em direção as melhores escolhas.
- Agradeço a toda minha família independente do local onde reside. Meus pais, tios, avôs e avós, primos, obrigado pelos conselhos, pela paciência, pelo carinho, pelas orações dedicadas.
- Aos pilares da minha vida, meu pai Júlio, minha mãe Myria, meu irmão e melhor amigo Luiz Felipe, obrigado pelos ensinamentos, pelo carinho, pelo incentivo, pela paciência e por tudo que fizeram para que este trabalho fosse realizado.
- Ao meu orientador Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz por todo o conhecimento adquirido, pela paciência e incentivo, pela confiança e pela amizade construída nestes anos trabalhando juntos.
- Ao prof. Dr. Eduardo Mathias Richter também pelos conhecimentos e contribuições para o meu crescimento dentro e fora do laboratório.
- A todos os membros do Instituto de Química, professores e técnicos que de forma direta ou indireta cooperaram para o meu conhecimento e realização do trabalho.
- A todos os membros e amigos do NUPE pelos momentos de descontração, pelos conselhos, pela ajuda nas discussões, pelas horas exaustivas de trabalho, porém divertidas, obrigado por tudo.
- Aos meus amigos de infância, Vaine, Vitor, Felipe, Anderson, Marco Aurélio, Deivid e Luiz Felipe que sempre estiveram ao meu lado nos momentos tristes e felizes, obrigado pelos conselhos, pela paciência e pelos intermitentes momentos de descontração.
- Às agências de fomento, FAPEMIG, CAPES e CNPq, pela bolsa de Doutorado, pelos auxílios financeiros nos projetos e nos congressos em que participei.

ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO

Publicação de artigos em revistas científicas relacionados à tese de doutorado

SQUISSATO, A. L.; SILVA, W. P.; DEL CLARO, A. T. S.; ROCHA, D. P.; DORNELLAS, R. M.; RICHTER, E. M.; FOSTER, C. W.; BANKS, C. E.; MUNOZ, R. A. A. Portable electrochemical system using screen-printed electrodes for monitoring corrosion inhibitors. **TALANTA**, v. 174, p. 420-427, 2017.

SQUISSATO, A. L.; ALMEIDA, E. S.; SILVA, S. G.; RICHTER, E. M.; BATISTA, A. D.; MUNOZ, R. A. A. Screen-printed electrodes for quality control of liquid (Bio)fuels. **TRAC-TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY**, v. 108, p. 210-220, 2018.

SQUISSATO, A. L.; ROCHA, D. P.; ALMEIDA, E. S.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Stripping Voltammetric Determination of Mercury in Fish Oil Capsules Using a Screen-Printed Gold Electrode. **ELECTROANALYSIS**, v. 30, p. 20-23, 2018.

SQUISSATO, A. L.; NERI, T. S.; COELHO, N. M. M.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. In situ electrochemical determination of free Cu (II) ions in biodiesel using screen-printed electrodes: Direct correlation with oxidation stability. **FUEL**, v. 234, p. 1452-1458, 2018.

Outras publicações de artigos em revistas científicas

MONTES, R. H. O.; DORNELLAS, R. M.; SILVA, L. A. J.; SQUISSATO, A. L.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Amperometric determination of the insecticide fipronil using batch injection analysis: comparison between unmodified and carbon-nanotube-modified electrodes. **JOURNAL OF SOLID STATE ELECTROCHEMISTRY (PRINT)**, v. 20, p. 2453-2459, 2016.

SQUISSATO, A. L.; LIMA, A. F.; ALMEIDA, E. S.; PASQUINI, D.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Eucalyptus pulp as an adsorbent for metal removal from biodiesel. **INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS (PRINT)**, v. 95, p. 1-5, 2017.

FELIPE, J. A. SQUISSATO, A. L.; FERNANDES, G. M.; CARDOSO, R. M.; BATISTA, A. D.; MUÑOZ, R. A. A. Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device. **MICROCHEMICAL JOURNAL**, v. 146, p. 1134-1139, 2019.

SQUISSATO, A. L.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Voltammetric determination of copper and tert-butylhydroquinone in biodiesel: A rapid quality control protocol. **TALANTA**, v. 201, p. 433-440, 2019.

FERNANDES, D. M.; SQUISSATO, A. L.; LIMA, A. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Corrosive character of **Moringa oleifera Lam biodiesel exposed to carbon steel under simulated storage conditions**. **RENEWABLE ENERGY**, v. 139, p. 1263-1271, 2019.

Capítulo de livro publicado

SQUISSATO, A. L.; ROCHA, D. P.; CARDOSO, R. M.; TORMIN, T. F.; MUNOZ, R. A. A. Nanomaterial-Based Electrochemical Sensors for Environmental and Energy Applications. **Nanomaterials Design for Sensing Applications**. 1ªed. Amsterdam: **ELSEVIER**, 2019, v.1, p. 197-228.

Resumo

Esta tese apresenta a potencial combinação entre as técnicas eletroquímicas (voltamétricas e amperométricas) e os eletrodos impressos descartáveis para o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos e portáteis no monitoramento e/ou controle de qualidade de amostras ambientais, alimentícias e biocombustíveis. A primeira parte da tese apresenta o emprego de um eletrodo impresso de grafite resistente a solventes orgânicos (SPGrE, do inglês, *Screen-Printed Graphite Electrode*) acoplado ao sistema de análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica para monitoramento contínuo do inibidor de corrosão, 2,5 dimercapto-1,3,5-tiadiazol (DMCT), em etanol combustível, água do mar sintética e óleo mineral. Amostras foram diluídas em eletrólito hidroetanólico (95% v/v de etanol contendo 0,1 mol L⁻¹ de H₂SO₄). O sistema analítico pode ser usado continuamente por mais de 200 injeções consecutivas (100 µL de volume de amostra a 193 µL s⁻¹) livre de efeitos de adsorção do DMCT, com respostas rápidas (180 h⁻¹) e precisas (DPR < 3% n = 10) e limite de detecção (LD) de 0,3 µmol L⁻¹. A exatidão foi avaliada por testes de adição e recuperação (93–106%) e comparação com método espectrofotométrico. A segunda parte da tese consiste no uso de eletrodos impressos de ouro (SPGE, do inglês, *Screen-Printed Gold Electrode*) associada à Voltametria de Redissolução Anódica de Onda Quadrada (SWASV, do inglês, *Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry*) para a determinação de mercúrio em suplementos a base de óleo de cápsula de peixe. Avaliaram-se três procedimentos de preparo das amostras oleosas: calcinação, digestão assistida por ultrassom e bloco digestor. O banho ultrassom mostrou-se mais eficiente na extração de mercúrio do óleo na presença de uma mistura concentrada 1:1 (v/v) de HCl/H₂O₂ à temperatura ambiente. Quinze minutos de exposição à energia ultrassônica foram suficientes para a extração do metal em alíquotas de 100 mg de um padrão oleoso certificado contendo mercúrio. O LD foi estimado em 0,25 mg L⁻¹ e uma faixa linear entre 5 e 400 mg L⁻¹ foi obtida com aplicação de 90 s de tempo de deposição no eletrólito suporte composto por uma solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl. As amostras de óleo de peixe analisadas apresentaram concentração de Hg(II) abaixo do valor de LD. Os valores de recuperação para amostras enriquecidas com o padrão de óleo contendo Hg(II) variaram de 95 a 105%. O método se mostrou preciso (DPR < 3,8%, n = 10) e os eletrodos foram usados continuamente (cerca de 100 análises sem substituição) em presença à mistura oxidante diluída. A terceira parte da tese envolve o emprego de SPGE resistentes a solventes orgânicos para desenvolver um método sensível e rápido na determinação direta de cobre livre em biodiesel e correlacionar os resultados com a estabilidade oxidativa do biocombustível. Testes de imersão de placas de cobre em biodiesel por diferentes períodos proporcionaram a contaminação do combustível com cobre devido às características corrosivas do biodiesel. A técnica SWASV permitiu a determinação de íons Cu(II) no biodiesel após uma diluição simples das amostras em 90% (v/v) de etanol contendo 0,1 mol L⁻¹ de HCl (eletrólito suporte). A estabilidade à oxidação de biodiesel com base nos valores do período de indução (IP) foi realizada pelo método Rancimat. Os resultados indicaram uma correlação direta entre a diminuição da estabilidade oxidativa do biodiesel e o teor de cobre livre ao invés do conteúdo total no biodiesel. Os SPGEs responderam 80 medições consecutivas antes da substituição por um novo eletrodo. O método é considerado repetitivo (RSD < 5% para n = 10), livre de interferência de matriz (recuperação entre 99 e 105%) e LD de 1,5 µg L⁻¹ (correspondente a 1,7 µg kg⁻¹). Todos os métodos desenvolvidos permitiram análises de amostras complexas de forma rápida, precisa e exata, com baixo consumo de reagentes e baixa geração de efluentes.

Palavras-chave: BIA, alimentos, biodiesel, combustíveis, metais, eletroanálise.

Abstract

This thesis presents the potential association between electroanalytical techniques (voltammetric and amperometric) and disposable printed electrodes for the development of fast and portable methods in the monitoring and/or quality control of environmental, food and biofuels samples. The first part of the thesis presents the use of an organic resistant screen-printed graphite electrode (SPGrE) coupled to the batch injection analysis system (BIA) with amperometric detection for continuous monitoring of the inhibitor of corrosion, 2,5 dimercapto-1,3,5-thiadiazole (DMCT), in fuel ethanol, synthetic sea water and mineral oil. Samples were diluted in hydroethanolic electrolyte (95% v/v ethanol containing 0.1 mol L⁻¹ of H₂SO₄). The analytical system can be used continuously for more than 200 consecutive injections (100 µL sample volume at 193 µL s⁻¹) free of DMCT adsorption effects, with rapid responses (180 h⁻¹) and precise (RSD < 3% n = 10) and limit of detection (LOD) of 0.3 µmol L⁻¹. Accuracy was assessed by addition and recovery tests (93-106%) and comparison with spectrophotometric method. The second part of the thesis consists of the use of screen-printed gold electrodes (SPGE) associated to the Square Wave Anodic Stripping Voltammetry (SWASV) for the determination of mercury in fish-capsule oil-based supplements. Three procedures of preparation of the oily samples were evaluated: calcination, ultrasonic assisted digestion and digestion block. The ultrasonic bath was more efficient in the extraction of mercury from the oil presence of a concentrated mixture 1:1 (v/v) HCl/H₂O₂ at room temperature. Fifteen minutes of exposure to the ultrasonic energy were sufficient for the extraction of the metal into aliquots of 100 mg of a certified oil standard containing mercury. The LOD was estimated to be 0.25 mg L⁻¹ and a linear range between 5 and 400 mg L⁻¹ was obtained with 90 s of deposition time in the support electrolyte composed of a 0.1 mol L⁻¹ solution of HCl. The fish oil samples analyzed showed Hg(II) concentration below the LOD value. The recovery values for samples spiked with the Hg-containing oil standard ranged from 95 to 105%. The method was accurate (DPR < 3.8%, n = 10) and the electrodes were continuously used (about 100 analyzes without substitution) under the presence of the dilute oxidant mixture. The third part of the thesis involves the use of SPGE resistant to organic solvents to develop a sensitive and rapid method in the direct determination of free copper in biodiesel and to correlate the results with the oxidative stability of the biofuel. Immersion tests of copper plates in biodiesel for different periods provided the contamination of the fuel with copper due to the corrosive characteristics of biodiesel. The SWASV technique allowed the determination of Cu(II) ions in the biodiesel after a simple dilution of the samples in 90% (v/v) ethanol containing 0.1 mol L⁻¹ of HCl (supporting electrolyte). The stability to the oxidation of biodiesel based on the values of the induction period (IP) was performed by the Rancimat method. The results indicated a direct correlation between the reduction of the oxidative stability of biodiesel and the free copper content instead of the total biodiesel content. SPGEs responded 80 consecutive measurements before replacement by a new electrode. The method is considered repetitive (RSD < 5% for n = 10), free of matrix interference (recovery between 99 and 105%) and LOD of 1.5 µg L⁻¹ (corresponding to 1.7 µg kg⁻¹). All methods developed allowed rapid, accurate and accurate analysis of complex samples with low reagent consumption and low effluent generation, as well as the potential for field analysis.

Keywords: BIA, food, biodiesel, fuels, metals, electroanalysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação de um SPE comercial.	18
Figura 2: Esquema das etapas envolvidas do processo de fabricação geral de um SPE comercial.	20
Figura 3: Ilustração dos sistemas BIA desenvolvidos ao longo dos anos.	32
Figura 4: (A) – Esquema do sistema BIA acoplado com eletrodo SPE para detecções eletroquímicas. A) ponteira da micropipeta, B) tampa da célula BIA, C) corpo da célula D) solução do eletrólito suporte, E) cabo SPE e F) SPE. (B) Imagem do sistema em perspectiva.	35
Figura 5: Esquema das etapas operacionais durante o período de injeção de uma amostra sob a superfície de um SPE e os respectivos sinais obtidos em um experimento por BIA com detecção amperométrica.	36
Figura 6: Imagem do eletrodo SPGrE utilizado para a determinação de DMCT. ET: eletrodo de trabalho; EPR: eletrodo pseudo-referência, EA: eletrodo auxiliar.	46
Figura 7: (A) SPGE não resistente a solvente orgânico; (B) SPGE resistente a solventes orgânicos. ET: eletrodo de trabalho; EPR: eletrodo pseudo-referência, EA: eletrodo auxiliar.	47
Figura 8: Sistemas convencionais para as análises em (A) de mercúrio em óleo de peixe em cápsulas e em (B) de cobre em biodiesel.	49
Figura 9: Componentes da célula BIA. (A) Parafusos e placa metálica fixada na base da célula para firmar o SPGrE. (B) Eletrodo impresso. (C) O-ring para delimitar a área dos três eletrodos no orifício da célula BIA. (D) Célula de polipropileno com volume aproximado de 100 mL. (E) Tampa da célula com o suporte para a micropipeta. (F) Vista superior da célula BIA com o eletrodo SPE acoplado.	50
Figura 10: Sistema em BIA para as análises de DMCT. Em (A) é representado a célula BIA acoplada ao SPE. Em (B) mostra o zoom da ponteira da micropipeta posicionada para a injeção na superfície do eletrodo de trabalho do SPE. Em (C) ilustra o sistema completo da célula BIA com o SPGrE conectada ao cabo SPE sobre um sistema de agitação automático. A micropipeta responsável pelas injeções é inserida no suporte da tampa da célula e suspensa por uma garra metálica.	51
Figura 11: Modelo das placas de cobre utilizado nos testes de corrosão por imersão em biodiesel.	58

Figura 12: Sistema empregado para os experimentos de corrosão por imersão de placas de cobre em biodiesel de acordo com a ABNT NBR 7413. Em A , suspensão das placas de cobre pelo teflon, em B , imersão das placas de cobre no biodiesel.....	58
Figura 13: Ilustração gráfica do trabalho desenvolvido para determinação do anticorrosivo DMCT em água do mar sintética, bioetanol combustível e óleo mineral utilizando SPGrE.....	61
Figura 14: Efeito de diferentes proporções de etanol/água (v/v) na miscibilidade do óleo mineral.....	64
Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos antes (linhas tracejadas) e após adição de 3 mmol L ⁻¹ DMCT (linhas sólidas) em 95% (v/v) e 5% (v/v) de solução aquosa de (A) 0,1 mol L ⁻¹ de H ₂ SO ₄ ; (B) 0,1 mol L ⁻¹ de HNO ₃ ; (C) 0,1 mol L ⁻¹ de HCl; (D) 0,1 mol L ⁻¹ de solução tampão BR (pH = 2); e (E) 0,1 mol L ⁻¹ de solução tampão BR (pH = 4). Velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹ ; Degrau de potencial: 5 mV. Eletrodo: SPGrE....	65
Figura 16: Mecanismo da oxidação direta do DMCT em acetonitrila contendo 0,1 M de LiClO ₄	66
Figura 17: Voltamograma cíclico antes (linha tracejada) e após a adição de 3 mmol L ⁻¹ de ferroceno (linha sólida) em 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ . Velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹	66
Figura 18: Voltamogramas cíclicos obtidos antes (linhas tracejadas) e após a adição de 3 mmol L ⁻¹ DMCT (linhas sólidas) em 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ . Velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹ . Eletrodo: SPGrE.	67
Figura 19: Mecanismo para a redução do DMCT e a formação do dímero na varredura inversa.....	68
Figura 20: Voltamograma hidrodinâmico obtido a partir dos valores médios de correntes de pico para injeções em triplicata de 50 μmol L ⁻¹ DMCT em função de potenciais aplicados no sistema BIA. Eletrólito: 95% (v/v) de etanol + 5% (v/v) de água e H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ no volume final. Eletrodo: SPGrE.....	69
Figura 21: Otimização dos parâmetros BIA e o perfil amperométrico para o volume injetado (25 – 200 μL) para injeções (n = 3) de 30 μmol L ⁻¹ de DMCT. Condições experimentais: Potencial de trabalho: +1,1V, eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ , eletrodo: SPGrE.....	70
Figura 22: Otimização dos parâmetros BIA e o perfil amperométrico para a velocidade de injeção (25 – 350 μL s ⁻¹) para injeções (n = 3) de 30 μmol L ⁻¹ de DMCT. Condições experimentais: Potencial de trabalho: +1,1 V, eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ , volume injetado: 100 μL, eletrodo: SPGrE.	71

Figura 23: Sinais amperométricos para 5 injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ no sistema BIA (A) intercaladas por 5 injeções de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ (B) ($n = 10$ para cada nível de concentração). Eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) água e H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no volume final. Potencial de trabalho: $+1,1 \text{ V}$; volume injetado: $100 \mu\text{L}$; velocidade de injeção: $193 \mu\text{L s}^{-1}$, eletrodo: SPGrE. 73

Figura 24: (A) Respostas amperométricas do sistema BIA para injeções em triplicata de (a) 10 , (b) 20 , (c) 30 , (d) 40 e (e) $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ da solução padrão de DMCT. (B) Curvas de calibração correspondentes para injeções crescentes (■) e decrescentes (●). Potencial de trabalho: $+1,1 \text{ V}$; eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) água e H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no volume final; volume injetado: $100 \mu\text{L}$; velocidade de injeção: $193 \mu\text{L s}^{-1}$, eletrodo: SPGrE. 74

Figura 25: (A) Respostas amperométricas obtidas após injeções ($n = 3$) de (a) 10 , (b) 20 , (c) 30 , (d) 40 e (e) $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de soluções padrão e amostras após diluição de 100 vezes no eletrólito (I e II correspondentes ao bioetanol e III e IV à água do mar sintética a) e (B) respectiva curva de calibração para DMCT. Potencial de trabalho: $+1,1 \text{ V}$; eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) água e H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no volume final; volume injetado: $100 \mu\text{L}$; velocidade de injeção: $193 \mu\text{L s}^{-1}$; eletrodo: SPGrE. 76

Figura 26: Ilustração para a determinação de mercúrio em óleo de peixe em cápsulas por SWASV utilizando eletrodo impresso de ouro com alta temperatura de cura (SPGE-AT) 80

Figura 27: Relação entre a concentração de HCl e a resposta de mercúrio determinada por SWASV em SPGE-AT não resistentes a solventes orgânicos. Condições de SWASV: potencial de deposição = $-0,1 \text{ V}$, tempo de deposição = 90 s , frequência = 10 Hz , degrau de potencial = 4 mV , amplitude de potencial = 40 mV 84

Figura 28: Avaliação do potencial de deposição ($-0,2$ a $+0,2 \text{ V}$) nas medidas em triplicata de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de mercúrio em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Hg^{2+} e (B) sinais de área para cada potencial avaliado. Condições de SWASV: tempo de deposição = 90 s , frequência = 20 Hz , degrau de potencial = 4 mV , amplitude de potencial = 30 mV 86

Figura 29: Estudo para otimização da amplitude (20 a 100 mV) para leituras em triplicata de soluções aquosas de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de mercúrio. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Hg^{2+} e (B) sinais de área para cada valor de amplitude avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = $-0,1 \text{ V}$, tempo de deposição = 90 s , frequência = 20 Hz , degrau de potencial = 4 mV 87

Figura 30: Estudo para otimização do degrau de potencial (2 a 10 mV) para leituras em triplicata de soluções aquosas de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de mercúrio. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Hg^{2+} e (B) sinais de área para cada valor do degrau de potencial avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = $-0,1 \text{ V}$, tempo de deposição = 90 s , frequência = 20 Hz , amplitude de potencial = 30 mV 88

Figura 31: Estudo para otimização da frequência (8 a 100 Hz) para leituras em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de mercúrio. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Hg²⁺ e (B) sinais de área para cada valor de frequência de aplicação do pulso de potencial avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = -0,1 V, tempo de deposição = 90 s, amplitude de potencial = 30 mV, degrau de potencial = 4 mV. 89

Figura 32: (A) Voltamogramas de redissolução para concentrações crescentes de mercúrio (5 – 400 µg L⁻¹) em meio de HCl 0,1 mol L⁻¹. Em (B) a respectiva curva de calibração para mercúrio. Condições de SWASV apresentadas na Tabela 8..... 91

Figura 33: Estudo da distribuição da energia no banho de ultrassom e apresentação regiões de maior perfuração na folha de alumínio provocada pelos cristais piezoelétricos. 93

Figura 34: À esquerda: Em (A, C e E) são apresentados os voltamogramas de SWASV para as respostas de Hg em amostras de óleo de peixe fortificados com o padrão de referência de óleo resultando nas seguintes concentrações finais na célula: (A) 5 µg L⁻¹, (B) 10 µg L⁻¹ e (C) 20 µg L⁻¹ após as digestões em condições otimizadas. As amostras foram analisadas pelo método de adição padrão para três adições consecutivas (b – d) de soluções padrão de Hg (II). Direita: Em (B, D e F) são representadas as respectivas curvas. Parâmetros otimizados na Tabela 8..... 100

Figura 35: Ilustração do sistema utilizado para a determinação direta de cobre livre em biodiesel por SWASV utilizando eletrodo impresso de ouro com alta temperatura de cura (SPGE-AT) resistente a solvente orgânico 102

Figura 36: Efeito de diferentes proporções de etanol/água (v/v) na completa miscibilidade do biodiesel. 106

Figura 37: Relação entre a concentração de HCl e a resposta de Cu(II) determinada por SWASV em SPGE-AT resistentes a solventes orgânicos. Condições de SWASV: potencial de deposição = -0,1 V, tempo de deposição = 90 s, frequência = 10 Hz, degrau de potencial = 4 mV, amplitude de potencial = 30 mV..... 107

Figura 38: Avaliação do potencial de deposição (-0,3 a +0,3V) nas medidas em triplicata de 20 µg L⁻¹ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L⁻¹ de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Cu(II) e (B) sinais de área para cada potencial avaliado. Condições de SWASV: tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, degrau de potencial = 4 mV, amplitude de potencial = 38 mV. 109

Figura 39: Avaliação do tempo de deposição (30 a 180 s) nas medidas em triplicata de 20 µg L⁻¹ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L⁻¹ de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. Condições de SWASV: Potencial de deposição = -0,2 V, frequência = 20 Hz, degrau de potencial = 4 mV, amplitude de potencial = 38 mV. 110

Figura 40: Estudo para otimização da amplitude (10 a 100 mV) para leituras em triplicata de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L^{-1} de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Cu(II) e (B) sinais de área para cada valor de amplitude avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = -0,2 V, tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, incremento de potencial = 4 mV. 111

Figura 41: Estudo para otimização do degrau de potencial (1 a 10 mV) para leituras em triplicata de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L^{-1} de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Cu(II) e (B) sinais de área para cada valor do degrau de potencial avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = -0,2 V, tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, amplitude de potencial = 30 mV. 112

Figura 42: Estudo para otimização da frequência (8 a 100 Hz) para leituras em triplicata de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L^{-1} de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Cu(II) e (B) sinais de área para cada valor de frequência de aplicação do pulso de potencial avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = -0,2 V, tempo de deposição = 90 s, degrau de potencial = 4 mV, amplitude de potencial = 30 mV. 113

Figura 43: (A) Voltamogramas de redissolução anódica para concentrações crescentes de cobre (1 – 70 $\mu\text{g L}^{-1}$) em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L^{-1} de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT resistentes a solventes orgânicos. Em (B) a respectiva curva de calibração para o cobre é apresentada. Condições de SWASV apresentas na Tabela 13. 115

Figura 44: Esquerda: (A e B) Registros de SWASV para a detecção direta de Cu(II) livre em amostras comerciais de biodiesel para resultar nas seguintes concentrações finais na célula: A) 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e B) 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. Sinais de a) em branco e após três adições (c - e) de padrão de óleo de Cu(II). À direita: (B e D) respectivas curvas analíticas. Condições de SWASV apresentas na Tabela 13. 122

Figura 45: Correlação entre os teores de cobre livre e total após diferentes tempos de imersão de placas de cobre em biodiesel. 125

Figura 46: Relação entre o teor de cobre livre (Cu(II)) com o aumento do tempo de imersão das placas metálicas no biodiesel e o decréscimo da estabilidade oxidativa no biocombustível. 126

Figura 47: Esquerda: Registros de SWASV para a detecção direta de Cu(II) em amostras comerciais de biodiesel após diferentes períodos de imersão com placas de cobre. Em (A) =24h; (C) = 48 h e (E) = 72 h. Sinais de a) em branco, b) amostra e após três adições (c - e) de padrão de óleo de Cu(II). À direita: (B, D e F) as respectivas curvas analíticas. Condições de SWASV apresentas na Tabela 13. 127

Figura 48: Voltamogramas obtidos por SWASV para detecção direta de íons Cu(II) livre ($6 \mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de biodiesel na presença (400 mg L^{-1}) de antioxidantes **(A)** PI, **(B)** PG, **(C)** BHT e **(D)** TBHQ. Parâmetros da SWASV, eletrólito e diluição da amostra semelhantes à da Figura 40..... 129

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Lista dos reagentes utilizados no preparo de soluções e amostras realizados ao longo do trabalho.	42
Tabela 2: Composição da água do mar sintética.	43
Tabela 3: Planejamento com as variáveis aplicadas visando a otimização do pré-tratamento do padrão oleoso contendo mercúrio por digestão em banho ultrassônico. .	53
Tabela 4: Parâmetros de operação do programa para a determinação de cobre por GFAAS das amostras de biodiesel.	60
Tabela 5: Resumo dos valores obtidos nas otimizações dos parâmetros utilizados na determinação de DMCT.	72
Tabela 6: Características analíticas do método proposto para determinação de DMCT usando SPGrE no sistema BIA em uma solução hidroetanólica contendo 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) água e H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} no volume final. Eletrodo: SPGrE.	75
Tabela 7: Concentrações de DMCT nas amostras puras e fortificadas de bioetanol combustível, de água do mar sintética e óleo mineral analisadas pelo sistema BIA e pelo método espectrofotométrico, com os respectivos valores de recuperação e teste-t.	77
Tabela 8: Otimização dos parâmetros do eletrólito e de SWASV para a determinação de Hg utilizando o SPGE-AT	90
Tabela 9: Características analíticas do método proposto para a determinação de Hg por SPGE-AT em 0,1 mol L^{-1} HCl.	92
Tabela 10: Comparação das metodologias de digestão baseados em valores de recuperação de mercúrio no padrão óleo certificado.	94
Tabela 11: Resumo das variáveis analisadas para a otimização da digestão do padrão oleoso contendo mercúrio em banho de ultrassom e as respectivas concentrações obtidas em triplicata para cada parâmetro otimizado.	97
Tabela 12: Valores de recuperação para o mercúrio para três amostras comerciais de óleo de peixe em cápsulas fortificadas com padrão oleoso certificado.	98
Tabela 13: Otimização das condições de eletrólito e de SWASV para a determinação de Cu(II) utilizando o SPGE-AT.	114
Tabela 14: Características analíticas do método proposto para a determinação de Cu(II) por SPGE-AT 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L^{-1} HCl como eletrólito.	116

Tabela 15: Caracterização físico-química do biodiesel utilizado no trabalho, incluindo os respectivos métodos realizados de acordo com EN14214..... 117

Tabela 16: Valores de recuperação de Cu em duas amostras comerciais de biodiesel.
..... 119

Tabela 17: Concentração de cobre livre liberada para biodiesel durante os testes de imersão estática em diferentes períodos (24, 48 e 72 h) e o teor de cobre total com os respectivos períodos de indução. 124

SIGLAS E ABREVIACÕES

2,6-TBP = 2,6-di-terc-butilfenol

ABNT = Associação Brasileira de Normas Técnicas

AdSV = do inglês, *Adsorptive Stripping Voltammetry* (Voltametria de Redissolução Adsorptiva)

ANP = Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível

ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASTM = do inglês, *American Society for Testing and Materials* (Sociedade Americana de Testes e Materiais)

ASV = do inglês, *Anodic Stripping Voltammetry* (Voltametria de Redissolução Anódica)

AT = Alta Temperatura de Cura

BHT = Butil-hidroxitolueno

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

BIA-AMP = do inglês, *Batch Injection Analysis with Detection Amperometric* (Análise por Injeção em Batelada com Detecção Amperométrica)

BIA-SPE = Análise por Injeção em Batelada acoplado ao Screen-printed electrode

BR = Britton-Robson (solução tampão)

BT = Baixa Temperatura de Cura

COV's = Compostos orgânicos voláteis

CSV = do inglês, *Cathodic Stripping Voltammetry* (Voltametria de Redissolução Catódica)

CZE = do inglês, *Capillary Zone Electrophoresis* (Eletroforese Capilar de Zona)

DBP = dibutil ftalato

DMCT = 2,5-Dimercapto-1,3,4-tiadiazol

DOP = dioctil ftalato

DOS = dioctil sebacato

DPb = Desvio Padrão do Branco

DPR = Desvio Padrão Relativo

EA = Eletrodo impresso

EN = do inglês, *European Committee for Standardization* (Comitê Europeu de Normalização)

EPR = Eletrodo Pseudo-Referência

ER = Eletrodo de referência

ET = Eletrodo de trabalho

FIA = do inglês, *Flow Injection Analysis* (Análise por Injeção em Fluxo)

FIA–SPE = Análise por Injeção em Fluxo acoplado ao Screen-printed electrode

FL = Faixa Linear

GFAAS = do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite)

GSH = glutadiona reduzida

HPLC = do inglês, *High Performance Liquid Chromatographic* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

ICP–MS = do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado)

IP = Período de Indução

LD = Limite de Detecção

LQ = Limite de Quantificação

NACE = do inglês, *National Association of Corrosion Engineers* (Associação Nacional de Engenheiros de Corrosão)

o-NPOE = 2-nitrofenil octil éter

PET = Polietileno tereftalato

PG = Propil Galato

PI = Pirogalol

PVC = Policloreto de vinila

R = Coeficiente de Correlação Linear

S = Coeficiente Angular (inclinação) da curva analítica

SPE = do inglês, *Screen-Printed Electrode* (Eletrodo Impresso)

SPGE = do inglês, *Screen-printed Gold Electrodes* (Eletrodos Impressos de Ouro)

SPGrE, do inglês, *Screen-printed Graphite Electrodes* (Eletrodo Impresso de Grafite)

SWASV = do inglês, *Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry* (Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada)

SWV = do inglês, *Square Wave Voltammetry* (Voltametria de Onda Quadrada)

TBHQ = *tert*-butil-hidroquinona

TCP = fosfato de tricresilo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Sensores químicos	16
1.2 Sensores eletroquímicos: eletrodos impressos.....	16
1.3 Processo de produção de um SPE: Tintas, aditivos e modificações	19
1.4 Aplicações dos SPE's	24
1.5 Análise por injeção em batelada (BIA)	30
1.6 Sistema BIA acoplado com eletrodos impressos	33
1.7 Técnicas eletroanalíticas envolvendo redissolução	37
2. OBJETIVOS	41
2.1 OBJETIVO GERAL.....	41
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	42
3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	42
3.2 INSTRUMENTAÇÃO, ELETRODOS E CÉLULAS ELETROQUÍMICAS	45
3.2.1 Instrumentação	45
3.2.2 Eletrodos.....	46
3.2.3 Células eletroquímicas	48
3.3 PROCEDIMENTOS DE PREPARO DAS AMOSTRAS	51
3.3.1 Digestão assistida por ultrassom	52
3.3.2 Calcinação	53
3.3.3 Bloco digestor	54
3.4 MEDIDAS ELETROQUÍMICAS	55
3.4.1 Análise de DMCT por BIA-Amperométrico.....	55
3.4.2 Análise por Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada na determinação de mercúrio em cápsulas de óleo de peixe.....	55
3.4.3 Análise por Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada na determinação direta de cobre livre em biodiesel	56
3.5 PROCEDIMENTOS DE FORTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS	56
3.6 ENSAIOS DE CORROSÃO POR TESTES DE IMERSÃO ESTÁTICO	57
3.7 ANÁLISES DE ESTABILIDADE OXIDATIVA DOS BODIESEIS	59
3.8 MÉTODOS COMPARATIVOS.....	59
3.8.1 Determinação espectrofotométrica de DMCT	59
3.8.2 Determinação de cobre total nas amostras de biodiesel por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS)	60

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	61
4.1 Determinação de DMCT em água do mar sintética, bioetanol combustível e óleo mineral utilizando SPGrE	61
4.1.1 Figuras de mérito.....	72
4.1.2 Aplicação do método na análise de DMCT em amostras reais	75
4.2 Determinação de mercúrio total em óleo de peixe em cápsulas por SWASV utilizando eletrodo impresso de ouro com alta temperatura de cura (SPGE-AT)	80
4.2.1 Figuras de mérito.....	90
4.2.2 Otimização do preparo da amostra	92
4.2.3 Otimização dos parâmetros de digestão empregando banho de ultrassom.....	95
4.2.4 Aplicação do método proposto na determinação de mercúrio em cápsulas contendo óleo de peixe.	97
4.3 Determinação direta de cobre livre em biodiesel por SWASV utilizando eletrodo impresso de ouro com alta temperatura de cura (SPGE-AT) resistente a solvente orgânico.....	102
4.3.1 Figuras de mérito.....	115
4.3.2 Aplicação do método proposto na análise de amostras reais de biodiesel.....	117
4.3.3 Aplicação do método proposto para a análise do biodiesel após testes de imersão de placas de cobre	123
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	131
6. REFERÊNCIAS	134

1. INTRODUÇÃO

1.1 Sensores químicos

Um sensor químico pode ser considerado basicamente como um dispositivo utilizado para investigar a presença e/ou a concentração de uma ou mais espécies em uma determinada amostra de interesse funcionando de maneira contínua e seletiva frente a amostra. De acordo com o tipo de resposta que é obtida durante as determinações os sensores químicos podem ser classificados de algumas formas, como por exemplo: ópticos, eletroquímicos, elétricos, colorimétricos, magnéticos e térmicos (BANDODKAR; WANG, 2014; COMPAGNONE et al., 2017; JANATA, 2009; LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).

O princípio de funcionamento de um sensor químico é converter uma quantidade química de determinada espécie presente na amostra em um sinal, chamado de resposta, que então é identificado e a sua magnitude medida pelo analista. Algumas características são importantes no desenvolvimento e comercialização de sensores químicos, como apresentar boa detectabilidade e sensibilidade, ser seletivo diante das espécies de interesse presentes em uma amostra, ser estável, garantir respostas rápidas, confiáveis e de fácil compreensão, ser de fácil manipulação e ser de baixo custo (BANDODKAR; WANG, 2014; JANATA, 2009; STRADIOTTO; YAMANAKA; ZANONI, 2003). Considerando as características citadas acima, os sensores eletroquímicos vêm ganhando atenção nos últimos anos devido ao seu baixo custo, sensibilidades adequadas e comparáveis com métodos tradicionais de análise, pela portabilidade e possibilidade de análises no local (“*in loco*”, “*in situ*” ou “*on site*”) e aplicações em diferentes áreas (BANDODKAR; WANG, 2014; BRETT, 1999; STRADIOTTO; YAMANAKA; ZANONI, 2003).

1.2 Sensores eletroquímicos: eletrodos impressos

Sensores eletroquímicos são dispositivos capazes de obter informações do ambiente em que estão inseridos convertendo a interação interfacial entre analito/eletrodo em um sinal elétrico (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991).

Em todas as determinações qualitativas ou quantitativas os sensores químicos respondem a uma espécie em particular ou a uma classe de substâncias de uma matriz.

Contudo, é indispensável que este sensor esteja conectado a um transdutor de sinal. No caso dos dispositivos eletroquímicos, o eletrodo é utilizado como elemento de transdução do sinal podendo ser das seguintes formas: potenciométrico, amperométrico, voltamétrico, condutométrico e impedimétrico (JANATA, 2009; STRADIOTTO; YAMANAKA; ZANONI, 2003). Nas medidas potenciométricas os sinais analíticos são obtidos pela diferença de potencial entre dois eletrodos após um equilíbrio ser estabelecido na superfície do sensor, o qual é proporcional a concentração das espécies envolvidas. Nos sensores amperométricos os sinais são registrados pelo fluxo de corrente na célula em decorrência de reações redox do analito de interesse na superfície do eletrodo. Já os sensores condumétricos respondem a mudanças da condutividade elétrica do meio influenciadas pela variação das concentrações das espécies iônicas (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991; STRADIOTTO; YAMANAKA; ZANONI, 2003).

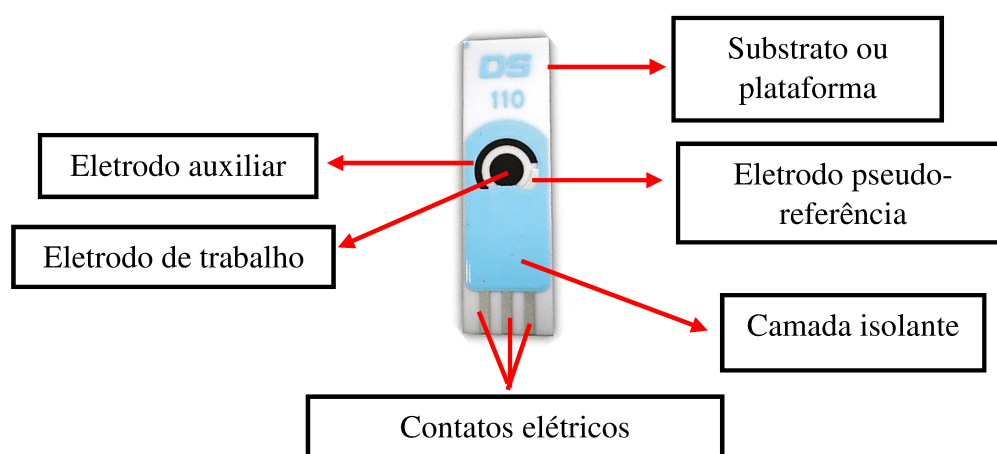
Uma forte tendência no desenvolvimento de sensores eletroquímicos e a necessidade de analisar e resolver problemas práticos na indústria e no campo têm direcionado a busca por dispositivos miniaturizados, de baixo custo, sensibilidade seletividade e estabilidades adequadas, e que possam ser acoplados a sistemas versáteis e portáteis (PRIVETT; SHIN; SCHOENFISCH, 2008). As técnicas eletroanalíticas oferecem vantagens importantes, como baixos limites de detecção, relativa simplicidade, equipamentos de baixo custo, possibilidade de automação e uso de dispositivos portáteis. Essas vantagens foram ampliadas com o advento da tecnologia de serigrafia na década de 1990, que permitiu a produção em grande escala de sensores impressos em tela descartáveis (SPEs do inglês “screen-printed electrodes”). Estes eletrodos demonstraram ser viáveis como sensores eletroquímicos para análises fora de um laboratório fixo, devido ao seu baixo custo, a sua rápida resposta, desempenho químico consistente, sensibilidade adequada e facilidade de operação podendo ser utilizados nas áreas biomédicas, ambientais, industriais e de combustíveis (ARDUINI et al., 2016; HART et al., 2004; HART; WRING, 1997; KIMMEL et al., 2012; LI et al., 2017; METTERS; KADARA; BANKS, 2011; RENEDO; ALONSO-LOMILLO; MARTÍNEZ, 2007; TROJANOWICZ, 2016).

A tecnologia de “*screen-printing*”, também conhecida como “*silk-screen*”, e no Brasil, serigrafia, tem sido promissora na fabricação de eletrodos. Este processo possibilita a produção de eletrodos em larga escala e pode ser fabricado em qualquer

laboratório com mínima infraestrutura (NASCIMENTO; ANGNES, 1998). É capaz de produzir uma ampla variedade de geometrias de eletrodos (arranjos ou individuais) permitindo também a produção de uma única plataforma contendo todos os três eletrodos, o eletrodo de trabalho (ET), o eletrodo auxiliar (EA) e o eletrodo de referência (ER), diferentemente dos sistemas convencionais de análises em que os três eletrodos estão dispostos separadamente (LI et al., 2012; NASCIMENTO; ANGNES, 1998; STRADIOTTO; YAMANAKA; ZANONI, 2003). A maior diferença entre as células eletroquímicas convencionais (três eletrodos independentes) e os eletrodos impressos é que os SPE's são mais versáteis, de menor complexidade e dimensões e colaboram para a miniaturização e praticidade do sistema de análise. Além disso, os SPE's evitam alguns dos problemas comuns dos eletrodos sólidos clássicos, como os processos de polimentos tediosos, pois, após a passivação, o eletrodo pode ser substituídos por um novo (COUTO; LIMA; QUINAZ, 2016; WINDMILLER; WANG, 2013).

Os SPE's são comercializados atualmente em diferentes formatos e tamanhos por diversas empresas. Dependendo do objetivo da aplicação e do analito, esses sensores podem ser adquiridos com diferentes tipos de ET tais como, tintas de carbono, nanotubos de carbono, ouro, bismuto, alumínio, platina, prata, paládio, diamante dopado com boro, nanopartículas metálicas, nanofibras, grafeno, óxidos ou polímeros (DROPSSENS, 2018). A Figura 1 mostra a conformação de um SPE comercial da empresa Dropsens.

Figura 1: Representação de um SPE comercial.



Fonte: Adaptado da Dropsens (DROPSSENS, 2018).

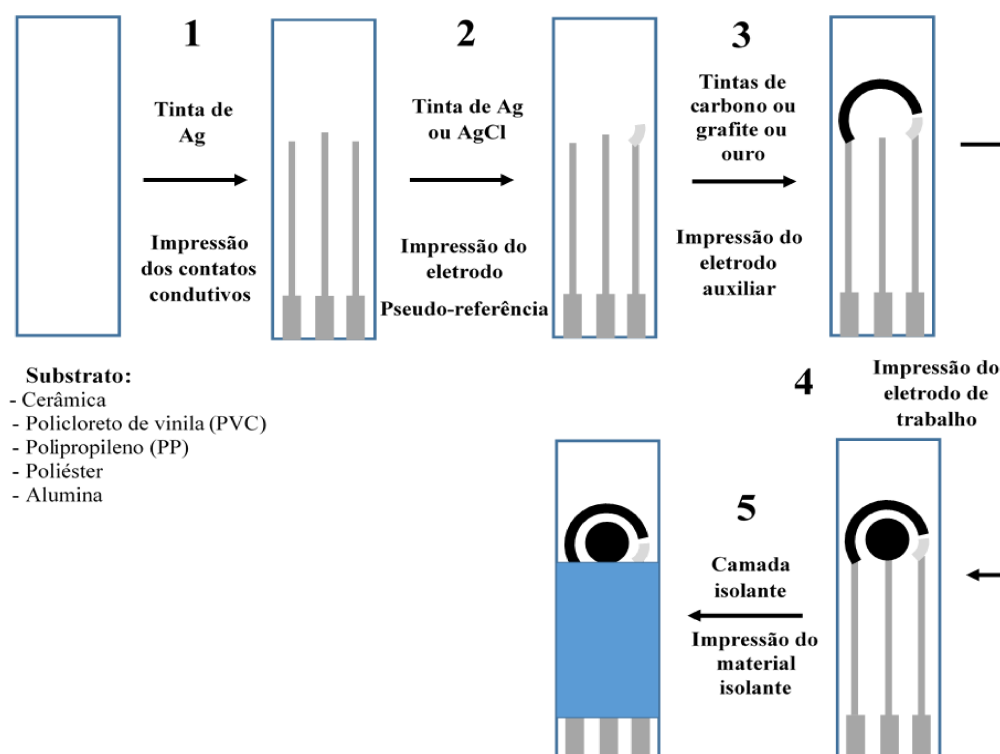
1.3 Processo de produção de um SPE: Tintas, aditivos e modificações

Os equipamentos, materiais e métodos para a produção em larga escala de eletrodos impressos são muito bem estabelecidos pelas empresas que fabricam e comercializam estes sensores (FANJUL-BOLADO et al., 2008b; NASCIMENTO; ANGNES, 1998). A repetibilidade em espessura e geometria das camadas impressas colaboram para que os eletrodos sejam robustos e reproduzíveis (LI et al., 2012). Além disso, no mercado é possível adquirir equipamentos e suprimentos necessários como tintas condutivas, aditivos, plataformas entre outros, para a fabricação de eletrodos impressos voltados para a área de pesquisa e inovação ou análises laboratoriais (HART; WRING, 1994; KADARA; JENKINSON; BANKS, 2009).

O processo de *screen-printing* consiste basicamente em aderir uma série de tintas inertes e condutivas camada-por-camada sobre um substrato sólido de forma homogênea e reproduzível (COUTO; LIMA; QUINAZ, 2016). O formato do eletrodo é definido por telas ou máscaras com aberturas específicas que delimitam a área de aplicação de determinada tinta. Uma combinação de diferentes telas e tintas são utilizadas para dar forma e características eletroquímicas ao eletrodo (LI et al., 2012). Ao final da impressão das tintas, uma camada de um material isolante é utilizada para definir a área a ser usada como contato elétrico numa extremidade e outra área para ser a superfície do eletrodo na outra extremidade (NASCIMENTO; ANGNES, 1998).

É importante mencionar que para um determinado material ser utilizado como substrato na confecção de eletrodos impressos, deve-se apresentar necessariamente elevada estabilidade química e eletroquímica, esta última numa ampla faixa de potenciais; elevado sobrepotencial para produção de hidrogênio e oxigênio; baixa corrente residual (capacitiva); compatibilidade com diferentes tintas e aditivos, resistência ao meio eletrolítico e resistência mecânica (HAYAT; MARTY, 2014; NASCIMENTO; ANGNES, 1998). A Figura 2 mostra um processo *screen-printing* comumente utilizadas para a produção dos eletrodos impressos comerciais.

Figura 2: Esquema das etapas envolvidas do processo de fabricação geral de um SPE comercial.



Fonte: Próprio autor.

O substrato de impressão ou também chamado de plataforma pode ser composto por diferentes materiais como (policloreto de vinila) PVC, cerâmica de alumina, poliésteres, polietileno tereftalato (PET) sendo o componente central para a impressão das tintas (FANJUL-BOLADO et al., 2008a). Inicialmente, em 1, a primeira camada a ser impressa é uma tinta metálica condutora (Au, Pt ou Ag) aplicada com área definida sob o substrato para fornecer o contato elétrico entre as tintas sucessivas dos eletrodos. A tinta Ag é a mais utilizada para a fabricação de circuitos condutores do SPE, pois possui um custo menor do que as tintas de ouro ou de platina e apresenta boa condutividade elétrica (JEWELL et al., 2015; TALEAT; KHOSHROO; MAZLOUM-ARDAKANI, 2014; VENKATA KRISHNA RAO et al., 2015).

Para a camada sucessiva, em 2, uma tela com uma nova área definida é colocada sob substrato contendo a camada metálica dos contatos, então a tinta condutiva de interesse (tinta de Ag ou Ag/AgCl para o eletrodo de referência da Figura 2) cai sobre uma área vazia da placa. Um rolo ou rodo é movido através da tela para forçar ou bombear

a tinta de impressão através da abertura da tela se aderindo ao substrato. Em geral, diferentes padrões de tela são usados para imprimir diferentes partes do eletrodo (ET e EA). Para imprimir duas camadas de tinta em um substrato, a primeira tinta deve ser solidificada por tratamento térmico. Após o processo de secagem (cura) da tinta, outra tela com uma nova área delimitada é fixada sobre o substrato. Novamente a tinta de interesse, agora para o eletrodo auxiliar, em 3, é derramada sob a tela e o processo se repete até a secagem. Por fim, o mesmo procedimento para o eletrodo de trabalho como mostrado em 4. A etapa final, em 5, de impressão consiste em aplicar uma camada de uma tinta isolante para conferir proteção aos contatos elétricos do eletrodo com o meio externo. As regiões não isoladas são aquelas que irão desempenhar funções ativas, como o local contendo os três eletrodos que estará em contato com a amostra e a região final do caminho condutivo de prata que será conectado ao potenciostato. Este procedimento é mecanicamente robusto e permite a produção em larga escala de eletrodos. No entanto, muitos parâmetros podem afetar o processo de impressão, como a composição das tintas, força de espalhamento, viscosidade, o tratamento térmico, etc. (HART; WRING, 1997; JADAV et al., 2018; LI et al., 2012; MOHAMED, 2016; THIYAGARAJAN et al., 2014; WANG; MUSAMEH, 2004).

As tintas comerciais de carbono, ouro, prata e cobre são as mais utilizadas na produção dos SPE's, contudo, a de carbono tem sido largamente utilizada por apresentar algumas vantagens sobre outras tintas, como custo menor, baixas correntes residuais, facilmente modificável e por proporcionar uma regeneração da superfície mais eficiente (WANG et al., 1998). A composição das tintas usadas na fabricação dos eletrodos é o fator mais crítico, pois a seletividade e sensibilidade de detecção estão diretamente relacionadas com o material utilizado. A grande versatilidade é que as tintas de impressão podem ser modificadas pela adição de diferentes compostos (metais, enzimas, polímeros, agentes complexantes, nanomateriais etc.) com o objetivo de melhorar as propriedades eletroquímicas através das novas características físico-químicas do eletrodo (ECONOMOU, 2018).

Alguns aditivos, como plastificantes e ligantes, são adicionadas às tintas (eletrodo de trabalho, referência e auxiliar) para garantir a adesão e a dispersão do material de forma eficiente e homogênea no substrato. Estes aditivos estão diretamente relacionados com propriedades importantes nos eletrodos como, rugosidade, espessura, resistência química

e elétrica, além disso, influenciam também nas características analíticas como sensibilidade e seletividade. (KIT-ANAN et al., 2012; LIN et al., 2008).

Os plastificantes comumente utilizados na fabricação de um SPE são o 2-nitrofenil octil éter (o-NPOE), o dioctil ftalato (DOP), dioctil sebacato (DOS), dibutil ftalato (DBP), e fosfato de tricresilo (TCP) e são responsáveis principalmente pela adesão da tinta ao substrato. Já os ligantes mais comuns são as resinas epóxi, acetato de celulose, resinas de poliuretana ou resinas fenólicas tendo como função a homogeneização dos constituintes das tintas. A concentração e a compatibilidade entre os aditivos são fatores chave para a produção de eletrodos impressos robustos. As variações das massas de ligantes e plastificantes podem resultar em alterações na viscosidade das tintas, na resistência elétrica, nas propriedades físicas e químicas e na vida útil do eletrodo (CUI et al., 2001; FRAG et al., 2011; JADAV et al., 2018; KRÖGER; TURNER, 1997; MOHAMED, 2016).

A maioria dos componentes das tintas (plastificantes e ligantes) requerem condições específicas de temperatura de cura para que o sensor não seja destruído ou exiba efeitos negativos durante as análises devido à secagem. Desta forma, a escolha dos aditivos é realizada em função da temperatura adequada da secagem da tinta. Porém, está bem estabelecido que os processos de impressão e cura e diferenças na composição das tintas comerciais têm efeitos significativos nas propriedades eletroquímicas do sensor produzido (KHALED; MOHAMED; AWAD, 2008; MOHAMED, 2016).

A mistura de solventes como acetona e cicloexanona, ajudam a manter todos os componentes da tinta em sua forma líquida e com viscosidade adequada, até a aplicação nas placas de impressão. A escolha do solvente da tinta condutiva depende principalmente na aplicação e da superfície de impressão e, geralmente possuem baixa pressão de vapor para que não ocorra a secagem prematura da tinta. Solventes com elevadas taxas de evaporação podem alterar a viscosidade durante o processo de impressão resultando em uma tinta não homogênea e de difícil manipulação. É altamente aconselhável o uso de água como solvente na formulação das tintas por ser ambientalmente favorável. Contudo, a solubilização dos componentes das tintas e a adesão ao substrato é comprometida (ALEEVA; PIGNATARO, 2014; MOHAMED, 2016).

Além da possibilidade de produzir inúmeros eletrodos pela incorporação de vários compostos às tintas de impressão, a superfície do eletrodo de trabalho pós fabricação pode

ser facilmente modificada pela deposição de materiais catalíticos para aprimorar o desempenho eletroquímico (LI et al., 2012; RENEDO; ALONSO-LOMILLO; MARTÍNEZ, 2007; WRING; HART, 1992). Em princípio, tais modificações podem ser realizadas por metodologias eletroquímicas ou por simples dispersão do material de interesse na superfície do eletrodo de trabalho. A formação de filmes de mercúrio em eletrodos de carbono convencionais tem sido aplicada ao longo dos anos para a determinação de metais pesados em níveis de traços em amostras ambientais, biológicas e de combustíveis. Entretanto, com o surgimento do SPE, essa modificação também foi possível para este tipo de eletrodo, e metais como Cu, Zn, Pb, Cd foram analisados em diferentes amostras. A desvantagem desse tipo de modificação é o uso de mercúrio tóxico que pode representar uma ameaça ao meio ambiente devido à geração de resíduos (HONEYCHURCH; HART, 2003). Consequentemente, outros metais foram explorados como filmes de Au, Ag, filmes de Ni e Bi. Neste caso, estas películas finas são depositadas no eletrodo de trabalho do SPE constituído geralmente por algum material de carbono (RENEDO; ALONSO-LOMILLO; MARTÍNEZ, 2007).

Através da formação de filmes metálicos sobre o eletrodo de carbono, os limites de detecção e sensibilidades são consideravelmente melhorados com o auxílio de metodologias de redissolução (“*stripping*”) que pré-concentram o analito de interesse na superfície do eletrodo. Nesse mesmo sentido, as modificações com nanomateriais, por exemplo, nanotubos de carbono, grafeno, nanopartículas de ouro ou prata, apresentam características interessantes como o aumento da área superficial e, consequentemente, a melhora da sensibilidade do sensor. No entanto, o principal problema de formação de películas na superfície do eletrodo é garantir a reprodutibilidade adequada durante sucessivas modificações (COUTO; LIMA; QUINAZ, 2016; HONEYCHURCH; HART, 2003; MOHAMED, 2016; TRACHIOTI; HRBAC; PRODRUMIDIS, 2018).

As resinas de troca iônica, agentes quelantes, aminoácidos, polímeros, bases de Schiff, azul da Prússia e diferentes materiais de carbono nanoestruturados já foram utilizados nas modificações do SPE como uma alternativa para contornar os problemas de seletividade e fornecer características diferentes ao novo eletrodo. Outra forma de modificação é a produção de biossensores através da incorporação de materiais biológicos no SPE. As enzimas exibem um comportamento mais seletivo em relação às modificações sintéticas. Eles têm alta especificidade devido a fatores como tamanho, forma e grupos funcionais. Biossensores baseados em SPEs levaram a novas possibilidades na detecção

e quantificação de biomoléculas (glicose), pesticidas, antígenos, DNA, microrganismos e enzimas. Contudo, o estudo da distribuição e da estabilidade dos materiais modificadores na superfície do eletrodo de trabalho do SPEs é um aspecto muito importante, uma vez que a maioria das propriedades eletroquímicas dependerá da eficiência dessa cobertura superficial (ALONSO-LOMILLO; DOMÍNGUEZ-RENEDO; ARCOS-MARTÍNEZ, 2010; SHARMA et al., 2018; TALEAT; KHOSHROO; MAZLOUM-ARDAKANI, 2014; TROJANOWICZ, 2016).

Atualmente, os SPEs produzidos com tintas de ouro são vendidos comercialmente. Diferentes tipos podem ser adquiridos dependendo dos objetivos do analista (DROPSSENS, 2018). Alguns eletrodos são resistentes a solventes orgânicos, adequados para análise em meio não aquoso, e outros são destinados à análise exclusivamente em meio aquoso. Eletrodos de ouro com diferentes propriedades eletroquímicas podem ser adquiridos de acordo com as temperaturas de cura durante a impressão. Esses eletrodos são robustos, têm boa sensibilidade e baixos limites de detecção, especialmente para metais tóxicos, além disso, sua superfície pode ser facilmente modificada com outros materiais.

1.4 Aplicações dos SPE's

O uso de eletrodos impressos é recente, principalmente quando se trata de sensores voltados para análises biológicas. Em uma busca pela literatura, os primeiros relatos do surgimento de eletrodos impressos estão relacionados com o sensor de glicose comercial “pen-sized”. Em 1987, Matthews et al. (MATTHEWS et al., 1987) publicaram um artigo no qual descrevia o desenvolvimento de um biossensor impresso para a leitura direta de glicose no sangue. O eletrodo descartável com substrato de PVC era conectado a um leitor eletrônico do tamanho de uma caneta, daí o nome “pen-sized” com cerca de 13,5 cm de comprimento por 0,9 cm de diâmetro e que continha um display. Uma gota de sangue do paciente é aplicada à área definida do eletrodo. A medida consistia na oxidação da glicose para ácido glucônico catalisada pela Glicose-oxidase depositada sob a superfície do eletrodo. Os elétrons gerados são transferidos para um eletrodo adjacente (grafite) por meio de um mediador (ferroceno). A magnitude da corrente gerada é proporcional à concentração de glicose no sangue que é exibido em mg/dL no display. Não foram

descritos mais detalhes sobre os componentes do eletrodo. Os autores concluíram que o método apresentou boa exatidão, era rápido, preciso e silencioso e se tornaria promissor para a comercialização.

Em 1992 WRING e HART (WRING; HART, 1992) escreveram um artigo que enfatizou os detalhes práticos para a fabricação de sensores de forma geral e sua posterior avaliação. Os autores dividiram o trabalho em três partes. Em primeiro lugar foi realizada a produção dos eletrodos impressos por serigrafia no qual foi demonstrada com grande clareza cada etapa de fabricação do dispositivo. Os aditivos, o design, a geometria e os equipamentos necessários foram discutidos pelos autores. Posteriormente, os sensores produzidos foram avaliados eletroquimicamente e, por fim, aplicados para a determinação direta de ácido ascórbico e glutadiona reduzida (GSH) em sangue humano. Neste trabalho os autores constataram que os eletrodos impressos de carbono não modificados e modificados com ftalocinanas foram produzidos com facilidade, rapidez e apresentaram baixo custo, além disso, as determinações das biomoléculas diretamente do sangue foram promissoras.

Uma revisão publicada por HART e WRING em 1994 (HART; WRING, 1994) os autores descreveram o projeto e a fabricação de sensores eletroquímicos voltamétricos e amperométricos impressos em tela, juntamente com suas aplicações para o monitoramento *in situ* de biomoléculas, drogas e potenciais poluentes ambientais. Entre as diferentes aplicações, os eletrodos foram utilizados para as determinações de ácido ascórbico, ácido úrico e glicose. Na classe dos fármacos foram demonstradas análises de paracetamol, ácido salicílico e teofilina. E com foco ambiental foram analisados chumbo, cádmio e cobre por técnicas eletroquímicas de pré-concentração além da determinação de inseticidas organofosforados. Os autores concluíram que é amplamente aceito que os sensores portáteis e descartáveis oferecem uma oportunidade ideal para realizar análises rápidas, simples e de baixo custo sem a necessidade de um laboratório complexo.

HART e WRING em 1997 (HART; WRING, 1997) abordaram a aplicação deste tipo de eletrodo nas áreas biomédica, ambiental e industrial. No que se refere as aplicações biomédicas foram demonstradas determinações de biomoléculas, tais como a glicose, lactose, colesterol, DNA etanol, ácido úrico e os compostos orgânicos voláteis (COV's) contendo enxofre. Para o foco ambiental e industrial, foram mostradas aplicações nas determinações de formaldeído, hidrazina, nitrito, fenol, paracetamol, pesticidas, herbicidas e metais tóxicos. Neste mesmo trabalho também foram discutidas

as possíveis modificações da superfície dos eletrodos impressos e os processos de fabricação desses dispositivos.

NASCIMENTO e ANGNES em 1997 (NASCIMENTO; ANGNES, 1998) publicaram uma revisão brasileira no qual abordou a tecnologia de impressão em tela para a produção em larga escala de eletrodos impressos e as diversas aplicações. Neste trabalho foram apresentadas as etapas de fabricação, os detalhes e as estratégias para a construção de eletrodos modificados e não modificados, assim com as tintas, os aditivos e as respectivas propriedades que cada uma exerce sobre o produto final. Os autores destacaram o excelente desempenho da amperometria na determinação de pesticidas, biomoléculas e fármacos utilizando os eletrodos impressos. Além disso, foram discutidas o desenvolvimento e aplicação destes sensores para gases como, carbônico, monóxido de carbono, hidrogênio, amônia, óxidos de nitrogênio, COV's e de umidade.

Em outras duas revisões publicadas os autores focaram no uso de eletrodos impressos nas áreas biomédicas. Na primeira revisão (ALBAREDA-SIRVENT; MERKOÇI; ALEGRET, 2000), foi enfatizada a discussão de diferentes configurações utilizadas na fabricação de biossensores. Os autores mostraram a influência do tipo de deposição, manual ou eletroquímica, de múltiplas camadas biológicas sobre o substrato do eletrodo impresso. Além disso, foi demonstrado o uso de tintas ou pastas de compósitos depositadas em duas ou mais etapas. Diferentes procedimentos de imobilizações enzimáticas também foram discutidos. Como analitos de interesse cabe ressaltar a determinação de glicose, ácido láctico, etanol, pesticidas e metais pesados utilizando esses biossensores. Na segunda revisão (ALONSO-LOMILLO; DOMÍNGUEZ-RENEDO; ARCOS-MARTÍNEZ, 2010), os autores discutiram a aplicação de diferentes biossensores para análises *in situ* de microrganismos na prevenção de problemas epidêmicos de saúde humana, animal e vegetal. Inicialmente foram demonstradas as diferentes formas de imobilização de materiais biológicos como DNA e antígenos nos eletrodos impressos para a detecção de *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* em amostras de água de rio, leite entre outras. Na segunda desta revisão, diferentes microrganismos (*E. coli*, *Pseudomonas*) foram imobilizados nos sensores a fim de serem avaliados na determinação de fenóis, ácidos graxos, agrotóxicos, mono- e dissacarídeos em leite em águas residuais

HONEYCHURCH e HART em 2003 (HONEYCHURCH; HART, 2003) publicaram uma revisão mostrando os métodos de fabricação, o design e o desempenho

de vários eletrodos impressos à base de carbono (SPCE) para o monitoramento de metais em amostras biológicas, ambientais e industriais. Foram apresentados aspectos importantes dos eletrodos como faixa linear e limites de detecção após a formação de filmes de Hg e Bi, Au e Cu, uso de agentes quelantes e modificações químicas sobre a superfície do eletrodo de trabalho de carbono. Os principais metais analisados por esses eletrodos foram Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ e Cd^{2+} em amostras de água potável, em lençóis freáticos, urina e sangue.

HART em 2004 (HART et al., 2004) escreveu uma revisão a respeito da fabricação de sensores e biosensores eletroquímicos baseados na tecnologia de impressão em tela e suas aplicações em análises farmacêuticas, biomédicas, ambientais e industriais. Porém, os autores deram ênfase específica a biomoléculas naturais, drogas e potenciais poluentes ou toxinas ambientais e industriais. O trabalho mostrou as inúmeras modificações que podem ser realizadas nos eletrodos impressos com a finalidade de melhorar as características eletroquímicas. Materiais como enzimas, antígenos, membranas, aminoácidos, óxidos metálicos, DNA, foram utilizados e, alguns casos, a estabilidade do sinal analítico após a modificação foi de até 52 semanas. Por outro lado, foi demonstrado que os eletrodos não modificados de carbono foram eficientes nas determinações de compostos farmacêuticos e vestígios de explosivos. Os autores concluíram que as técnicas de fabricação e modificação das tintas de impressão assim como a estabilização das modificações nos eletrodos estão em constante melhora. Ainda destacaram os benefícios econômicos de tais sistemas analíticos portáteis e versáteis para análises em campo e que podem perfeitamente ser utilizados por analistas não qualificados devido à facilidade de manipulação e controle.

Uma das revisões mais completas a respeito dos avanços recentes dos eletrodos impressos e suas aplicações foi publicada em 2007. Os autores defendem que as tintas ou pastas à base de carbono são geralmente as mais utilizadas na fabricação de SPE's devido a sua facilidade de modificação e seu baixo custo em relação aos eletrodos de ouro ou prata, por exemplo. A formação de filmes de Hg, Bi, Au e Ni e modificações com nanopartículas, polímeros, enzimas e antígenos sobre as tintas de carbono do SPE mostrou a ampla aplicação desses sensores na determinação de pesticidas, herbicidas e metais pesados, e em ensaios biológicos para a determinação de glicose, colesterol, peróxido de hidrogênio, etanol e compostos fenólicos. Além disso, foi demonstrado como imunossensores para ensaios eletroquímicos na determinação de hormônios, análises

clínicas, toxinas em alimentos, medicamentos e contaminantes ambientais (RENEDO; ALONSO-LOMILLO; MARTÍNEZ, 2007).

LI em 2012 (LI et al., 2012) publicou uma revisão na qual foram apresentados os princípios de fabricação, materiais de impressão, como as tintas e aditivos, novos designs e procedimentos eletroquímicos para o pré-tratamento dos eletrodos impressos com o objetivo de remover de constituintes das tintas e dos aditivos que podem alterar a funcionalidade dos dispositivos. Esta revisão, com foco ambiental, mostrou a aplicação de diferentes SPE's em testes de rotina da qualidade da água como pH, oxigênio dissolvido, nitrato e fosfato. Também foram discutidos o uso dos dispositivos para as análises de compostos orgânicos como, fenóis, pesticidas, herbicidas, hidrocarbonetos poliaromáticos e resíduos de antibióticos, a detecção simultânea de metais (Pb, Cd, Hg e As), gases poluentes (CO, NO_x e COV's), além de elementos radioativos e bactérias.

TALEAT em 2014 (TALEAT; KHOSHROO; MAZLOUM-ARDAKANI, 2014) apresentou uma revisão composta de 226 artigos sobre a gama de possibilidades para as modificações de eletrodos impressos e suas respectivas aplicações biológicas. Nos trabalhos referenciados, os autores demonstraram o uso de eletrodos, geralmente de materiais carbonáceos, modificados por vários tipos de compostos diferentes como, nanopartículas metálicas, polímeros, líquidos iônicos, enzimas, DNA e antígenos. As aplicações foram amplas, detecção de DNA e biomarcadores de câncer, imunossensores para a determinação de microrganismos, toxinas e hormônios, sensores enzimáticos para glicose, peróxido de hidrogênio, várias drogas farmacêuticas, neurotransmissores e amino ácidos.

BARTON (BARTON et al., 2016) publicou uma revisão abordando aplicações de eletrodos modificados com filmes de mercúrio, bismuto, SPEs de carbono quimicamente modificado e não modificado, SPEs baseados em inibição enzimática, para a determinação de metais pesados em água de rio, solo e sedimentos, água de chuva, água de torneiras, água do mar, bebidas, sangue e lençóis freáticos. Uma outra discussão interessante dos autores mostrou uma visão geral dos analisadores de metais como o ICP-MS que são caros, exigem preparo de amostras, além de não possibilitar análises *in loco*. Uma alternativa interessante seria o uso de analisadores portáteis baseados em voltametria de redissolução anódica que podem ser aplicados para as determinações de metais em níveis traço ($\mu\text{g kg}^{-1}$) sem a necessidade do preparo moroso das amostras. Além

disso, os sistemas podem ser utilizados no local da coleta das amostras e apresentam um custo muito menor comparado com os equipamentos convencionais.

COUTO em 2016 (COUTO; LIMA; QUINAZ, 2016) publicou uma revisão a respeito do uso de eletrodos impressos para análises de fármacos e compostos biológicos. Os autores discutiram de forma detalhada a produção do SPE, o design e os aditivos usualmente utilizados nos dispositivos. Nesta revisão os eletrodos mais abordados foram os de carbono puro, os alótropos como os de grafeno e grafite, os nanotubos de carbono e as modificações com nanopartículas e enzimas, e os imunossensores. As aplicações farmacológicas foram amplas assim como as amostras que contaram com formulações farmacêuticas, urina, sangue e soluções aquosas.

MOHAMED em 2016 (MOHAMED, 2016) publicou uma revisão mostrando os princípios gerais para a fabricação não industrial de eletrodos impressos, e os efeitos de aditivos como plastificantes, aglutinantes, solventes e as tintas de carbono na performance do produto final. Além disso, foram discutidas possíveis modificações dos eletrodos como a formação de filmes metálicos de mercúrio, a eletrodeposição de nanopartículas, o uso de líquidos iônicos e a incorporação de material biológico para análises seletivas. Como foco farmacêutico as aplicações foram voltadas para o controle de qualidade de medicamentos testes e determinação de resíduos farmacêuticos em amostras ambientais, alimentares e biológicas. Por fim, foram apresentadas as possíveis aplicações e direções de pesquisa para análise farmacêutica.

LI em 2017 (LI et al., 2017) abordou o uso de SPE para determinações eletroanalíticas. Neste trabalho os autores descrevem as aplicações de diferentes SPE's tais como os, modificados com filmes de bismuto, nanopartículas metálicas, nanomateriais de carbono, biopolímeros e material biológico para detecções de metais, pesticidas e herbicidas além de compostos fenólicos. Neste mesmo trabalho foram abordadas também as aplicações de eletrodos de prata não modificados e eletrodos impressos de carbono não modificados ativados eletroquimicamente para a determinação de fenol em poluentes industriais.

SQUISSATO em 2018 (SQUISSATO et al., 2018a) abordou a aplicação de diferentes tipos de SPE's para o monitoramento de aditivos e contaminantes (antioxidantes, corantes e metais) em combustíveis fósseis e renováveis como biodiesel, diesel de petróleo, etanol e querosene de aviação. Nesse trabalho os autores relataram que

os eletrodos impressos podem ser modificados necessário em muitos casos como forma de fornecer maior sensibilidade, seletividade e eliminar interferências de matriz. O preparo das amostras, para a maioria dos trabalhos citados, era realizado apenas pela simples diluição no eletrólito apropriado o que simplificava o método de análise e diminuía a geração de resíduos. Além disso, o uso de eletrodos impressos colabora para miniaturização do sistema facilitando análises de combustíveis em campo e em tempo real.

1.5 Análise por injeção em batelada (BIA)

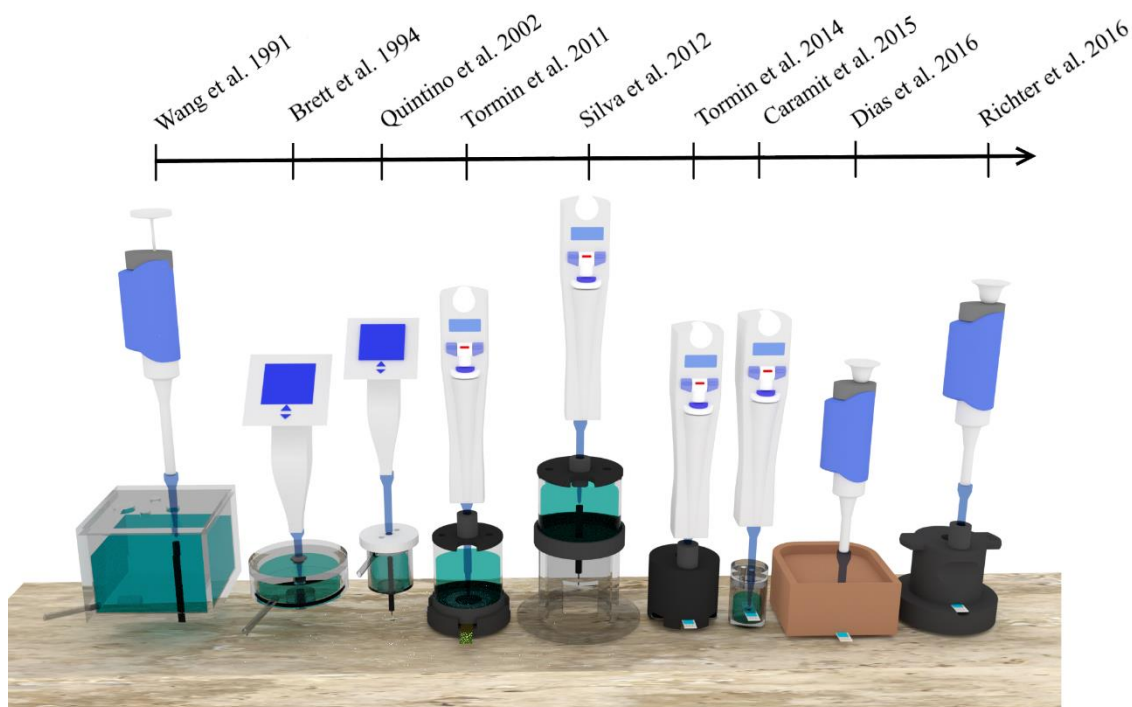
A crescente demanda por análises rápidas e a necessidade por resultados no campo (*in loco*) e em tempo real para um grande número de amostras favoreceram o desenvolvimento de pesquisas voltadas para a construção de sistemas automatizados com elevada frequência analítica, boa precisão e exatidão, e que possuam características portáteis, além de apresentar um custo por análise inferior às metodologias tradicionais (JANASEK; FRANZKE; MANZ, 2006; VUILLEMIN et al., 2009). Neste sentido, metodologias baseadas em sistemas por injeção em fluxo (FIA, do inglês, *Flow Injection Analysis*) receberam grande atenção nas décadas de 1980 e 1990. O princípio de funcionamento do FIA consiste na injeção em intervalos regulares da amostra que é transportada ao detector por um fluxo contínuo de um líquido transportador (RŮŽIČKA; HANSEN, 1978). A combinação do sistema FIA com detectores eletroquímicos proporcionaram altas velocidades de análises, exatidão e precisão, boa sensibilidade e ampla aplicabilidade em diferentes setores como o ambiental, industrial e químico (TROJANOWICZ, 2011).

Outros conceitos inovadores para metodologias analíticas automatizadas foram introduzidos. No ano de 1991, Wang e Taha (WANG; TAHA, 1991a) apresentaram uma nova técnica baseada na análise por injeção em batelada (BIA, do inglês, *Batch Injection Analysis*), a qual representa uma forma alternativa e promissora de realizar testes rápidos e eficientes em substituição ao FIA. De maneira geral a técnica BIA, diferentemente do FIA, envolve a injeção de alguns microlitros de amostra com o auxílio de uma micropipeta diretamente sobre a superfície do eletrodo de trabalho (na posição “*wall-jet*”) que está acoplado a célula e imerso por uma grande quantidade de eletrólito. Como uma vantagem em relação ao sistema FIA, o sistema BIA elimina o uso de bombas, válvulas

ou conexões caras e o descarte de soluções transportadoras, principalmente em análises em meios orgânicos onde são geradas grandes quantidades de resíduos (QUINTINO; ANGNES, 2004).

O primeiro sistema BIA proposto por Wang e Taha consistia de uma célula eletroquímica de acrílico na qual o eletrodo de trabalho era posicionado em um orifício na parte inferior da célula com sua superfície direcionada para cima. Então, a ponteira de uma pipeta era alocada de forma segura em outro orifício localizado na tampa da célula e exatamente contrária a face do eletrodo de trabalho. É de grande importância a ponteira da pipeta se manter de forma estável e rígida na tampa da célula, além disso, o analista deve garantir que a distância entre a ponteira e a superfície do eletrodo sempre será a mesma em todas as injeções a fim de garantir reprodutibilidade as medidas. Para isso, o eletrodo de trabalho poderia ser movido para cima ou para baixo até que fossem feitos os ajustes necessários. Em outros dois orifícios na tampa os eletrodos de referência (ER) e o auxiliar (EA) eram introduzidos e fixados. A célula continha um dreno para evitar que o eletrólito transbordasse após injeções sucessivas. Uma barra de agitação era adicionada dentro da célula para a solução eletrolítica se manter sob constante agitação (WANG; TAHA, 1991a, 1991b, 1991c). Atualmente, as células BIA utilizadas possuem praticamente as mesmas configurações da inicial, com melhorias no material de revestimento e no acabamento onde são comportados os eletrodos e a pipeta, além disso, a redução do volume da célula (aproximadamente 100 mL) colabora para a geração de menos resíduos. Recentemente, novos modelos de células são produzidos para acoplar os eletrodos impressos, os quais serão discutidos posteriormente. A Figura 3 ilustra as células BIA desenvolvidas ao longo dos anos por diferentes grupos de pesquisa (BRETT; BRETT; MITOSERIU, 1995; CARAMIT et al., 2015; DIAS et al., 2016; QUINTINO et al., 2002; RICHTER et al., 2016; SILVA et al., 2012; TORMIN et al., 2014, 2011; WANG; TAHA, 1991a).

Figura 3: Ilustração dos sistemas BIA desenvolvidos ao longo dos anos.



Fonte: Figura retirada de (ROCHA et al., 2018).

Os procedimentos de injeção das amostras podem ser realizados por micropipetas convencionais ou eletrônicas. Contudo, para se garantir maior precisão dos parâmetros do volume injetado e da velocidade de injeção, as pipetas eletrônicas são altamente recomendadas devido sua forma precisa de regulação eletrônica. Desta forma, mesmo com analistas inexperientes, as injeções podem ser realizadas de forma reprodutível. Por outro lado, bons resultados obtidos com o sistema BIA também são atribuídos a combinação de outros dois fatores: o primeiro está relacionado com o princípio hidrodinâmico da célula na configuração *wall-jet* e o segundo é a elevada diluição da amostra na solução eletrolítica após a injeção (BRETT; BRETT; MITOSERIU, 1994; GIMENES et al., 2012; QUINTINO; ANGNES, 2004). Diferentemente das primeiras células eletroquímicas para o uso em BIA que comportavam volumes entre 250 até 700 mL, as células atuais tiveram seus volumes reduzidos para aproximadamente 120 mL pois os estudos demonstraram que os efeitos de memória das espécies analisadas não foram observados. A redução do volume da célula BIA é outro ponto importante pois diminui a geração de resíduos pós análises, são mais fáceis de manusear e facilitam as

análises em campo, mantendo as mesmas características analíticas das células com grandes volumes (QUINTINO; ANGNES, 2004).

Dentre as técnicas eletroanalíticas a amperometria é uma das mais utilizadas em associação com a análise com sistemas BIA. Nas medições amperométricas, a corrente é monitorada em função do tempo sob um potencial fixo e as áreas de pico (ou alturas de pico) são proporcionais às concentrações do analito. O motivo para essa preferência está relacionado a elevada frequência analítica durante os experimentos e boa sensibilidade para uma gama de compostos. Além disso, respostas lineares numa ampla faixa de concentrações são geralmente obtidas nos experimentos e os picos de corrente obtidos são sobrepostos a uma corrente residual constante e baixa (BRETT; BRETT; MITOSERIU, 1994; NASCIMENTO; ANGNES, 1998; OLIVEIRA et al., 2016; QUINTINO; ANGNES, 2004). Contudo, alguns fatores na escolha do potencial fixo de trabalho devem ser considerados. A seleção de potenciais extremos (mais positivos para as espécies que oxidam ou negativos para as espécies que reduzem) aumentam a probabilidade de interferência de outras espécies eletroativas presentes na amostra ou no eletrólito o que comprometeria a seletividade do método. De forma geral, quando um potencial menos positivo (próximo a 0,0 V) é escolhido, uma condição mais seletiva é obtida.

1.6 Sistema BIA acoplado com eletrodos impressos

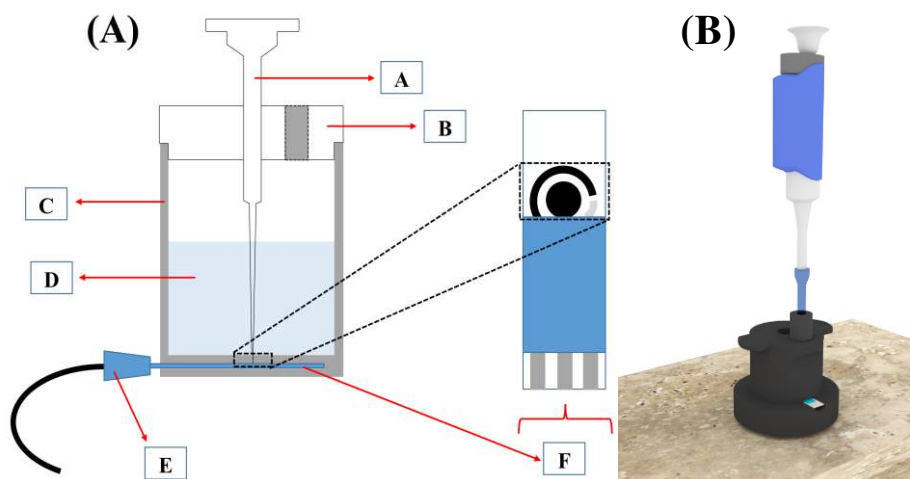
Desde o desenvolvimento do sistema BIA em 1991 por Wang e Taha até os dias atuais transcorreram cerca de 28 anos. Nesse intervalo, vários trabalhos foram publicados utilizando diferentes eletrodos de trabalho, comerciais ou fabricados em laboratórios, e que foram acoplados ao sistema BIA, possibilitando a detecção de uma gama de analitos por técnicas como a amperometria e a voltametria. O protótipo da célula inicialmente proposto foi modificado ao longo dos anos pelos pesquisadores com o intuito de se adequarem a outros tipos de eletrodos que não apresentavam a forma convencional de bastão, como o de diamante dopado com boro (QUINTINO; ANGNES, 2004; ROCHA et al., 2018). Entretanto, a maioria dos eletrodos convencionais está sujeita a passivação ou envenenamento devido a adsorção de espécies na superfície dos materiais que o compõe. Esses problemas geralmente são contornados através de polimentos da superfície do eletrodo e tratamentos eletroquímicos o que provoca certo desconforto ao

analista devido ao aumento do tempo de cada análise. Por outro lado, existem dificuldades relacionadas a reprodutibilidade dos eletrodos após as inúmeras modificações possíveis. Somado a isso, o sistema BIA contando com três eletrodos individuais (trabalho, referência e auxiliar) dificulta o implemento de análises em campo principalmente pela questão da portabilidade uma vez que mais componentes individuais são necessários para a montagem do sistema (NASCIMENTO; ANGNES, 1998).

Nos dias atuais o campo da química analítica tem exigido o desenvolvimento de sistemas portáteis para atender as necessidades de análises em campo (WANG, 2002). No ramo da eletroanálise os eletrodos impressos em tela (SPE's) é uma alternativa atraente nesse aspecto devido ao baixo custo (produção em grande escala), respostas rápidas e precisas, e pela simplicidade e robustez devido à possibilidade de combinar os três eletrodos (trabalho, auxiliar e pseudo-referência) em um único disposto de cerâmica, plástico entre outros materiais. Além disso, o uso dos SPE's contorna a tediosa etapa de limpeza do eletrodo (assim como ocorre nos eletrodos sólidos), pois ao identificar a passivação da superfície de trabalho do dispositivo durante as medidas, um novo SPE pode ser utilizado para os experimentos seguintes.

O fenômeno de passivação ou contaminação do eletrodo pode ser minimizado acoplando-se o SPE em células eletroquímicas para sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA-SPE) ou de análise por injeção em batelada com agitação (BIA-SPE), desta forma há uma redução do tempo de contato do analito de interesse com o eletrodo de trabalho aumentando o tempo de vida útil do sensor. Considerando as características das células BIA e dos SPEs, concluiu-se que um sistema que a combinação de ambos dispositivos tem grande potencial para ser utilizado como um sistema eletroquímico portátil (STEFANO et al., 2016). O primeiro trabalho utilizando o BIA-SPE é de 2014, no qual foi proposto um sistema totalmente portátil, apropriado para análises em campo, robusto, reprodutível e sensível. O desempenho do sistema foi avaliado na determinação de analitos modelos, como peróxido de hidrogênio, diclofenaco, e metais pesados (Pb, Cu e Hg) (TORMIN et al., 2014). Após a publicação do trabalho, uma versão do sistema BIA-SPE está sendo comercializada pela Dropsens (Oviedo, Espanha) oriundo da parceria do grupo de pesquisa com a empresa (RICHTER et al., 2016; TORMIN et al., 2014). A Figura 4 mostra uma representação de uma célula BIA para eletrodos impressos.

Figura 4: (A) – Esquema do sistema BIA acoplado com eletrodo SPE para detecções eletroquímicas. A) ponteira da micropipeta, B) tampa da célula BIA, C) corpo da célula D) solução do eletrólito suporte, E) cabo SPE e F) SPE. (B) Imagem do sistema em perspectiva.

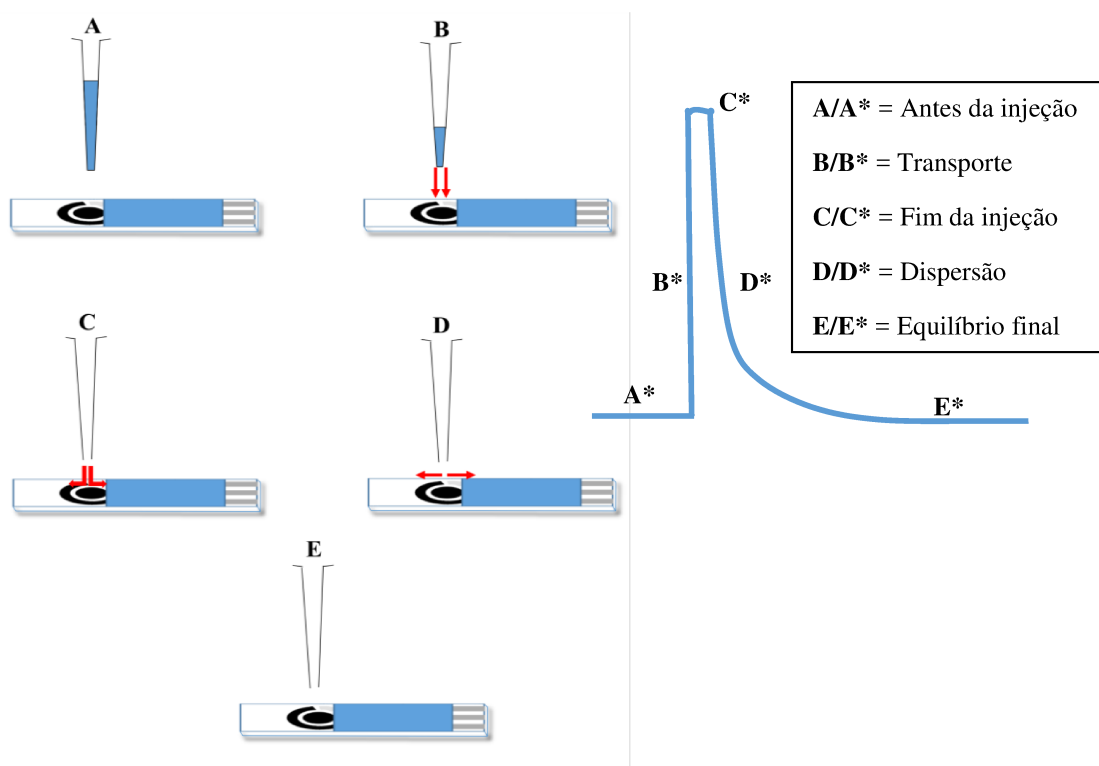


Fonte: Próprio autor. Adaptado de (CARAMIT et al., 2015).

O sistema BIA–SPE pode ser combinado com acessórios alimentados por baterias como a pipeta eletrônica, potenciostatos portáteis, tablets ou notebooks originando um conjunto eletroquímico portátil e robusto (TORMIN et al., 2014; WANG, 2002). Os detalhes específicos sobre a montagem, posicionamento dos eletrodos impressos, operação durante experimentos voltamétricos e amperométricos, assim como os sinais obtidos e os fenômenos na superfície do eletrodo podem ser acessados em vídeos disponibilizados na internet (NUPE IQ-UFU, 2015a, 2015b).

Neste trabalho, em específico, foi utilizada a técnica de amperometria para a detecção de diclofenaco e peróxido. Os perfis do sinal obtido nas determinações estão diretamente relacionados as etapas de injeção e difusão da amostra pela pipeta na superfície do eletrodo. Através da Figura 5, o transporte de massa e os sinais eletroquímicos obtidos pelo sistema BIA–SPE amperométrico podem ser explicados.

Figura 5: Esquema das etapas operacionais durante o período de injeção de uma amostra sob a superfície de um SPE e os respectivos sinais obtidos em um experimento por BIA com detecção amperométrica.



Fonte: Próprio autor. Adaptado de (QUINTINO; ANGNES, 2004).

O esquema da Figura 5 mostra as etapas operacionais do sistema de injeção da amostra pela pipeta eletrônica e respectivos sinais adquiridos no eletrodo. Em A encontra-se a pipeta contendo a amostra com o analito solubilizado no eletrólito apropriado antes do início da injeção. Em A*, observa-se uma corrente constante referente ao eletrólito suporte com ausência das reações redox na interface eletrodo/solução. No início da injeção da amostra em B, a solução contida na ponteira da pipeta é deslocada para a superfície do eletrodo e, com isso, ocorre um aumento brusco do sinal de corrente em B* resultante da conversão redox do analito na superfície do eletrodo de trabalho (corrente positiva para oxidação e negativa para redução). No último instante da injeção, etapa mostrada em C, após toda solução da pipeta ser descarregada na superfície do eletrodo um patamar máximo de corrente é alcançado permanecendo constante durante um intervalo de tempo muito pequeno como mostrado em C*. Na próxima etapa D ocorre a dispersão do restante da solução sobre o eletrodo e a diluição no eletrólito acompanhado por uma queda abrupta da corrente referente a saída do analito de interesse da superfície.

do eletrodo, como pode ser visto em D^* . Por fim, em E/E^* , após o término do processo de difusão a corrente é restabelecida para as condições de equilíbrio inicial assim como mostrado antes da injeção. A magnitude do sinal de corrente é proporcional a concentração da espécie a ser determinada, apresentando a forma de um pico transiente que decresce até a linha base pelo efeito de limpeza do eletrodo de trabalho promovida pelo grande volume de eletrólito. Além disso, a velocidade de remoção do analito da superfície do eletrodo e consequentemente os efeitos de passivação nos SPE's podem ser minimizados pela adição da agitação magnética, pois a convecção acelera a diluição da amostra no eletrólito após o término da injeção (BRETT; BRETT; MITOSERIU, 1994; QUINTINO; ANGNES, 2004; WANG; TAHA, 1991a).

1.7 Técnicas eletroanalíticas envolvendo redissolução

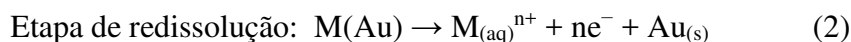
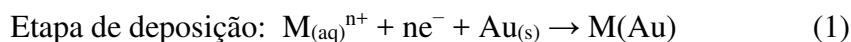
Com a descoberta em 1952 por Barker e Jenkin (BARKER; JENKINS, 1952) da pré-concentração de espécies eletroativas na superfície da gota de um eletrodo de mercúrio conferindo um aumento apreciável da sensibilidade, muitos trabalhos posteriores, principalmente da década de 70 e 80, mostraram as potencialidades e as vantagens desta técnica. A análise por redissolução (*Stripping Analysis*) é um termo geral que engloba uma família de técnicas eletroanalíticas que fazem o uso de uma etapa preliminar de pré-concentração do analito na superfície do eletrodo de trabalho. Essa etapa de acumulação é a responsável pelo aumento da sensibilidade (LD na ordem de 10^{-12} mol L⁻¹) da análise de redissolução em comparação com a detecção eletroquímica convencional quando o analito eletroativo alcança a superfície do eletrodo por difusão ou convecção forçada (ECONOMOU, 2010).

Basicamente o processo ocorre em duas etapas: na primeira, ocorre a etapa de concentração do analito de interesse na superfície do eletrodo. Na segunda ocorre a detecção realizada durante o processo reverso, ou seja, a redissolução ou remoção do analito aderido na superfície do eletrodo para a solução eletrolítica. O sinal obtido é, portanto, proporcional à concentração do analito (HERZOG; BENI, 2013).

Na redissolução voltamétrica os analitos são pré-concentrados sobre um eletrodo de trabalho e posteriormente, as espécies pré-concentradas são redissolvidas para a solução pela aplicação de uma varredura de potenciais. O sinal voltamétrico registrado durante este processo fornece indicação sobre a natureza do analito (valor do potencial)

e sua concentração (valor da corrente). Os analitos são acumulados no eletrodo sob condições de eletrólise (anódica ou catódica) ou no potencial de circuito aberto (baseado na adsorção). Desta forma, as técnicas de voltametria de redissolução podem ser divididas em três grupos principais: a voltametria de redissolução anódica (ASV); a voltametria de redissolução catódica (CSV) e a voltametria de redissolução adsortiva (AdSV) (HERZOG; BENI, 2013; NOBRE; MAZO, 1997; WARD JONES et al., 2007).

Na ASV o analito é pré-concentrado na superfície do eletrodo através da aplicação de um potencial negativo suficiente para reduzir o analito na superfície do eletrodo de trabalho. Esta etapa é geralmente realizada sob agitação para facilitar o transporte de massa até a superfície do eletrodo. A seguir, a etapa de detecção é realizada varrendo-se o potencial do eletrodo da direção anódica (sentido positivo). Assim, o analito previamente depositado na superfície do eletrodo é oxidado e, portando, redissolvido para a solução. As equações químicas (1) e (2) ilustram as etapas de deposição do metal (redução) e a redissolução (oxidação) sobre a superfície de um eletrodo de trabalho de ouro. Adaptado de (BARTON et al., 2016).



No caso da CSV, a etapa de acumulação do analito é realizada pela aplicação de um potencial positivo na qual haverá a formação de uma espécie oxidada insolúvel do analito, por exemplo, a acumulação de Mn^{2+} como MnO_2 . A detecção é realizada pelo monitoramento da redução das espécies para a forma inicial. Já na AdSV a pré-concentração de metais é realizada por meio de acumulação baseada na formação de complexos entre o analito de interesse e ligantes orgânicos adsorvidos na superfície do eletrodo de trabalho. A interação geralmente ocorre na interface entre o eletrodo sólido e a solução do analito e é frequentemente mediada pela presença de um agente complexante como, por exemplo, a dimetilglioxima no caso da detecção de Ni^{2+} (HERZOG; BENI, 2013; KAJIČ et al., 2003; PÉREZ-RÀFOLS et al., 2017b; WANG et al., 2000).

Durante a etapa de redissolução voltamétrica da espécie a varredura de potenciais pode ser em aplicada sob forma de onda ou em rampa linear. Contudo, a varredura pulsada

de potenciais contribui para que a corrente capacitiva seja minimizada, de tal forma que a corrente faradaica (processo redox) é medida com mínima influência da corrente capacitiva (carregamento do eletrodo, corrente residual) e desta forma torna os métodos voltamétricos mais sensíveis (WANG, 2007). Dentro deste contexto, destacam-se os modos de varredura voltamétricos de pulso normal, pulso diferencial e onda-quadrada.

A voltametria de redissolução é uma técnica que tem sido muito utilizada ao longo dos anos, principalmente na determinação de metais traços em amostras ambientais, biológicas, alimentícias e de interesse industrial. Inicialmente o uso dos eletrodos clássicos de gota de mercúrio e, posteriormente, o filme de mercúrio trouxeram vantagens como alta sensibilidade, reprodutibilidade e elevado sobrepotencial para a evolução de hidrogênio. No entanto, devido a toxicidade do mercúrio seu uso para análise em campo ou em laboratórios foi limitado fortemente principalmente por regulamentações ambientais levando à investigação de materiais alternativos como eletrodos incluindo metais nobres (ouro, platina e prata), bismuto e materiais de carbono (carbono vítreo, pasta de carbono, diamante dopado com boro) (ARIÑO et al., 2017; KOKKINOS; ECONOMOU, 2008; WANG, 2005).

O primeiro trabalho utilizando eletrodos impressos para o monitoramento de metais pesados é datado de 1992. Os eletrodos utilizados foram adquiridos em uma farmácia local e a princípio eram sensores comercializados para a determinação de glicose sanguínea. Eram constituídos de um eletrodo trabalho de carbono e uma referência de Ag/AgCl suportados em um substrato de PVC. Por ser um sensor composto apenas de dois eletrodos (trabalho e referência) um fio de platina foi utilizado como eletrodo auxiliar. Os autores realizaram uma modificação do eletrodo trabalho através da deposição eletroquímica de um filme fino de mercúrio para promover a melhora na sensibilidade dos metais de interesse nas análises. Através da voltametria de redissolução anódica por onda quadrada (SWASV) foi possível a detecção de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb e $35 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu em uma mesma varredura utilizando-se três minutos de deposição dos metais na superfície do eletrodo em meio de tampão acetato $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,8. Com o foco voltado na determinação de chumbo, amostras de urina e água potável foram empregas no método. O limite de detecção estimado foi de 30 ng L^{-1} para Pb após 10 minutos de pré-concentração, além disso, baixos desvios foram obtidos para os testes de repetibilidade. Os autores concluíram que o uso de eletrodos impressos aliado as metodologias envolvendo pré-concentração é altamente atrativo para a análises de rotina

por apresentarem baixo custo em relação aos eletrodos convencionais, promissor em determinações fora de um laboratório centralizado, ou seja, análises em campo com o auxílio de sistemas portáteis e apresentar sensibilidade adequada o que possibilita aplicações nas áreas clínicas, industriais e ambientais (WANG; TIAN, 1992).

Desde então os eletrodos impressos para a determinação de metais tem sido alvo de pesquisas até os dias atuais. As preocupações crescentes com a contaminação por metais em alimentos, combustíveis, águas, solo e atmosfera e os efeitos tóxicos aos organismos levaram ao aumento do monitoramento destas espécies em uma grande variedade de matrizes. Características como baixo custo, alta sensibilidade e seletividade, facilidade de modificação e capacidade de análises em campo são sempre ressaltadas nos trabalhos publicados.

Convencionalmente as detecções de metais são realizadas em laboratórios centralizados utilizando técnicas espectroscópicas, como F AAS, GF AAS, contudo, não são adequadas para análises em campo devido a não portabilidade dos equipamentos. O monitoramento em *in loco* de metais permite uma ação corretiva imediata caso seja necessária, além de evitar erros de contaminação e perdas associadas a coleta da amostra (BUFFLE; TERCIER-WAEBER, 2005; PÉREZ-RÀFOLS et al., 2017a; WANG et al., 1999; YAO; WU; PING, 2019).

Tendo em vista como uma área promissora muitos trabalhos foram publicados com respeito ao monitoramento de metais em diferentes matrizes utilizando uma grande variedade de eletrodos impressos modificados ou não. Dentre as amostras utilizadas para as determinações de metais podemos destacar alimentos, combustíveis, ambientais, biológicas e de solos (ARIÑO et al., 2017; BARTON et al., 2016; DUARTE et al., 2015; ECONOMOU, 2018; HAYAT; MARTY, 2014; HONEYCHURCH, 2012; HONEYCHURCH; HART, 2003; LI et al., 2017, 2012; PÉREZ-RÀFOLS et al., 2017a; RANA et al., 2017; SERRANO et al., 2013; SQUISSATO et al., 2018a).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é avaliar diferentes eletrodos impressos (ouro e grafite) resistentes e não resistentes a solventes orgânicos na determinação de anticorrosivo e metais em diferentes matrizes complexas como biocombustíveis, lubrificantes, água do mar sintética e suplemento alimentar.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos:

- 1) com o emprego de eletrodos impressos de grafite resistente a solvente orgânico (95% v/v de etanol) acoplado ao sistema BIA com detecção amperométrica (BIA-AMP) para a determinação direta (simples diluição das amostras no eletrólito) de do anticorrosivo 2,5 dimercapto-1,3,5-tiadiazol (DMCT) em amostras de bioetanol combustível, óleo mineral e água do mar sintética;
- 2) com o emprego de eletrodos impressos de ouro não resistente a solvente orgânico com detecção por SWASV para a determinação de mercúrio em amostras de óleo de peixe em cápsulas após pré-tratamento utilizando métodos de digestão assistida por banho de ultrassom;
- 3) utilizando eletrodos impressos de ouro resistentes a solventes orgânico (90% v/v de etanol) associado à detecção por SWASV para a determinação direta (simples diluição) de cobre livre (Cu^{2+}) em biodiesel e correlacionar a presença deste metal com a estabilidade oxidativa do biocombustível após testes simulados de corrosão de placas metálicas de cobre pela ação do biodiesel.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

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

Todos os reagentes utilizados no trabalho com a identificação do teor (% m/v, % m/m ou % v/v), a empresa em que foi adquirido assim como a cidade onde se localiza o laboratório do fornecedor estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Lista dos reagentes utilizados no preparo de soluções e amostras realizados ao longo do trabalho.

Reagente	Teor (Grau)	Empresa	Origem
Ácido sulfúrico	98% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro (Brasil)
Ácido acético	99,7% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro (Brasil)
Ácido perclórico	70% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro (Brasil)
Ácido nítrico	65% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro (Brasil)
Ácido clorídrico	37% (m/v)	Synth	São Paulo (Brasil)
Ácido fosfórico	85% (m/v)	Synth	Diadema (Brasil)
Ácido bórico	99,5% (m/v)	AppliChem	Darmstadt (Alemanha)
DMCT	98% (m/m)	Alfa Aesar	Ward Hill (EUA)
Etanol	99,8% (v/v)	Vetec	Rio de Janeiro (Brasil)
Ferroceno	99% (m/m)	Sigma-Aldrich	Steinheim (Alemanha)
Hidróxido de sódio	98,0% (m/m)	Panreac	Barcelona (Espanha)
TBHQ	99% (m/m)	Sigma-Aldrich	Steinheim (Alemanha)
BHT e 2,6-TBP	98% (m/m)	Sigma-Aldrich	Steinheim (Alemanha)
Pirgalol (PI)	>98% (m/m)	Sigma-Aldrich	Steinheim (Alemanha)
Propil Galato (PG)	>98% (m/m)	Sigma-Aldrich	Steinheim (Alemanha)
Antiespumante A	100% (v/v)	Sigma-Aldrich	Steinheim (Alemanha)
Álcool polivinílico	89% (m/m)	Sigma-Aldrich	Steinheim (Alemanha)
Peróxido de hidrogênio	30% (v/v)	Química Moderna	Barueri (Brasil)
Óleo mineral	-----	Sigma-Aldrich	Steinheim (Alemanha)

Fonte: Próprio autor

Para a primeira parte da tese (monitoramento de inibidores de corrosão em amostras complexas), as soluções analíticas do anticorrosivo foram preparadas imediatamente antes da utilização a partir da dissolução de uma certa massa do padrão em etanol resultando em uma solução-estoque padrão contendo $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de DMCT. Posteriormente, foram realizadas as diluições adequadas no eletrólito suporte.

Amostras de bioetanol combustível foram adquiridas em postos de gasolina da região do Triângulo Mineiro-MG. As amostras de água do mar sintéticas foram preparadas em laboratório de acordo com a ASTM D 1141-98 (Prática padrão para a preparação substituta de água do mar) utilizando somente reagentes de grau analítico como descrito na literatura (MORALES; ARTEAGA, 2016). A Tabela 2 mostra a composição da água do mar sintética pela dissolução dos sais em 1 L de água desionizada. O pH foi ajustado para 8,2 pela adição de alíquotas de uma solução contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH.

Tabela 2: Composição da água do mar sintética.

Composto	Concentração (g/L)
NaCl	24,53
MgCl ₂	5,2
Na ₂ SO ₄	4,09
CaCl ₂	1,16
KCl	0,695
NaHCO ₃	0,201
KBr	0,101
H ₃ BO ₃	0,027
SrCl ₂	0,025

Fonte: Próprio autor

As soluções padrão aquosas de zinco – Zn(II), cromo – Cr(III), cobre – Cu(II), manganês – Mn(II), níquel – Ni(II), chumbo – Pb(II) e mercúrio – Hg(II) contendo 1% (v/v) de HNO₃ (utilizado em espectrofotometria de absorção atômica) com concentração de 1000 mg L^{-1} cada uma, foram adquiridas da empresa Quimlab situada em Jacaré-SP, Brasil.

Na segunda parte do trabalho (determinação de mercúrio em cápsulas contendo óleo de peixe) soluções padrões de trabalho de Hg(II) foram preparadas pela diluição adequada da solução estoque de 1000 mg L^{-1} e acidificada com 1% (v/v) de HCl (eletrólito otimizado). Estas soluções foram utilizadas para testes iniciais e otimizações do método. Para os experimentos de otimização da digestão foi utilizado um padrão oleoso de mercúrio de 100 mg L^{-1} . Após as digestões das amostras as soluções padrões de trabalho contendo Hg(II), Pb(II), Cu(II), Zn(II) e Cr(II) foram preparadas separadamente através da diluição apropriada das soluções estoque em uma solução composta de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + 0,5% v/v de H_2O_2 (composição semelhante à solução resultante do procedimento de digestão das cápsulas de óleo de peixe). Estas soluções foram responsáveis pelas calibrações internas e estudos de interferentes nas amostras.

Três amostras de cápsulas de óleo de peixe (1000 mg de ácidos graxos, omega-3) produzidos a partir de diferentes fabricantes foram comprados nos mercados locais de Uberlândia e Araguari, Minas Gerais, Brasil.

Para a terceira parte do trabalho (determinação direta de cobre livre em biodiesel) foram preparadas separadamente soluções padrões de trabalho hidroetanólicas composta por 90% (v/v) de etanol e 10% (v/v) de água contendo em cada uma o metal de interesse. Todas as soluções mencionadas acima foram acidificadas com 1% (v/v) de HCl (eletrólito otimizado). A composição das soluções padrões hidroetanólicas foram semelhantes a composição do eletrólito responsável por diluir as amostras de biodiesel e será posteriormente mencionada na seção de preparo e diluição das amostras e nos resultados.

A amostra de biodiesel de óleo de fritura foi cedida pela indústria Caramuru situada em São Simão, Goiás, Brasil

Todos os reagentes utilizados no desenvolvimento dos trabalhos foram usados sem procedimento prévio de purificação (grau analítico). Apesar dos rótulos mencionarem a presença de metais pesados, não houve a necessidade de purificação dos ácidos, pois, foram diluídos e possíveis contaminantes ficaram com a concentração abaixo dos limites de detecção dos métodos propostos. Cabe ressaltar que para ambos os trabalhos envolvendo a determinação de metais, todos os materiais de vidro e de plástico utilizados para a preparação e armazenamento das amostras e soluções foram descontaminados com ácido nítrico (10% v/v) durante 24 h.

3.2 INSTRUMENTAÇÃO, ELETRODOS E CÉLULAS ELETROQUÍMICAS

3.2.1 Instrumentação

Todos os registros eletroquímicos foram conduzidos em um potenciostato μ Autolab tipo III (Metrohm Autolab, Utrecht, The Netherlands), interfaceado à um computador com sistema operacional Windows 8[®]. Para o controle do equipamento foram utilizados os softwares GPES (versão 4.9) e NOVA (versão 1.11.12).

Um cabo conector (DRP-CAC) adquirido da Dropsens[®] foi necessário para a conexão entre o potenciostato e os SPEs para as determinações de DMCT utilizando a célula BIA e para medidas nos sistemas estacionários na determinação de mercúrio em cápsulas de óleo de peixe ou cobre em biodiesel.

Para os estudos comparativos do anticorrosivo DMCT foram realizadas medidas espectrofotométricas em um Espectrofotômetro Femto, modelo 600 S (São Paulo, Brasil), equipado com uma cubeta de vidro com volume interno de 2 mL e 1 cm de caminho óptico.

Três diferentes metodologias foram aplicadas e comparadas para as digestões das amostras de cápsulas de óleo de peixe, digestão por ultrassom, calcinação e em bloco digestor. Um banho ultrassônico Ultra Cleaner, modelo 1640A, com capacidade de 3,8 L, 40 kHz de frequência e 120 W de potência (São Paulo, Brasil) e frascos de polietileno de 15 mL de volume interno foram utilizados para as digestões auxiliadas por ultrassom. As amostras calcinadas foram tratadas em um forno mufla da marca Quimis, modelo Q318M. Um bloco digestor Alfakit 530 (Uberaba, Brazil) com capacidade para 20 tubos e controle de temperatura foi utilizado.

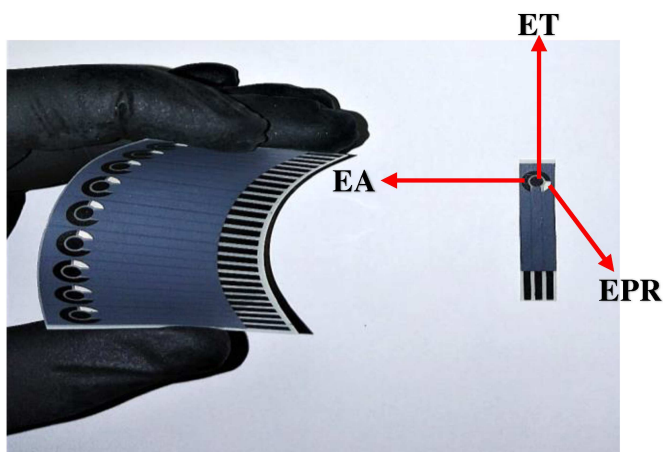
Para efeitos comparativos, o teor de cobre total nas amostras de biodiesel foi determinado após processos de digestão em banho ultrassom (o mesmo citado acima) e analisadas por um espectrômetro de absorção atômica, modelo Varian AA 240Z, equipado com uma lâmpada de deutério para correção da linha fundo e um sistema de atomização do forno de grafite GTA 120.

3.2.2 Eletrodos

Para o desenvolvimento do trabalho foram utilizados três eletrodos impressos diferentes fabricados em uma configuração planar de três eletrodos (trabalho, auxiliar e pseudo-referência) em diferentes materiais de impressão e substratos.

A determinação de DMCT nas amostras de bioetanol combustível, água do mar sintética e óleo mineral foram realizadas empregando-se eletrodos impressos de grafite (SPGrE) confeccionados em substrato flexível de poliéster de 0,5 μm de espessura (Autostat, Reino Unido), contendo os três eletrodos em um único dispositivo (Figura 6). O eletrodo de trabalho com 2,8 mm de diâmetro constituído de grafite, o contra-eletrodo de grafite e o eletrodo pseudo-referência de Ag/AgCl, foram impressos em configuração planar empregando tintas condutoras e isolantes (Gwent Electronic Materials Ltd., Reino Unido). Os processos de cura foram realizados sempre a 60 °C por 30 min após cada etapa dos processos de impressão das tintas e da camada dielétrica. Tais eletrodos foram fabricados no laboratório do Prof. Dr. Craig E. Banks da Manchester Metropolitan University (FOSTER et al., 2014). Estes eletrodos foram escolhidos para analisar de forma direta o anticorrosivo em diferentes amostras complexas por apresentarem boa resistência a solventes orgânicos, ou seja, não interferir visualmente (remoção das tintas condutivas) ou eletroquimicamente entre o material que o compõe e o meio orgânico. Um trabalho recentemente publicado na literatura mostra a boa estabilidade e resistência química destes eletrodos em análises diretas de antioxidantes em biodiesel e querosene de aviação (ALMEIDA et al., 2016).

Figura 6: Imagem do eletrodo SPGrE utilizado para a determinação de DMCT. ET: eletrodo de trabalho; EPR: eletrodo pseudo-referência, EA: eletrodo auxiliar.

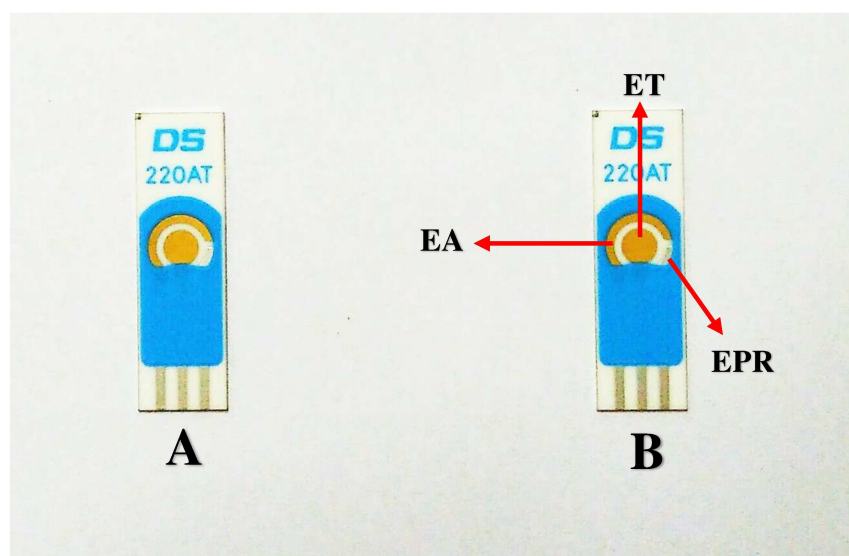


Fonte: Próprio autor.

Eletrodos impressos de ouro (SPGE) fabricados em alta temperatura de cura das tintas (SPGE-AT), modelo DRP-220AT, foram adquiridos da Dropsens (Oviedo, Espanha). São fabricados em um substrato cerâmico e projetados em uma configuração de três eletrodos impressos em uma plataforma plana constituído de um eletrodo de trabalho em forma de disco de ouro com 4 mm de diâmetro interno, um contra-eletrodo de ouro, e um eletrodo de pseudo-referência de prata. Uma camada isolante foi impressa sobre o sistema do eletrodo de tal forma que apenas os contatos elétricos e as respectivas regiões delimitadas para a detecção no eletrodo são descobertos. Os SPGE-AT, não resistentes à solventes orgânicos, foram selecionados para a determinação de mercúrio nas amostras óleo de peixe em cápsulas.

Na determinação direta de cobre livre em biodiesel foram utilizados os SPGE-AT adquiridos da mesma empresa e com as mesmas configurações descritas acima, porém, resistente a solventes orgânicos (informação do fabricante Dropsens), tendo em vista análises em meios não aquosos. A Figura 7 apresenta os dois eletrodos; não resistente em A resistente em B e suas respectivas configurações.

Figura 7: (A) SPGE não resistente a solvente orgânico; (B) SPGE resistente a solventes orgânicos. ET: eletrodo de trabalho; EPR: eletrodo pseudo-referência, EA: eletrodo auxiliar.



Fonte: Próprio autor

Ativação do eletrodo de ouro

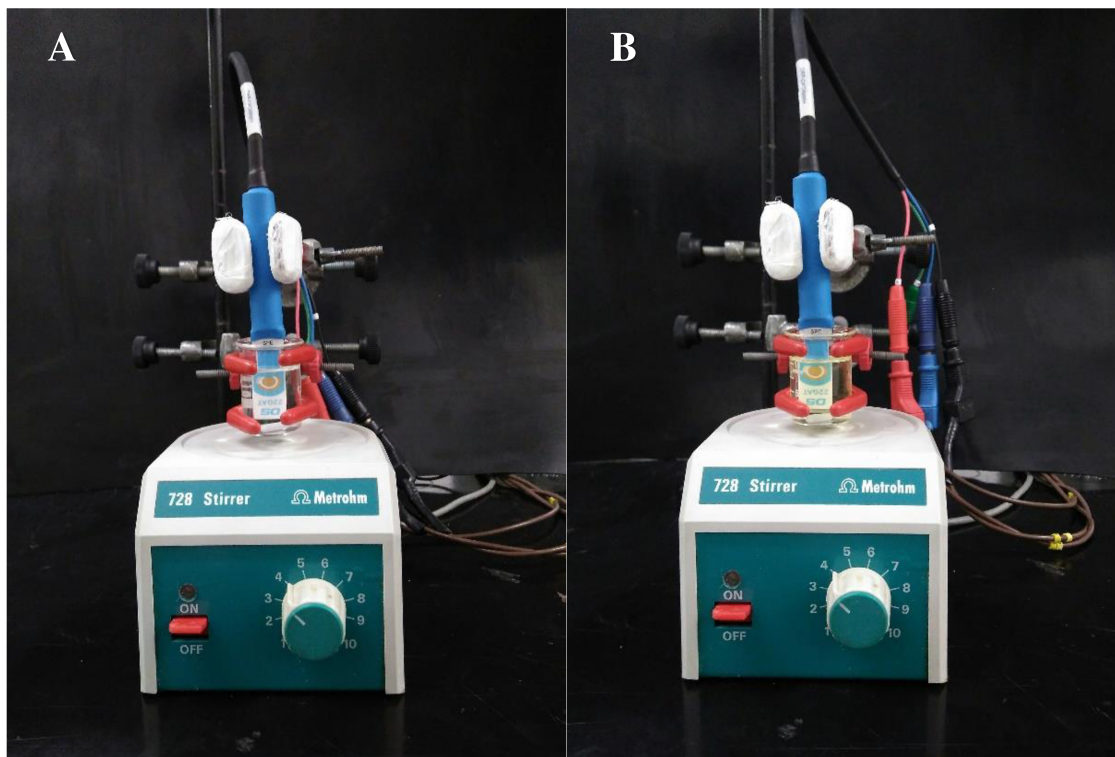
As superfícies dos eletrodos impressos, de forma geral, estão sujeitas a numerosos contaminantes, principalmente dos resíduos das tintas e demais constituintes utilizados na fabricação dos dispositivos ou até mesmo a manipulação inadequada desses eletrodos, o que pode afetar as respostas eletroquímicas. É por essa razão que os eletrodos devem ser tratados quimicamente antes que qualquer medida seja realizada. Todos os eletrodos SPGE-AT adquiridos (resistentes e não resistentes a solventes orgânicos) foram condicionados eletroquimicamente da mesma forma de acordo com os procedimentos descritos (ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014; BERNALTE; MARÍN SÁNCHEZ; GIL, 2011). A estabilização da linha de base foi obtida mediante varreduras cíclicas sucessivas (30 ciclos) em uma faixa de potencial de +0,2 até +0,6 V (vs pseudo-referência), a 50 mV s^{-1} em $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$. A escolha desse intervalo de potencial foi feita de acordo com estudos preliminares usando voltametria cíclica. Após o condicionamento, a resposta dos eletrodos SPGE-AT não resistentes manteve-se estável por 100 leituras eletroquímicas na determinação de Hg no eletrólito e nas condições otimizadas. Já para os eletrodos resistentes, as respostas de cobre foram estáveis por 48 leituras no eletrólito hidroetanólico e nas condições otimizadas do método.

3.2.3 Células eletroquímicas

O desenvolvimento dos trabalhos foi realizado basicamente com o auxílio de dois tipos diferentes de células eletroquímicas.

As medidas de mercúrio nas amostras digeridas das cápsulas de óleo de peixe e de cobre livre no biodiesel por SWASV foram realizadas em um béquer de vidro, com volume interno de 10 mL. O cabo SPE foi utilizado para criar a interface entre os eletrodos impressos de ouro e o potenciostato. A Figura 8 mostra a disposição de cada SPGE na respectiva solução eletrolítica.

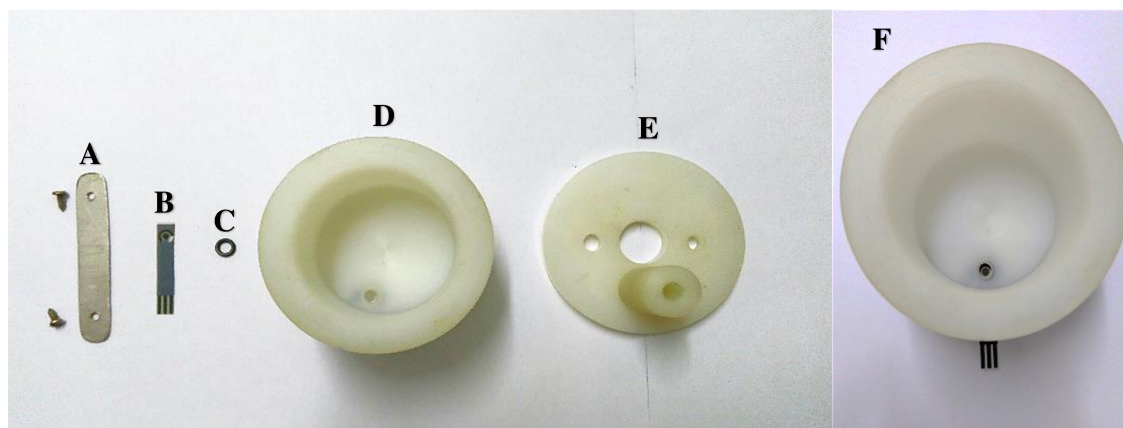
Figura 8: Sistemas convencionais para as análises em (A) de mercúrio em óleo de peixe em cápsulas e em (B) de cobre em biodiesel.



Fonte: Próprio autor

As medidas de DMCT nas amostras de água do mar sintética, bioetanol e óleo mineral foram realizadas em uma célula BIA para eletrodos impressos desenvolvida no grupo de pesquisa. A célula é constituída por um cilindro de polipropileno (diâmetro interno de 8 cm e comprimento de 6 cm) com volume interno de 100 mL aproximadamente e uma tampa de polipropileno para ser firmemente encaixada na parte superior do cilindro. O SPGrE é posicionado na base da célula de tal forma que os três eletrodos (ET, EPR, EA) do dispositivo estejam delimitados por um orifício localizado na parte interna da célula. Um O-ring de 0,8 cm de diâmetro é fixado sob o SPGrE para limitar a região de contato dos três eletrodos com o eletrólito dentro da célula BIA e evitar vazamento. A tampa da célula BIA permite a inserção da ponteira de uma micropipeta eletrônica que se encaixa firmemente na célula sendo que a ponteira da micropipeta é posicionada na face do eletrodo de trabalho (configuração *wall-jet*) como mostrado na Figura 9.

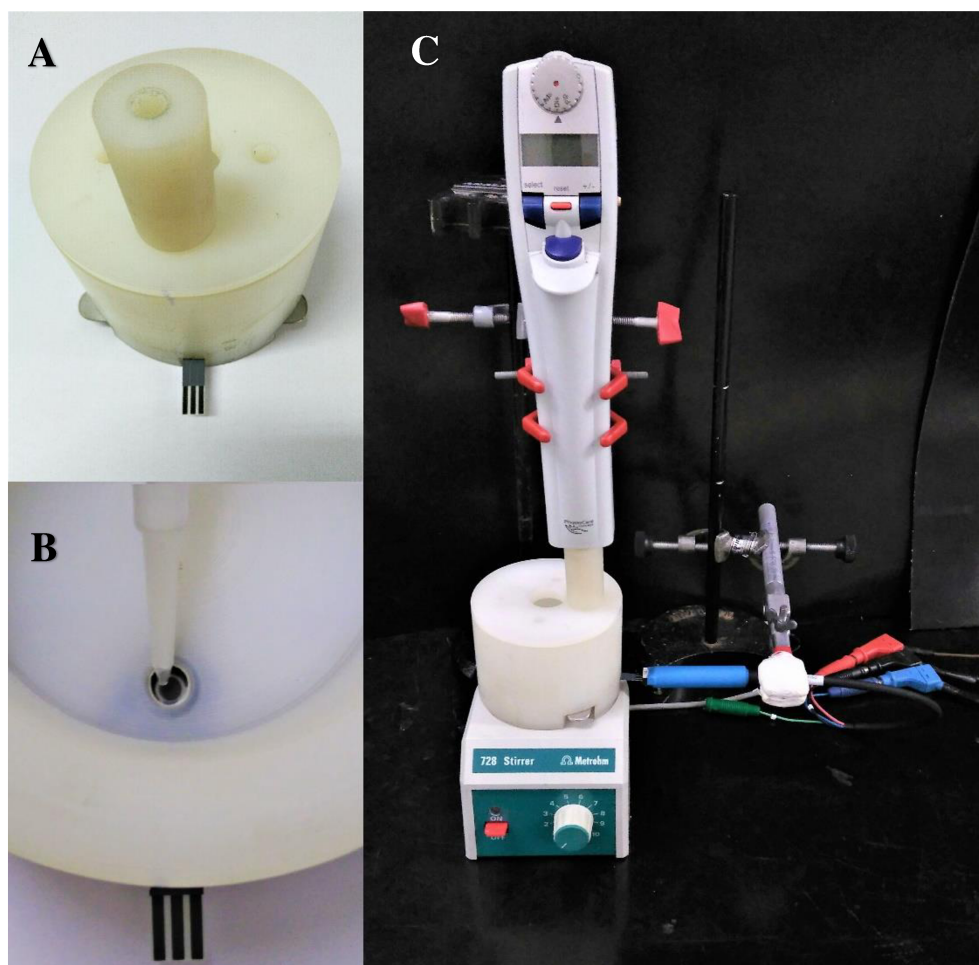
Figura 9: Componentes da célula BIA. (A) Parafusos e placa metálica fixada na base da célula para firmar o SPGrE. (B) Eletrodo impresso. (C) O-ring para delimitar a área dos três eletrodos no orifício da célula BIA. (D) Célula de polipropileno com volume aproximado de 100 mL. (E) Tampa da célula com o suporte para a micropipeta. (F) Vista superior da célula BIA com o eletrodo SPE acoplado.



Fonte: Próprio autor

As injeções de soluções padrão ou de amostras utilizando o sistema BIA foram realizadas por uma micropipeta eletrônica (Eppendorf multipette®), alimentada por bateria, fabricada em Hamburgo na Alemanha. Foi utilizada uma ponteira (Combtips®) na forma de seringa com capacidade de 1000 μL que permite injeções de 10 a 1000 μL sob uma velocidade de injeção programável de 28 a 345 $\mu\text{L s}^{-1}$ e que foi acoplada a micropipeta. A altura e a posição da tampa da célula garantem que a ponteira da micropipeta está sempre a uma distância constante de 2 mm do centro do eletrodo de trabalho SPGrE como recomendado em trabalhos prévios usando o sistema BIA (BRETT; BRETT; MITOSERIU, 1994; STEFANO et al., 2016; TORMIN et al., 2014). O mecanismo de funcionamento da pipeta consiste na sucção das soluções ou amostras com volume proposto pelo usuário. Em seguida ocorre a inserção da micropipeta no suporte superior da célula BIA e as sucessivas injeções que dependem de parâmetros variáveis como volume de injeção e velocidade de injeção (otimizadas nesse trabalho). Por fim a micropipeta é retirada da célula BIA e o processo se inicia novamente com a sucção da próxima solução. A Figura 10 mostra o sistema eletroquímico envolvendo a utilização do BIA acoplado com o eletrodo SPGrE para as determinações DMCT nas amostras citadas.

Figura 10: Sistema em BIA para as análises de DMCT. Em (A) é representado a célula BIA acoplada ao SPE. Em (B) mostra o zoom da ponteira da micropipeta posicionada para a injeção na superfície do eletrodo de trabalho do SPE. Em (C) ilustra o sistema completo da célula BIA com o SPGrE conectada ao cabo SPE sobre um sistema de agitação automático. A micropipeta responsável pelas injeções é inserida no suporte da tampa da célula e suspensa por uma garra metálica.



Fonte: Próprio autor.

3.3 PROCEDIMENTOS DE PREPARO DAS AMOSTRAS

As determinações de cobre livre em biodiesel e do anticorrosivo DMCT em bioetanol, água do mar sintética e em óleo mineral foram realizadas pela simples diluição das amostras no eletrólito otimizado antes das análises. Já as determinações de mercúrio em cápsulas de óleo de peixe foram realizadas através das digestões em banho ultrassom em condições otimizadas. Inicialmente, foi avaliada a eficiência de três procedimentos

diferentes de digestão de amostras através da extração de mercúrio de um padrão oleoso de 100 mg L⁻¹ contendo somente o metal de interesse. As três metodologias de digestão estão descritas abaixo.

3.3.1 Digestão assistida por ultrassom

Devido as irregularidades da irradiação da energia ultrassônica ao longo do banho é importante a verificação das regiões de maior incidência de energia no banho para garantir a máxima eficiência de extração do metal durante os procedimentos. Esta região, onde se encontram os cristais piezoelétricos responsáveis pelo processo de sonicação, foi inicialmente avaliada através do teste de imersão de uma folha de alumínio no banho (FREITAS et al., 2015).

Posteriormente, uma mistura de HCl concentrado 1:1 (v/v) e H₂O₂ 30% (m/v) foi utilizada para digerir a matéria orgânica e liberar o mercúrio da matriz da amostra. Estudos anteriores já demonstraram a eficiência dessa mistura oxidante na extração de metais em amostras oleosas como o petróleo e lubrificantes (FERREIRA; BARBEIRA, 2009; MUNOZ; OLIVEIRA; ANGNES, 2006). Cerca de 100 mg de cada uma das amostras de óleo foram tratadas com 2,0 mL da mistura dentro de tubos Falcon de 15 mL, seguindo o tratamento com sonicação durante 30 minutos em um banho ultrassônico montado dentro de um sistema de exaustão (capela). As tampas dos tubos foram fracamente enroscadas para facilitar a saída do gás e aliviar a pressão no interior dos frascos. Todas extrações foram feitas em triplicata e um respectivo branco (ausência de amostra) também foi preparado. O procedimento de extração permitiu o tratamento de nove tubos simultaneamente à temperatura ambiente posicionados na região central e à esquerda do banho com o auxílio de um suporte metálico. Após 30 minutos, as amostras digeridas foram avolumadas quantitativamente, no próprio frasco de digestão, para 10 mL com água desionizada.

Experimentos univariados foram realizados para otimizar alguns parâmetros como massa de padrão oleoso, volume da solução extratora e tempo de sonicação da digestão feita por ultrassom assistido. Inicialmente foi avaliado o volume da solução oxidante composto por HCl e H₂O₂ 1:1 (v/v) em 500, 1000, 1500 e 2000 µL, mantendo-se constante o tempo de sonicação em 30 min e a massa de padrão oleoso em 100 mg, conforme descrito na literatura (FREITAS et al., 2015; MUNOZ; OLIVEIRA; ANGNES, 2006). Otimizada a solução extratora, foram realizados novos experimentos variando o

tempo de sonicação em 15, 30, 45 e 60 min, com o volume otimizado da seção anterior e a massa de padrão constante em 100 mg. Na última parte dos experimentos, com o tempo e o volume da solução extratora otimizados, variou-se a massa do padrão oleoso em 100, 200, 300 e 400 mg. Cabe ressaltar que nos experimentos, todos os tubos contendo os digeridos foram avolumados para 10 mL com água desionizada. Para cada variável três digestões diferentes foram feitas. As leituras dos digeridos foram analisadas em duplicata pelo método proposto otimizado e quantificadas por adição de padrão. Os cálculos foram baseados na recuperação de mercúrio contido na massa de padrão oleoso pesado e digerido em cada experimento. A Tabela 3 mostra um resumo das experiências realizadas na otimização da digestão assistida por ultrassom.

Tabela 3: Planejamento com as variáveis aplicadas visando a otimização do pré-tratamento do padrão oleoso contendo mercúrio por digestão em banho ultrassônico.

Parâmetros da digestão (unidade)	Variação
Volume da solução extratora (µL)	500, 1000, 1500 e 2000
Tempo de sonicação (min)	15, 30, 45 e 60
Massa do padrão (mg)	100, 200, 300 e 400

Fonte: Próprio autor

3.3.2 Calcinação

Em três cadinhos de platina foram adicionados cerca de 1,0 g do padrão oleoso de mercúrio em cada. Os cadinhos foram colocados sob uma placa elétrica aquecida durante 1 h com aumento gradual da temperatura para que a amostra fosse completamente evaporada e carbonizada. O material foi então incinerado lentamente em um forno mufla. A temperatura do forno foi aumentada até 550 °C, e mantida até o desaparecimento completo de qualquer vestígio da matriz (tempo total de aquecimento de 4 h). Posteriormente, os cadinhos foram arrefecidos até à temperatura ambiente (30 min) dentro de uma capela e o resíduo foi umedecido com várias gotas de ácido nítrico concentrado. Os cadinhos foram novamente introduzidos no forno mufla mantidos à mesma temperatura (550 °C) durante 1 h. Depois de toda a amostra ser incinerada, os cadinhos foram arrefecidos até à temperatura ambiente. As cinzas contidas em cada

cadinho foram dissolvidas num pequeno volume de $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ e foram finalmente transferidas quantitativamente para três frascos volumétricos de 10 mL onde foram completadas com água desionizada. Este procedimento foi adaptado da literatura para a determinação de Sn^{4+} em biodiesel por voltametria de redissolução anódica por onda quadrada utilizando-se um eletrodo de carbono modificado com filme de bismuto (FRENA et al., 2011).

3.3.3 Bloco digestor

Cerca de 600 mg do padrão oleoso de mercúrio foram pesados separadamente em três tubos de Kjeldahl e tratados com 1,3 mL de uma solução 2:1 (v/v) de $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ concentrados e colocados no bloco do digestor instalado dentro de um sistema de exaustão (capela). Inicialmente, as amostras foram aquecidas durante 30 min a 50°C , depois durante 1 h a 100°C e depois durante 30 min a 160°C . Após este período, os tubos foram arrefecidos até à temperatura ambiente e adicionou-se mais 1,3 mL da solução oxidante. O bloco foi aquecido por mais 30 min a 160°C para a digestão completa da amostra. No final deste período, os tubos foram arrefecidos até à temperatura ambiente e foi adicionada uma alíquota de 1 mL de uma solução 1 mol L^{-1} de HCl a cada um dos tubos. Posteriormente, cada uma das soluções digeridas foi transferida para balões volumétricos e estes completados até o volume final de 10 mL com água desionizada. O procedimento foi adaptado da literatura para a determinação de Se^{4+} em tecido de peixe determinada por voltametria de redissolução catódica com pulso diferencial (LAMBERT; TUROCZY, 2000).

Após as digestões do padrão oleoso, a eficiência de cada metodologia foi avaliada através da determinação de mercúrio dos digeridos por voltametria de redissolução anódica por onda-quadrada utilizando SPGE-AT. Alíquotas de cada um dos digeridos foram diluídos na célula eletroquímica de tal forma que a concentração final na célula fosse de $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Com o eletrólito e o método SWASV otimizados foi possível identificar qual dos três procedimentos foi o mais eficaz na extração do mercúrio. Os cálculos foram baseados na determinação total do metal contido na massa inicial do padrão oleoso que foi utilizado em cada um dos procedimentos. Cada digerido foi analisado em duplicata. O método de adição de padrão foi utilizado para quantificar o metal.

3.4 MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

3.4.1 Análise de DMCT por BIA-Amperométrico

Soluções padrão do anticorrosivo DMCT foram preparadas em etanol pela dissolução da quantidade ideal do reagente. Após a otimização do teor de etanol na solução hidroetanólica e a avaliação da solubilidade das amostras (principalmente do óleo mineral), o SPGrE foi utilizado para investigar o comportamento eletroquímico do DMCT em solução eletrolítica contendo 95% v/v de etanol, 5% v/v de água e diferentes ácidos (clorídrico, sulfúrico e nítrico), todos em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no volume final da solução hidroetanólica. Além disso, soluções de tampão Britton-Robinson foram preparadas diretamente em 95% v/v de etanol, 5% v/v de água pela mistura de ácidos acético, fosfórico e bórico, todos em concentração de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$. A concentração final deste eletrólito foi estimada em $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, considerando-se a soma das concentrações dos componentes do tampão e apresentou pH inicial de 1,05. Ao final, o eletrólito hidroetanólico contendo o tampão foi ajustado com NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ para pH 2 e 4. As medidas por voltametria cíclica foram realizadas no intervalo de 0,0 V a +1,2 V e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} em todos os eletrólitos contendo o DMCT. Soluções padrão de DMCT foram preparadas em 95% de etanol e 5% de água (v/v) contendo ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no volume final (eletrólito suporte otimizado) para a construção das curvas analíticas no sistema BIA otimizado. Todas as amostras foram analisadas após uma diluição de 100 vezes no eletrólito antes da injeção com a micropipeta. A célula BIA foi preenchida com 100 mL do eletrólito, que foi substituído após 200 injeções.

3.4.2 Análise por Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada na determinação de mercúrio em cápsulas de óleo de peixe

Inicialmente, foram avaliados diferentes eletrólitos de suporte (HCl, HNO_3 , H_2SO_4 e HClO_4 cada um a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) na detecção de $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de mercúrio adicionado a célula convencional. A concentração do eletrólito otimizado (0,005, 0,05, 0,1 e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) também foi avaliada na presença de $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de mercúrio. Em seguida, os parâmetros de SWASV frequência, amplitude de potencial e degrau de potencial foram avaliados em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl (eletrólito otimizado) e o método aplicado nos padrões oleosos digeridos. Alíquotas de $1000 \text{ } \mu\text{L}$ dos digeridos (obtidos por digestão assistida por ultrassom,

calcinação ou bloco digestor) foram diluídas por um fator de 10 vezes no eletrólito. Após os cálculos para a determinação de mercúrio nos diferentes métodos de extração, o procedimento mais eficiente foi otimizado e aplicado nas amostras de óleo de peixe em cápsulas. O mesmo fator de diluição do padrão foi utilizado para amostras digeridas, além disso, método de adição de padrão foi empregado para a quantificação do mercúrio em todas as fases do trabalho.

3.4.3 Análise por Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada na determinação direta de cobre livre em biodiesel

O teor de etanol no eletrólito foi estudado nas proporções percentuais de 70; 80 e 90% (v/v) com água, especialmente devido ao objetivo principal deste trabalho, que é a análise direta de amostras de biodiesel. A escolha do procedimento para a preparação de soluções hidroetanólicas baseou-se em manipulação simples, reagentes facilmente disponíveis e atóxicos. O teor de etanol no eletrólito foi avaliado visualmente pela formação estável de uma microemulsão, diluindo-se 200 μL de biodiesel em cada uma das diferentes proporções etanol/água. Posteriormente, para detecção de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cobre foi avaliada diferentes eletrólitos de suporte (HCl , HNO_3 e HClO_4), todos com concentração final de 0,1 mol L^{-1} na proporção já otimizada de etanol/água. Além disso, a concentração do eletrólito suporte (0,02, 0,1 e 0,5 mol L^{-1}) também foi avaliada. Os parâmetros de SWASV foram otimizados em 90% de etanol e 10% de água contendo 0,1 mol L^{-1} de HCl no volume final (eletrólito selecionado). As amostras de biodiesel (testes de imersão, fortificadas e controle) foram analisadas diretamente no eletrólito após uma diluição de 50 vezes, ou seja, 200 μL de biodiesel em 10 mL do eletrólito. A quantificação do teor de cobre nas amostras biodiesel foi realizada pelo método de adição de padrão.

3.5 PROCEDIMENTOS DE FORTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

Ensaio de adição e recuperação foram empregados para avaliar a exatidão de cada método proposto.

Na determinação de DMCT, todas as amostras foram fortificadas (dopadas) em dois níveis de concentrações diferentes pela diluição adequada da solução estoque do

anticorrosivo preparadas em etanol, todos os dias antes de realizar as leituras. As mesmas amostras dopadas foram utilizadas para as leituras no método comparativo.

Para a determinação de mercúrio, as cápsulas de óleo foram abertas e dopadas em três níveis de concentração diferentes do padrão oleoso de mercúrio antes do processo de digestão.

As amostras de biodiesel foram fortificadas em dois níveis de concentração a partir da diluição apropriada de uma solução padrão hidroetanólica de cobre (mesma composição do eletrólito), preparada no dia da análise. Não foi realizada a dopagem do biodiesel com algum sal de cobre devido à baixa solubilidade no biocombustível.

3.6 ENSAIOS DE CORROSÃO POR TESTES DE IMERSÃO ESTÁTICO

Os testes de imersão estática foram realizados para a simulação dos processos corrosivos de biodiesel em placas de cobre. Este teste foi proposto para produzir amostras de biodiesel contendo cobre extraído das placas devido a presença de ácidos orgânicos formados nos processos de degradação do biocombustível. Os ensaios simulam, por exemplo, o processo de corrosão de recipientes e peças internas dos motores que contém partes metálicas de cobre e estão em contato direto com o biodiesel (HASEEB et al., 2011).

Três tiras de cobre cada uma com 1 mm de espessura e 4,48 cm² de área (considerando os dois lados da placa, a espessura e a área do furo na placa utilizada como suporte) foram cortadas de uma placa maior (cedida pelo Instituto de Química). As mensurações de cada placa foram obtidas com o auxílio de um paquímetro digital. As placas de cobre foram submetidas a um tratamento superficial com uma lixa d'água, grão 320. Em seguida foram então lavadas com água destilada, sabão neutro e desengorduras com álcool (99.8% v/v) e acetona e, posteriormente secas em estufa com temperatura de 50 °C, Figura 11. Todo o procedimento foi realizado de acordo com o método ASTM G31-72 para Teste de Corrosão de Imersão Laboratorial de Metais (o padrão correspondente brasileiro é a ABNT NBR 7413) (FERNANDES et al., 2013).

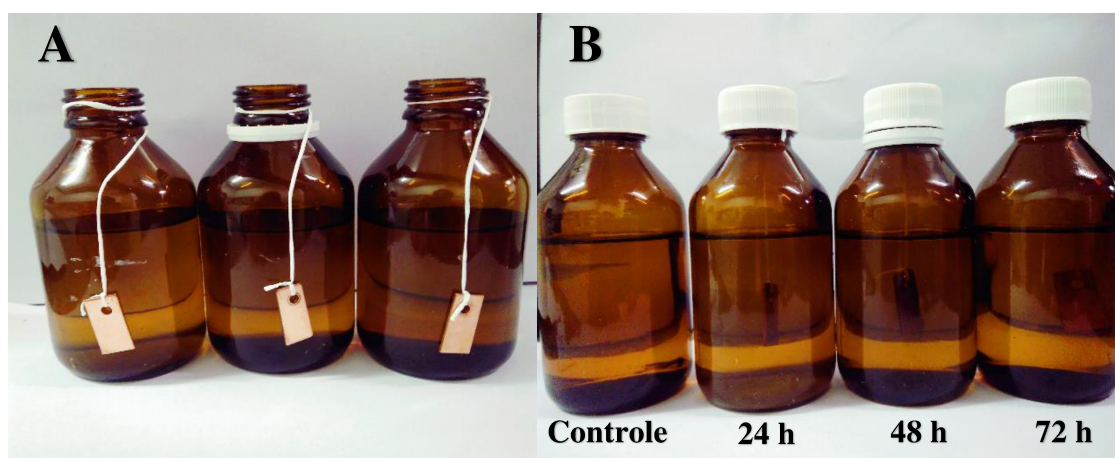
Figura 11: Modelo das placas de cobre utilizado nos testes de corrosão por imersão em biodiesel.



Fonte: Próprio autor

Cada placa foi suspensa por um material inerte e imerso (Teflon) em 90 mL de biodiesel (obedecendo a razão volume/área da placa de 20 mL cm⁻² de acordo com o proposto nas normas) contido em três frascos âmbar diferentes de acordo com a Figura 12). Os frascos foram tampados e armazenados em local ao abrigo da luz com temperatura média entre 25 e 30 °C. Nos experimentos, cada placa foi mantida em contato direto com o biodiesel por diferentes tempos (24, 48 e 72 h). A amostra controle não continha a placa de cobre e serviu para comparação com as demais amostras. Ao término de cada período de imersão, uma alíquota de 200 µL do biodiesel correspondente foi retirado do frasco e diluída no eletrólito para a realização da determinação do teor de cobre livre pelo método SWASV otimizado utilizando os eletrodos SPGE-AT resistentes a solventes orgânicos.

Figura 12: Sistema empregado para os experimentos de corrosão por imersão de placas de cobre em biodiesel de acordo com a ABNT NBR 7413. Em **A**, suspensão das placas de cobre pelo teflon, em **B**, imersão das placas de cobre no biodiesel.



Fonte: Próprio autor

3.7 ANÁLISES DE ESTABILIDADE OXIDATIVA DOS BIODIESEIS

As medidas de estabilidade à oxidação foram realizadas utilizando um modelo de equipamento Rancimat 873 (Metrohm, Herisau, Suíça) e quantificadas pelo período de indução (IP) de acordo com a norma europeia EN 14112. O teste envolve a passagem de ar atmosférico seco a uma taxa constante (10 L h^{-1}) através de 3 g de amostra em um tubo que é aquecido a uma temperatura especificada de 110°C . Uma vez que a matéria orgânica começa a ser oxidada, os produtos voláteis (principalmente ácidos orgânicos de cadeia curta) são coletados e armazenados em um vaso contendo água desionizada. As moléculas recolhidas no recipiente contendo água começam a ionizar. O tempo de indução (medida da estabilidade oxidativa) é o ponto de ruptura da curva de condutividade em relação ao tempo registrado pelo equipamento Rancimat. Quando a condutividade desta solução aumenta rapidamente, obtém-se uma curva de oxidação cujo ponto de inflexão é conhecido como período de indução (IP) (FÖCKE; WESTHUIZEN; OOSTHUYSEN, 2016; YAAKOB et al., 2014). Para justificar a presença de cobre livre e o total e os respectivos efeitos na degradação do biodiesel, as amostras submetidas aos testes de imersão, as fortificadas com padrão de cobre e uma controle foram submetidas a esta análise em duplicata.

3.8 MÉTODOS COMPARATIVOS

3.8.1 Determinação espectrofotométrica de DMCT

A espectrometria de absorção no UV-Vis foi utilizada como método comparativo para a determinação de DMCT nas amostras. As análises foram realizadas de acordo com Ahmed, 2001 (JAMALUDDIN AHMED; MAMUN, 2001). De forma resumida, a metodologia se baseia na complexação do DMCT com íons cobre para formar um complexo de cor amarelo esverdeado e, dessa forma, intensificar a absorbância lida pelo equipamento. A curva de calibração foi construída a partir de uma solução padrão de 1 mmol L^{-1} de DMCT cuja faixa de trabalho foi de 10 a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Uma alíquota de uma solução padrão aquosa de Cu(II) (em excesso) foi adicionada a cada ponto da curva de calibração e nas amostras para formar o complexo. Devido a cinética lenta, a reação foi mantida exatamente por 1 minuto e, em seguida, a absorção molecular foi monitorada a 390 nm.

3.8.2 Determinação de cobre total nas amostras de biodiesel por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS)

As amostras de biodiesel utilizadas nos testes de imersão, as amostras fortificadas e uma amostra controle foram digeridas pelo procedimento de digestão assistida por ultrassom de acordo com uma metodologia adaptada da literatura (FREITAS et al., 2015). A digestão de cada amostra foi feita em duplicata. Foi utilizado espectrômetro de absorção atômica, equipado com uma lâmpada de deutério para a correção de fundo e um sistema de atomização em forno de grafite. Todas as medidas foram realizadas usando absorbância integrada. O gás argônio com 99,99% de pureza (White Martins) foi usado como gás de purga durante todas as etapas, exceto durante a atomização, quando foi interrompido para a medição do elemento. Uma lâmpada de cátodo oco de cobre foi operada a 324,8 nm como fonte de radiação. As condições de operação utilizadas durante todos os procedimentos foram recomendadas pelo fabricante. O programa de temperatura utilizado é mostrado na Tabela 4 e foi adaptado da literatura (MUNOZ et al., 2005). As curvas analíticas foram construídas a partir da diluição adequada de uma solução padrão aquosa de cobre. Todos os pontos da curva foram acidificados com 1% de HCl (compõe a solução extratora). A curva de calibração e as respectivas amostras digeridas foram transferidas para recipientes próprios e acomodadas no sistema de auto-amostrador do equipamento. A alíquota injetada pelo equipamento foi de 20 µL. As leituras dos pontos da curva assim como das amostras foram feitas em triplicata e o limite de detecção calculado para o cobre foi 212 ng g⁻¹.

Tabela 4: Parâmetros de operação do programa para a determinação de cobre por GFAAS das amostras de biodiesel.

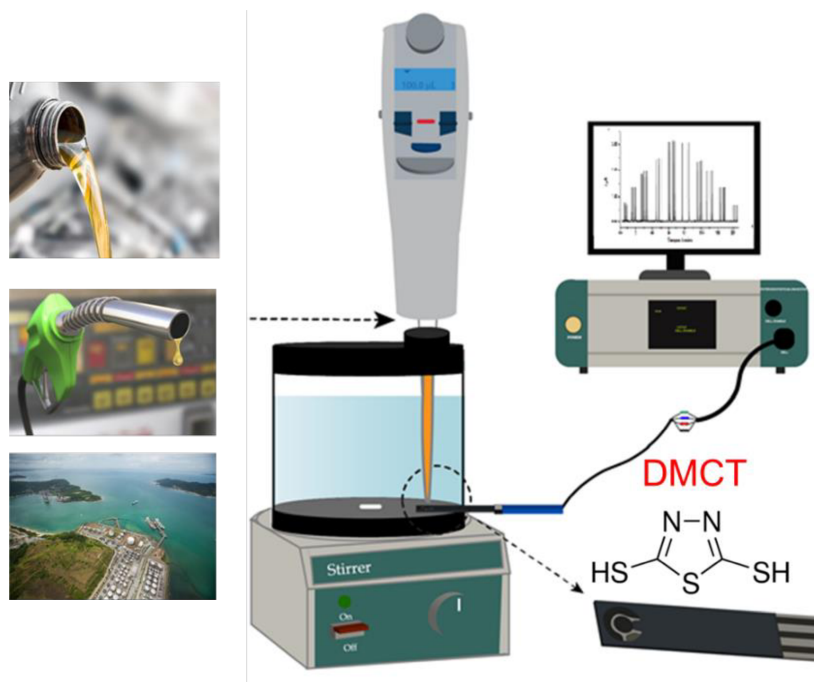
Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Fluxo de argônio (L min⁻¹)
Secagem 1	85	5,0	0,3
Secagem 2	95	40,0	0,3
Secagem 3	120	10,0	0,3
Pirólise	800	5,0	0,3
Atomização	2300	0,8	0,0
Limpeza	2300	2,0	0,3

Fonte: Próprio autor.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Determinação de DMCT em água do mar sintética, bioetanol combustível e óleo mineral utilizando SPGrE

Figura 13: Ilustração gráfica do trabalho desenvolvido para determinação do anticorrosivo DMCT em água do mar sintética, bioetanol combustível e óleo mineral utilizando SPGrE



De acordo com a Associação Nacional de Engenheiros de Corrosão dos EUA (do inglês, NACE), o custo estimado com as perdas provenientes de processos de corrosão nas principais economias do mundo foi estimado em 2,5 trilhões de dólares em 2013 (KOCH et al., 2016). A presença de agentes oxidantes, variações do pH e presença de metais de transição (que atuam como catalisadores) são os principais fatores que contribuem para a deterioração de tubulações industriais e combustíveis. Desta forma, a adição de anticorrosivos é fundamental para evitar o fenômeno da corrosão em diferentes ambientes (DE OLIVEIRA et al., 2014).

Os inibidores de corrosão orgânicos, por exemplo, imidazóis, aminas primárias, diaminas, ácidos graxos, ésteres de fosfato e ácidos dodecilbenzenosulfônicos, entre outros, tem sido utilizado em larga escala para prevenir tais processos de deterioração (OLIVARES-XOMETL et al., 2013). Dentre estes, o DMCT, pertencente à classe de tiadiazóis, tem recebido atenção por apresentar propriedades interessantes como biocida

e fungicida (MATYSIAK; MALINSKI, 2007), uso em cátodo de baterias recarregáveis (SHU et al., 2006), utilizado na produção de polímeros condutivos (HUANG et al., 2001) e agente quelante de metais (JAMALUDDIN AHMED; MAMUN, 2001). Além disso, estudos demonstraram que esta molécula possui alta capacidade como agente anticorrosivo em diferentes meios agressivos a metais como descrito abaixo.

Estudos realizados utilizando-se soluções salinas (3,5% NaCl) com imersão de placas de cobre (YADAV; SHARMA, 2010), imersão de aço carbono em 1 mol L⁻¹ de H₂SO₄ (CHEN; LUO; LI, 2011) e imersão de placa de cobre em 0,5 mol L⁻¹ de HCl (QIN et al., 2011) mostraram que adições de até 10 mmol L⁻¹ de DMCT nas soluções citadas foram suficientes para alcançar uma eficiência satisfatória na inibição da corrosão das placas. Em outras aplicações, a adição de DMCT em óleos lubrificantes aumentou a vida útil do mesmo, contribuiu minimizando os efeitos corrosivos em partes metálicas e diminuiu o desgaste gerado pelo atrito de peças em motores (HU; WEI; ZONG, 2006; WANG et al., 2014; XUE et al., 2017).

Assim, a adição de inibidores de corrosão, como o DMCT, é essencial para evitar o desgaste de tubulações utilizadas no transporte de alguns produtos, como óleos e subprodutos, águas com alta salinidade e água do mar, ou também para evitar a degradação de combustíveis que estão em contato direto com partes metálicas. O mecanismo de inibição consiste basicamente da adsorção do DMCT sobre a superfície do metal, criando um filme protetor contra os processos corrosivos. É importante ressaltar que a adsorção do DMCT é uma adsorção abrangente, incluindo tanto adsorção física quanto adsorção química, ou seja, não ocorre apenas por interação eletrostática, mas também as interações doador-receptor eletrônico participam do processo de adsorção do DMCT na superfície do metal (CHEN; LUO; LI, 2011). Portanto, o monitoramento da concentração de inibidores de corrosão *in situ* em diversos sistemas permite otimizar o conteúdo a ser empregado em cada caso, a fim de manter sua máxima eficiência, pois valores insuficientes podem resultar em danos estruturais irreparáveis e perdas de produtos (DE OLIVEIRA et al., 2014).

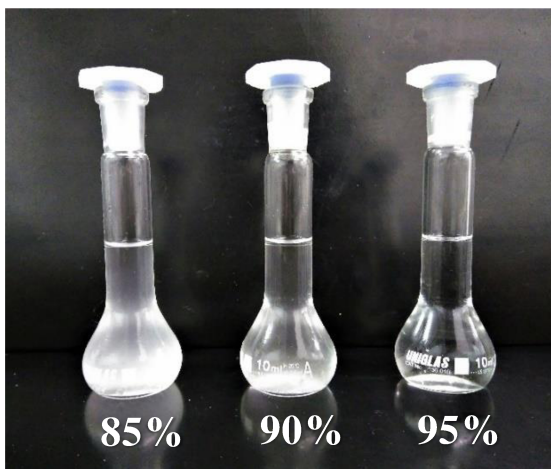
O sistema (BIA) com detecção eletroquímica acoplado aos eletrodos impressos resistentes a solventes orgânicos é uma alternativa versátil para os testes de campo e em tempo real, além de se obter análises rápidas e precisas (ALMEIDA et al., 2016). Deve-se levar em consideração que a complexidade das amostras utilizadas neste trabalho e o preparo por simples diluição no eletrólito auxilia na portabilidade do método. Por outro lado, as principais técnicas analíticas para determinação e quantificação de tiadiazóis são

cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e eletroforese capilar de zona (CZE) ambos com detecção por UV. Contudo, a instrumentação cara, a não portabilidade e o tempo de preparo das amostras (extrações em série) são algumas dificuldades associadas a estes métodos (CHERNOV'YANTS; ALESHINA; BURYKIN, 2011; RASZEWSKI et al., 2014).

Inicialmente foi estudada a proporção volumétrica ideal de etanol e água na composição do eletrólito suporte para possibilitar a miscibilidade completa das amostras, principalmente do óleo mineral. A seleção de eletrólito é um ponto chave para determinar o DMCT devido à natureza complexa das amostras analisadas nesta tese. Baseado em trabalhos anteriores (ALMEIDA et al., 2010; TORMIN et al., 2012, 2010), o uso do etanol como co-solvente foi utilizado para produzir soluções homogêneas contendo biodiesel e água para análises de antioxidantes e metais aplicando técnicas eletroquímicas para detecção. Desta forma, o etanol foi selecionado neste trabalho por apresentar algumas vantagens como, baixo custo, toxicidade muito baixa e compatibilidade com o sistema (eletrodo e amostras).

Devido à natureza hidrofóbica do óleo mineral (aqui utilizado como semelhante aos óleos lubrificantes), a proporção de etanol na composição do eletrólito foi variada em três níveis, 80, 90 e 95% v/v de etanol para garantir a completa miscibilidade. Os primeiros indícios mostraram que a proporção composta de 80% (v/v) de etanol resultou na formação de pequenas gotículas de óleo mineral suspensas na solução além de apresentar aspecto turvo, tornando inapropriado para a sequência do trabalho. A solução composta por 90 % (v/v) de etanol conseguiu solubilizar completamente o óleo mineral formando uma solução homogênea e límpida (transparente), contudo após 2 minutos desde a adição da amostra oleosa houve a formação de pequenas gotículas dispersas e o turvamento da solução hidroetanólica. Por fim, a razão volumétrica de 95% (v/v) de etanol e 5% de água desionizada foi suficiente para solubilizar a matriz oleosa, apresentando aspecto visual límpido, e homogêneo. Não houve a formação de gotículas dispersas pela solução mesmo após 20 minutos desde a adição do óleo mineral. A Figura 14 mostra o aspecto visual das três soluções hidroetanólicas contendo 80, 90 e 95% (v/v) de etanol em água (v/v) após as adições de 100 µL de óleo mineral em cada composição.

Figura 14: Efeito de diferentes proporções de etanol/água (v/v) na miscibilidade do óleo mineral.



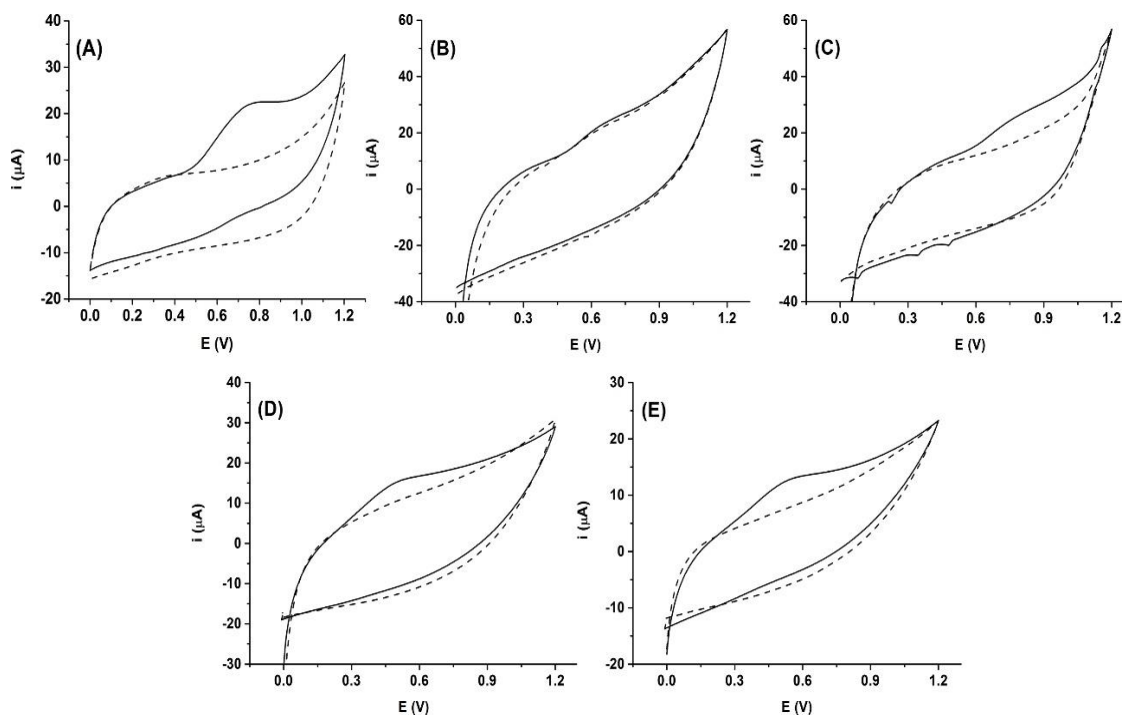
Fonte: Próprio autor

Considerando o sistema BIA-AMP para a realização das análises, o tempo de 20 minutos seria suficiente desde o preparo da amostra de óleo mineral (diluição no eletrólito) até a injeção em triplicata na célula.

A solubilidade da água do mar sintética e de bioetanol em todas composições hidroetanólicas foi completa e o aspecto das soluções resultantes foi límpida. Desta forma, a composição volumétrica ideal para o preparo das amostras, considerando a estabilidade do óleo mineral, foi empregando 95% de etanol e 5% de água (v/v).

O próximo passo do trabalho foi avaliar a composição de diferentes eletrólitos suporte no comportamento eletroquímico do DMCT utilizando-se o SPGrE por voltametria cíclica. Os ácidos nítrico, clorídrico e sulfúrico foram preparados diretamente na solução hidroetanólica cuja concentração no volume final foi de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Da mesma forma, o tampão BR foi preparado pela adição das quantidades apropriadas de ácido acético, fosfórico e bórico no balão volumétrico e diluídas pela solução hidroetanólica otimizada. O ajuste do eletrólito para os valores de pH 2 e 4 não mudou significativamente a composição do meio devido ao baixo volume adicionado da solução saturada de NaOH. A Figura 15 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para o DMCT em diferentes eletrólitos suporte contendo 95% (v/v) de etanol e 5% (v/v) de solução aquosa.

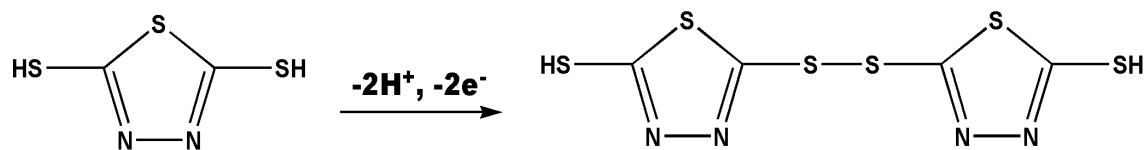
Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos antes (linhas tracejadas) e após adição de 3 mmol L⁻¹ DMCT (linhas sólidas) em 95% (v/v) e 5% (v/v) de solução aquosa de (A) 0,1 mol L⁻¹ de H₂SO₄; (B) 0,1 mol L⁻¹ de HNO₃; (C) 0,1 mol L⁻¹ de HCl; (D) 0,1 mol L⁻¹ de solução tampão BR (pH = 2); e (E) 0,1 mol L⁻¹ de solução tampão BR (pH = 4). Velocidade de varredura: 50 m V s⁻¹; Degrau de potencial: 5 mV. Eletrodo: SPGrE.



Fonte: Próprio autor.

Os estudos de voltametria cíclica foram avaliados na janela de potencial compreendida entre 0,0 até +1,2 V com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Analisando os voltamogramas pode-se observar que a oxidação eletroquímica do DMCT se inicia de forma irreversível em torno de +0,5 V no eletrólito contendo o ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹. Não foram obtidas respostas eletroquímicas suficientes para os demais eletrólitos contendo ácido nítrico ou clorídrico 0,1 mol L⁻¹. Com relação aos voltamogramas obtidos para os eletrólitos constituídos do tampão BR em pH 2 e 4, foi observado que o pico de oxidação do DMCT se inicia em torno de +0,3 V, porém com respostas eletroquímicas menos intensas quando comparadas com o eletrólito contendo o ácido sulfúrico. O mecanismo de oxidação do DMCT foi descrito na literatura envolvendo a transferência de 2 elétrons e 2 prótons formando um dímero dissulfeto do DMCT utilizando-se um eletrodo de bastão de carbono vítreo e o eletrólito composto por acetonitrila contendo 0,1 M de LiClO₄ (SHOUJI et al., 1997) como mostrado na Figura 16.

Figura 16: Mecanismo da oxidação direta do DMCT em acetonitrila contendo 0,1 M de LiClO₄.

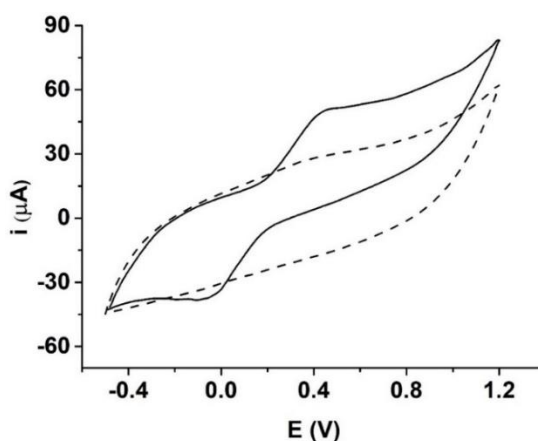


Fonte: Próprio autor. Adaptado de (SHOUJI et al., 1997).

A oxidação eletroquímica do DMCT no SPGrE em meio de 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ foi avaliada e o resultado mostrou que o processo é controlado preferencialmente por difusão conforme revelado pelo gráfico linear da corrente de pico em função da raiz quadrada da taxa de varredura (5 – 75 mV s⁻¹).

O par ferroceno/ferrocênio é utilizado como sonda redox em uma grande variedade de eletrodos quando se quer determinar algum analito em meio orgânico. A atividade eletroquímica deste sensor já foi demonstrada por voltametria cíclica para o ferroceno diluído em eletrólito composto em 99% (v/v) de etanol com 0,1 mol L⁻¹ de HClO₄ no volume final (ALMEIDA et al., 2016). Neste mesmo sentido o comportamento eletroquímico do ferroceno foi avaliado neste trabalho por voltametria cíclica utilizando o eletrodo SPGrE no eletrólito otimizado. A Figura 17 apresenta o voltamograma cíclico em meio de 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 3 mmol L⁻¹ de ferroceno.

Figura 17: Voltamograma cíclico antes (linha tracejada) e após a adição de 3 mmol L⁻¹ de ferroceno (linha sólida) em 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹.

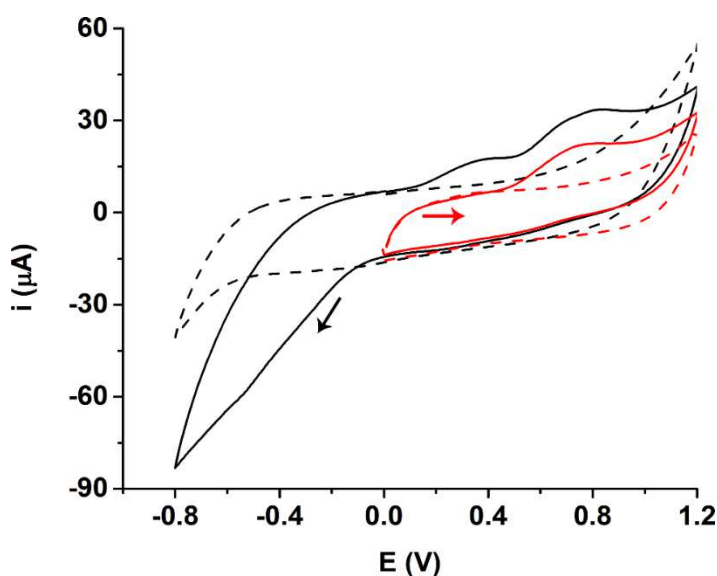


Fonte: Próprio autor.

O valor obtido para ΔE_p $|E_{oxi} - E_{red}|$ foi de 490 mV sendo comparável com 500 mV encontrado pelos autores que trabalharam com esse mesmo eletrodo em um eletrólito suporte composto por 99% (v/v) de etanol, 1% (v/v) de água e 0,1 mol L⁻¹ de HClO₄. A oxidação do ferroceno é reversível e era de se esperar que o ΔE seria próximo de 59 mV, considerando a transferência de apenas um elétron. Estes dados indicam que a cinética de transferência do elétron no eletrodo de trabalho do SPGrE não é tão rápida como nos demais eletrodos. De acordo com os autores, outro fator que pode colaborar para essa diferença é o elevado teor de etanol no eletrólito que contribui para o aumento da resistência da solução e, consequentemente para os processos eletroquímicos (ALMEIDA et al., 2016; FOSTER et al., 2014).

Um voltamograma cíclico do DMCT foi realizado em direção a potenciais negativos iniciando-se em 0,0 V até -0,8V e continuando a varrendura até +1,2 V (linhas pretas), explorando uma faixa de potencial mais ampla e comparado com a varredura para o sentido positivo de 0,0V até +1,2 V (linhas vermelhas). Um processo de redução eletroquímica do DMCT foi observado iniciando em -0,15 V enquanto que na varredura inversa (-0,8V até +1,2 V) surge um novo pico de oxidação em torno de +0,3 V como demonstrado na Figura 18.

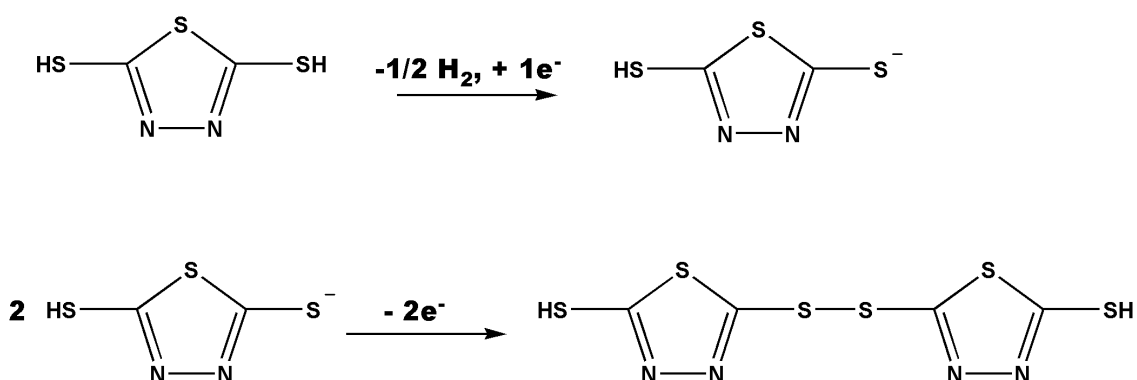
Figura 18: Voltamogramas cíclicos obtidos antes (linhas tracejadas) e após a adição de 3 mmol L⁻¹ DMCT (linhas sólidas) em 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹. Eletrodo: SPGrE.



Fonte: Próprio autor.

Este processo de oxidação em +0,3 V é claramente dependente da redução eletroquímica do DMCT. A literatura relatou a redução eletroquímica deste anticorrosivo gerando a forma mono-desprotonada do DMCT (forma aniônica) e esta espécie é oxidada em um potencial menos positivo em comparação com o processo de oxidação principal, levando à formação do dímero dissulfeto do DMCT (PICART, 1996; YE; BELANGER, 1994) de acordo com os mecanismos descritos abaixo.

Figura 19: Mecanismo para a redução do DMCT e a formação do dímero na varredura inversa.

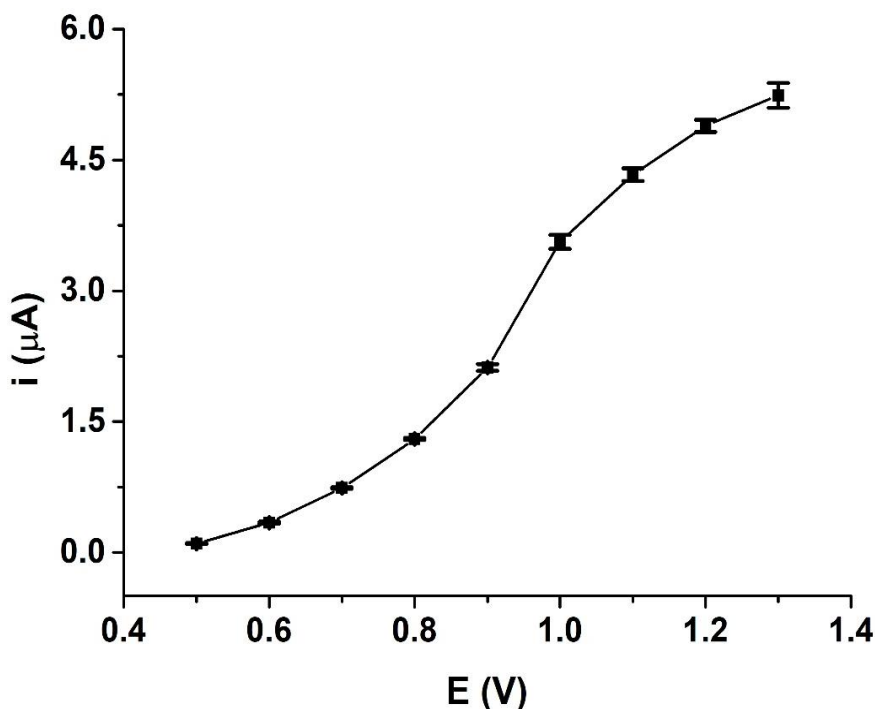


Fonte: Próprio autor. Adaptado de (PICART, 1996; YE; BELANGER, 1994).

Ambos os processos de redução e oxidação do DMCT foram avaliados para desenvolver o método amperométrico utilizando os SPGrE. Experimentos iniciais baseados na detecção de DMCT aplicando potenciais negativos (explorando o processo de redução de DMCT) apresentaram falta de repetibilidade com elevados desvios entre as medidas. Por outro lado, a aplicação de potenciais positivos para a detecção amperométrica de DMCT resultou em sinais repetitivos com baixos desvios e, sendo assim, promissores para o desenvolvimento do trabalho. Portanto, foi investigada a determinação amperométrica do DMCT com base no processo de oxidação.

Em seguida, foi obtido um voltamograma hidrodinâmico (com agitação) de DMCT no intervalo de potencial entre 0,0 V e +1,3 V realizadas no sistema BIA. Cada ponto corresponde ao valor médio da corrente obtida nas medidas amperométricas para injeções em triplicada de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DMCT em diferentes potenciais aplicados. A Figura 20 apresenta um gráfico dos valores médios ($n = 3$) da corrente de pico em função dos potenciais aplicados no sistema BIA.

Figura 20: Voltamograma hidrodinâmico obtido a partir dos valores médios de correntes de pico para injeções em triplicata de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ DMCT em função de potenciais aplicados no sistema BIA. Eletrólito: 95% (v/v) de etanol + 5% (v/v) de água e H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no volume final. Eletrodo: SPGrE.



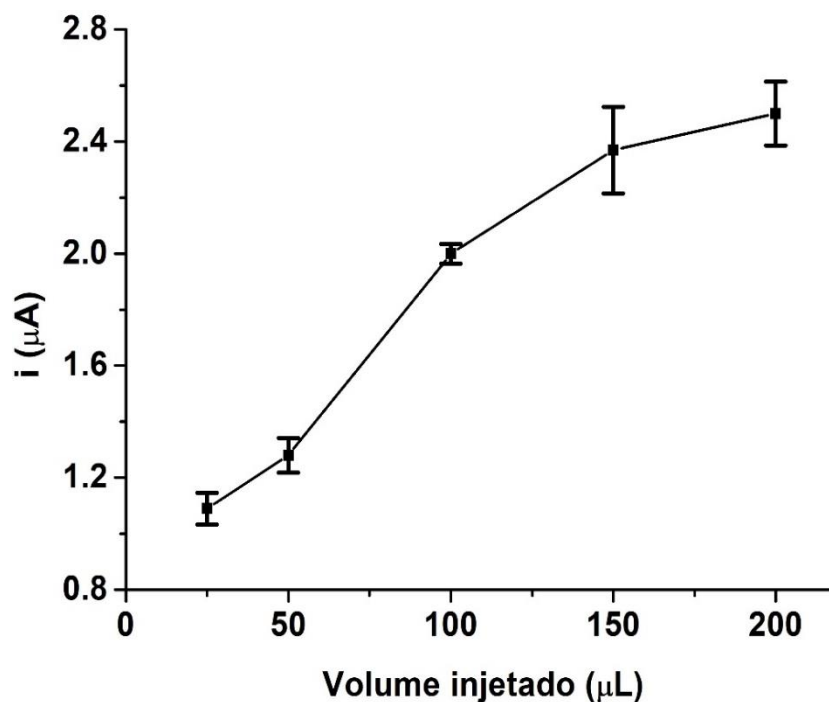
Fonte: Próprio autor

De acordo com a Figura 20, a corrente máxima de oxidação para o DMCT foi obtida em $+1,3 \text{ V}$ considerando a faixa de potenciais aplicados. No entanto, o potencial de $+1,1 \text{ V}$ foi selecionado para medições amperométricas subsequentes, a fim de não comprometer a estabilidade da linha base e seletividade do eletrodo para determinação de DMCT. A linha base também foi afetada pela aplicação de potenciais superiores, o que pode contribuir para medidas não reproduzíveis e elevados valores de desvio padrão relativo (DPR). Além disso, potenciais acima de $+1,1 \text{ V}$ não apresentam um aumento significativo nas correntes.

Após selecionar o melhor eletrólito e o potencial de oxidação, os parâmetros volume de injeção e velocidade de injeção do sistema BIA foram avaliados para obter os maiores sinais de corrente para o DMCT.

O volume injetado foi variado de 25 a $200 \mu\text{L}$ sendo o volume de $1000 \mu\text{L}$ o valor máximo da ponteira utilizada na micropipeta. O volume de injeção de $100 \mu\text{L}$ forneceu correntes satisfatórias e baixo desvio padrão ($n = 3$), portanto, foi selecionado para experiências subsequentes (Figura 21).

Figura 21: Otimização dos parâmetros BIA e o perfil amperométrico para o volume injetado (25 – 200 μL) para injeções ($n = 3$) de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de DMCT. Condições experimentais: Potencial de trabalho: +1,1V, eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , eletrodo: SPGrE.

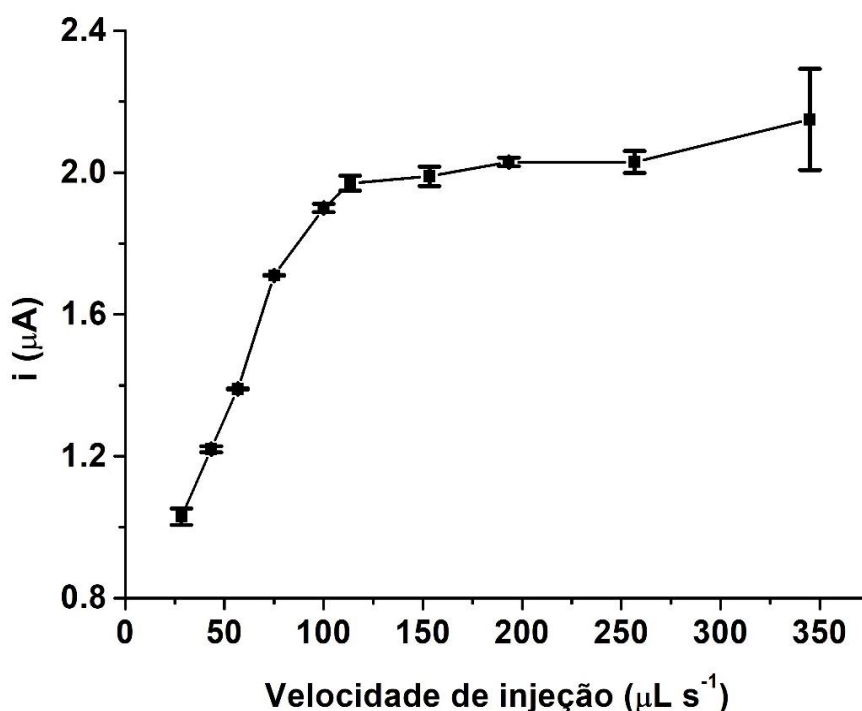


Fonte: Próprio autor

A corrente aumentou significativamente até as injeções de 100 μL , após este valor, observou-se apenas um pequeno aumento de corrente para 150 e 200 μL , com elevados desvios. Esse aumento pode proporcionar a saturação do eletrodo e, mesmo com o aumento da velocidade de agitação para dispersar o analito gera resultados não reprodutíveis. É importante que o volume de injeção utilizado alcance o máximo de corrente com baixos desvios. Outro ponto a se destacar é que o volume de injeção depende da cinética do analito sob determinado eletrodo, ou seja, se a cinética da espécie eletroativa é lenta, o volume de injeção deverá ser maior para se adquirir correntes maiores e, conseqüentemente maior sensibilidade. (BRETT; BRETT; MITOSERIU, 1995). Além disso, um menor volume de amostra injetado gera menos resíduos dentro da célula BIA, desta forma, maior o número de análises que podem ser realizadas antes de efetivar a troca do eletrólito

A velocidade de injeção foi avaliada mantendo constante o volume de injeção otimizado em 100 μL da solução padrão de DMCT (Figura 22).

Figura 22: Otimização dos parâmetros BIA e o perfil amperométrico para a velocidade de injeção ($25 - 350 \mu\text{L s}^{-1}$) para injeções ($n = 3$) de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DMCT. Condições experimentais: Potencial de trabalho: $+1,1 \text{ V}$, eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) de água e H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, volume injetado: $100 \mu\text{L}$, eletrodo: SPGrE.



Fonte: Próprio autor

As correntes de pico aumentaram quando a velocidade de injeção foi aumentada de 25 para $113 \mu\text{L s}^{-1}$. Não foram obtidos aumentos significativos nas correntes para velocidades de injeção superiores a $113 \mu\text{L s}^{-1}$; no entanto, o valor de $193 \mu\text{L s}^{-1}$ foi selecionado devido ao baixo desvio padrão ($n = 3$) e especialmente por proporcionar maior frequência analítica (maior velocidade de injeção e consequentemente análises mais rápidas). A velocidade de injeção a ser otimizada e a intensidade do sinal de corrente estão diretamente relacionadas com a viscosidade e a densidade das amostras. Além disso, este parâmetro está ligado ao tempo de resposta do eletrodo com a velocidade de chegada do analito até a superfície do mesmo e posterior diluição no eletrólito (WANG et al., 1992).

O comportamento do sinal de corrente versus a velocidade de injeção não foi semelhante aos trabalhos anteriores (ALMEIDA et al., 2016; STEFANO et al., 2016) em que o sinal de corrente aumentou em toda a faixa de velocidade de injeção estudada. A diferença observada deste trabalho com os demais pode ser explicada pela oxidação

incompleta do DMCT sob velocidades de injeção mais altas, limitadas pela cinética lenta de transferência de elétrons. Além disso, as velocidades de injeção mais elevadas em sistemas BIA com detecção amperométrica são evitadas devido ao número limitado de pontos de amostragem atualmente adquiridos pelo software, o que pode contribuir para a perda de precisão (PACHECO et al., 2011; QUINTINO; ANGNES, 2004; SILVA et al., 2012; STEFANO et al., 2012; TORMIN et al., 2012)

A Tabela 5 informa as condições estudadas e os valores otimizados para a determinação do anticorrosivo DMCT empregando sistema BIA e os SPGrE resistentes ao meio orgânico.

Tabela 5: Resumo dos valores obtidos nas otimizações dos parâmetros utilizados na determinação de DMCT.

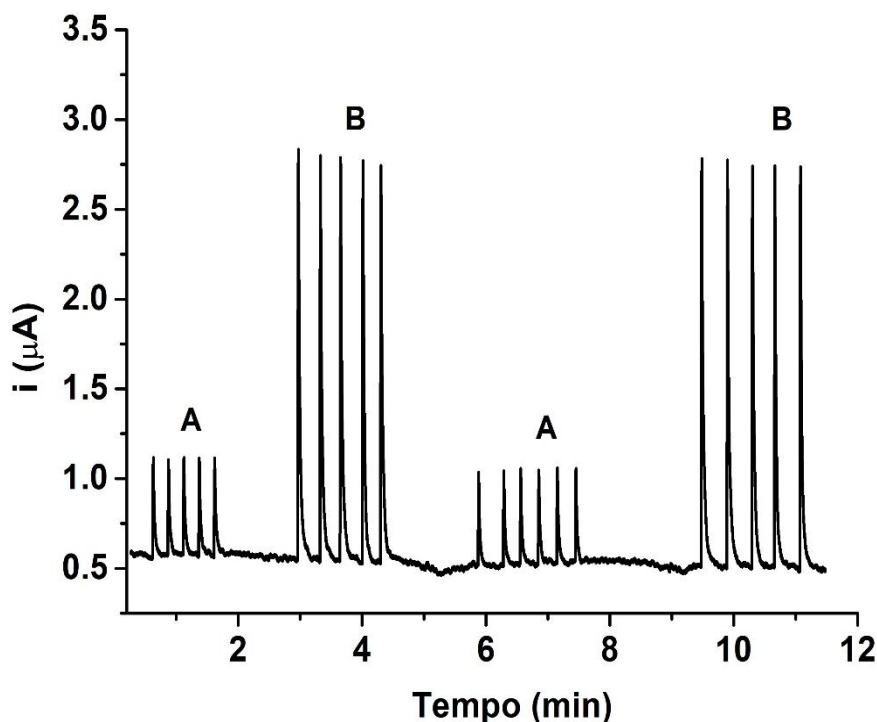
Parâmetros	Estudado	Otimizado
Etanol % (v/v)	80, 90 e 95%	95%
Eletrólito	H ₂ SO ₄ , HCl, HNO ₃ , Tampão BR pH 2 e 4	H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ no volume final
E _{oxidação} (V) vs pseudo-referência Ag/AgCl	0,4 – 1,3	1,1
Volume de injeção (μL)	25 – 200	100
Velocidade de injeção (μL s ⁻¹)	25 – 350	193

Fonte: Próprio autor

4.1.1 Figuras de mérito

Após a otimização do eletrólito e dos parâmetros do sistema BIA foi observado um comportamento linear na faixa de 5 até 75 μmol L⁻¹ após injeções da solução padrão de DMCT e exibiu um coeficiente de correlação linear (R) de 0,999. Para o estudo de repetibilidade, foram realizadas 20 injeções em duas concentrações diferentes de DMCT, 5 injeções de 10 μmol L⁻¹ intercaladas por 5 injeções de 40 μmol L⁻¹ como mostrado na Figura 23. Os valores de desvio padrão relativo (DPR) foram 2,4% para 10 μmol L⁻¹ e 1,0% para 40 μmol L⁻¹. Este resultado mostra a ausência de efeito de memória entre as injeções de DMCT em diferentes concentrações.

Figura 23: Sinais amperométricos para 5 injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ no sistema BIA (A) intercaladas por 5 injeções de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ (B) ($n = 10$ para cada nível de concentração). Eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) água e H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no volume final. Potencial de trabalho: $+1,1 \text{ V}$; volume injetado: $100 \mu\text{L}$; velocidade de injeção: $193 \mu\text{L s}^{-1}$, eletrodo: SPGrE.

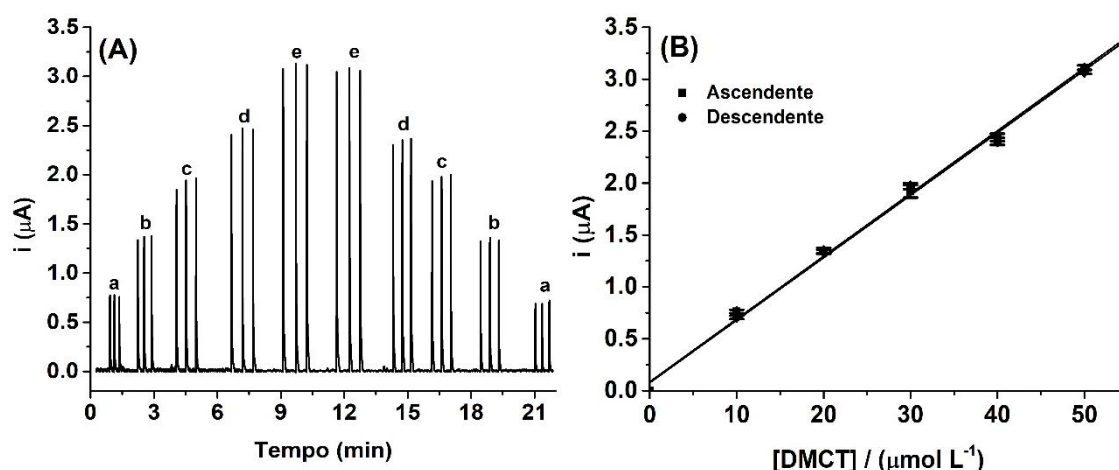


Fonte: Próprio autor.

A Figura 24 mostra as respostas amperométricas para uma curva em ordem crescente e decrescente de concentrações obtidas pela injeção de concentrações na faixa de 10 até $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em (A) e as respectivas curvas de calibração em (B).

As duas curvas de calibração apresentaram inclinações similares ($0,0604$ e $0,0602 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente) o que também mostra a ausência do efeito de memória sobre as concentrações injetadas e não requer tratamento prévio do eletrodo SPGE. Além disso, os coeficientes de correlação linear apresentaram boa linearidade ($0,998$ e $0,998$) para a curva crescente e decrescente, respectivamente, e baixos desvios padrão

Figura 24: (A) Respostas amperométricas do sistema BIA para injeções em triplicata de (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 40 e (e) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ da solução padrão de DMCT. (B) Curvas de calibração correspondentes para injeções crescentes (■) e decrescentes (●). Potencial de trabalho: +1,1 V; eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) água e H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} no volume final; volume injetado: 100 μL ; velocidade de injeção: 193 $\mu\text{L s}^{-1}$, eletrodo: SPGrE.



Fonte: Próprio autor

As equações de reta para as curvas crescente e decrescente são apresentadas abaixo:

$$y(\mu\text{A}) = 0,0863 + 0,0604[\text{DMCT}] (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad \text{Ascendente} \quad (R = 0,998)$$

$$y(\mu\text{A}) = 0,0733 + 0,0602[\text{DMCT}] (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad \text{Descendente} \quad (R = 0,998)$$

O método eletroquímico proposto apresentou características analíticas favoráveis para a determinação do DMCT. Os valores de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ calculados da seguinte forma: $\text{LD} = 3 \times \text{DPb}/S$ e $\text{LQ} = 10 \times \text{DPb}/S$, em que DPb é o desvio padrão do branco ($n = 10$) e S é a inclinação da curva analítica (considerando que a diluição das amostras foram 100 vezes, o LD do sistema analítico é de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Portanto, o método proposto é capaz de monitorar níveis de DMCT em amostras aplicadas para inibição de corrosão (vales típicos na faixa de 1 a 10 mmol L^{-1}) (QIN et al., 2011). A frequência analítica estimada na determinação amperométrica foi de cerca de 180 injeções h^{-1} (20 s para injeções em triplicata de cada amostra) estimadas pelo estudo de repetibilidade. Os resultados usando a BIA com detecção amperométrica são comparáveis àqueles publicados na literatura para outros

analitos de interesse em diferentes amostras (STEFANO et al., 2016, 2012). A Tabela 6 resume os parâmetros analíticos obtidos pelo método proposto.

Tabela 6: Características analíticas do método proposto para determinação de DMCT usando SPGrE no sistema BIA em uma solução hidroetanólica contendo 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) água e H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ no volume final. Eletrodo: SPGrE.

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Sensibilidade (μA/μmol L ⁻¹)	0,0604
LD (μmol L ⁻¹)	0,3
LQ (μmol L ⁻¹)	1,0
FL (μmol L ⁻¹)	5 – 75
Correlação linear (R)	0,998
Repetibilidade A (n = 10) / % DPR	2,4
Repetibilidade B (n = 10) / % DPR	1,0
Intra-dia (n = 5) / % DPR	3,9
Inter-dia (n = 5) / % DPR	2,8
Inter-eletrodos (n = 5) / % DPR	4,3
Frequência Analítica (injeções h ⁻¹)	180

LD = Limite de detecção; LQ = limite de quantificação, FL = faixa linear,

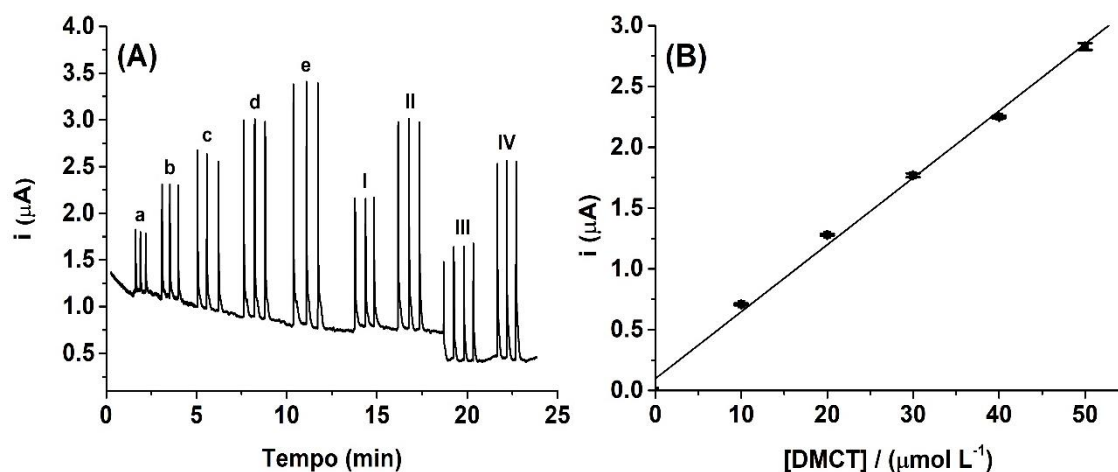
DPR = Desvio padrão relativo

Fonte: Próprio autor

4.1.2 Aplicação do método na análise de DMCT em amostras reais

Após a obtenção dos parâmetros analíticos, o método proposto foi aplicado para a determinação do DMCT nas amostras de bioetanol, água do mar sintética e óleo mineral utilizando o SPGrE no acoplado ao sistema BIA. As amostras de álcool combustível e água do mar sintética foram fortificadas em dois níveis de concentração diferentes (2,0 e 4,0 mmol L⁻¹) e diluídas 100 vezes no eletrólito. As respostas amperométricas das injeções em triplicata e a respectiva curva de calibração são mostradas na Figura 25 (A e B), bem como as respostas para amostras de bioetanol (I e II) e de água do mar sintética (III e IV).

Figura 25: (A) Respostas amperométricas obtidas após injeções ($n = 3$) de (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 40 e (e) $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de soluções padrão e amostras após diluição de 100 vezes no eletrólito (I e II correspondentes ao bioetanol e III e IV à água do mar sintética a) e (B) respectiva curva de calibração para DMCT. Potencial de trabalho: +1,1 V; eletrólito: 95% (v/v) de etanol, 5% (v/v) água e H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no volume final; volume injetado: $100 \mu\text{L}$; velocidade de injeção: $193 \mu\text{L s}^{-1}$; eletrodo: SPGrE.



Fonte: Próprio autor

A curva de calibração apresentou linearidade satisfatória (0,998) e inclinação de $0,0550 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$. Os valores de recuperação foram obtidos entre 93% e 106% para amostras de água do mar e etanol combustível, respectivamente. Portanto, não houve efeito matriz ou contaminação do eletrodo na presença de etanol combustível e amostras sintéticas de água do mar.

A curva de calibração obtida para as determinações de DMCT apresentou a seguinte equação de reta:

$$y (\mu\text{A}) = 0,0972 + 0,0550[\text{DMCT}] (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad (R = 0,998)$$

Por outro lado, observou-se uma queda acentuada nas respostas analíticas durante as análises das amostras de óleo mineral para as fortificações com 20 e $40 \mu\text{mol L}^{-1}$, resultando em valores de recuperação inferiores a 80% (não mostrado). Provavelmente, a matriz oleosa contribuiu para a diminuição da constante dielétrica da solução como observado na literatura para a eletroanálise de amostras de óleo (ALMEIDA et al., 2010; TORMIN et al., 2010), o que pode ter afetado a detecção amperométrica de DMCT nesse

meio complexo. Para contornar possíveis efeitos de matriz da amostra de óleo, o método de adição padrão foi utilizado para quantificar o DMCT nestas amostras. As amostras de óleo mineral fortificadas com 20 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (amostras V e VI, respectivamente) foram analisadas. As inclinações das curvas foram de $0,055 \pm 0,001 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,054 \pm 0,002 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$ com coeficiente de correlação linear de 0,999 e 0,997 para 20 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Pode-se observar que a sensibilidade das curvas na presença de óleo mineral foi em torno de 9% inferior aos valores obtidos no eletrólito puro, indicando efeito de matriz, mesmo diluída 100 vezes, na oxidação do DMCT. Valores de recuperação entre 97 – 99% foram obtidos indicando uma exatidão satisfatória do método para análises de óleo usando o método de adição padrão.

A Tabela 7 resume os valores de recuperação obtidos pelas análises utilizando sistema BIA proposto e otimizado. As mesmas amostras de etanol de combustível (I e II), água do mar (III e IV) e óleo mineral (V e VI) foram analisadas pelo método comparativo baseado em espectrofotometria. Além disso, os testes t de Student pareados para $n = 3$ com um intervalo de confiança de 95% (valor crítico de 2,78) foram calculados para todas as amostras e níveis de concentração.

Tabela 7: Concentrações de DMCT nas amostras puras e fortificadas de bioetanol combustível, de água do mar sintética e óleo mineral analisadas pelo sistema BIA e pelo método espectrofotométrico, com os respectivos valores de recuperação e teste-t.

Amostras	BIA (µmol L ⁻¹)			Recuperação (%)	UV-Vis	t-test
					(µmol L ⁻¹)	95%
	Encontrado	Fortificado	Recuperado		Amostras Fortificadas	t _{crítico} = 2,78
I	<LD	20	21,2 ± 2,1	106 ± 5	19,3 ± 0,1	1,56
II	<LD	40	40,8 ± 0,7	102 ± 3	41,5 ± 0,9	0,86
III	<LD	20	19,5 ± 1,6	98 ± 4	18,9 ± 0,7	0,59
IV	<LD	40	37,4 ± 3,0	93 ± 8	41,5 ± 1,2	2,19
V	<LD	20	19,5 ± 0,3	97 ± 2	19,0 ± 0,6	1,13
VI	<LD	40	39,7 ± 3,5	99 ± 9	37,9 ±0,5	0,84

Fonte: Próprio autor

De acordo com os resultados, o método proposto mostrou-se preciso ($\text{DPR} < 9\%$) e exato na determinação do DMCT em todas as amostras uma vez que os valores de

recuperação permaneceram entre 93 – 106% respectivamente. Além disso, os valores foram estatisticamente concordantes com os obtidos pelo método de espectrofotometria para a análise de todas as amostras de acordo com os valores do *teste-t*.

Amostras comerciais de óleos lubrificantes podem conter diferentes aditivos para melhorar suas características gerais de desempenho dependendo das várias formas de utilização como, por exemplo, em motores por combustão (carro, moto, caminhão) ou equipamentos industriais de forma geral. Dentre os aditivos pode-se ter os detergentes, antiespumantes, antioxidantes, desativadores de metais, reguladores de viscosidade e os inibidores de corrosão cada um desempenhando uma função diferente (MORTIER; FOX; ORSZULIK, 2010). Desta forma, um estudo de interferência foi realizado considerando a análise de óleos minerais, pois tais amostras simulariam os óleos lubrificantes por conter os aditivos. As amostras de óleo mineral foram fortificadas com três classes de aditivos diferentes; um antiespumante, um regulador de viscosidade e antioxidantes. Após as fortificações, as amostras foram diluídas no eletrólito e injetadas no sistema BIA. Na presença do antiespumante A e do polímero álcool polivinílico ($100\ \mu\text{mol L}^{-1}$ cada) não produziu nenhuma resposta amperométrica nas mesmas condições selecionadas usadas para detectar DMCT neste trabalho. Por outro lado, os antioxidantes fenólicos TBHQ, 2,6-TBP e BHT ($100\ \mu\text{mol L}^{-1}$ cada) interferem na determinação do DMCT, pois todos esses compostos produziram um sinal amperométrico nas mesmas condições de detecção selecionadas para DMCT. Estes antioxidantes são tipicamente adicionados aos óleos combustíveis para retardar os processos oxidativos (SANTOS et al., 2014). Cabe ressaltar que os aditivos utilizados nos testes de interferentes não são necessariamente os que podem estar presentes nos óleos lubrificantes, isto porque, geralmente as empresas não divulgam as moléculas adicionadas em seus produtos por questões técnicas ou econômicas. A determinação de DMCT livre da interferência desses antioxidantes pode ser avaliada usando técnicas voltamétricas, uma vez que tais moléculas podem ser submetidas a diferentes potenciais do que os observados para o DMCT.

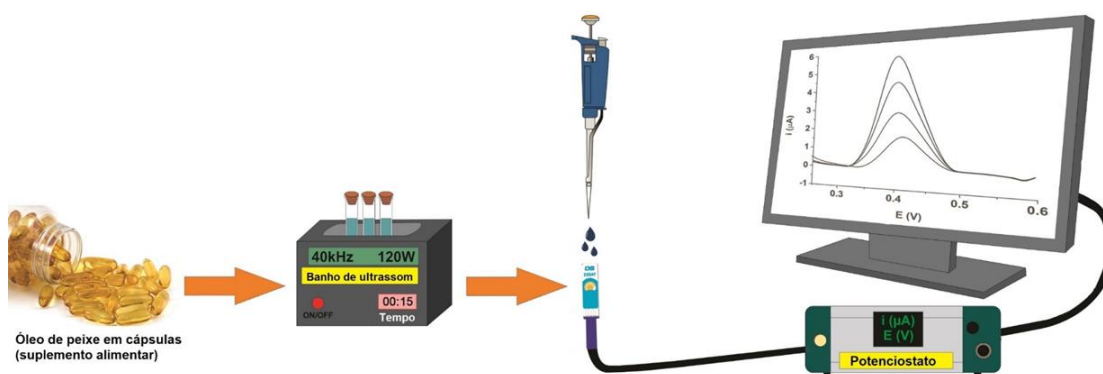
Deve-se enfatizar que, após 180 injeções por hora, um único SPGrE acoplado à célula BIA foi utilizado para as análises variadas (água do mar, bioetanol e óleo mineral) sem sua substituição; no entanto, o volume da célula BIA aumenta após injeções contínuas e, em seguida, a limitação do sistema BIA está relacionada à capacidade máxima da célula (100 mL). Portanto, após 200 injeções (aproximadamente 1 h de experimentos), o eletrólito deve ser substituído ou o excesso retirado para se iniciar novas medidas pelo método BIA proposto. No entanto, o mesmo SPGrE pode ser usado

continuamente durante mais de 8 h de experiências sem haver o comprometimento dos materiais que o compõe mesmo em contanto com o meio alcoólico. Além disso, o método é completamente portátil, pois a célula BIA é compacta, incluindo a micropipeta eletrônica, bem como os potenciostatos comerciais, que são alimentados por bateria e o preparo da amostra, que consistiu apenas de uma diluição no eletrólito. Quando comparado com outros métodos analíticos dedicados à determinação de tiadiazóis, como cromatografia líquida e eletroforese capilar (CHERNOV'YANTS; ALESHINA; BURYKIN, 2011; RASZEWSKI et al., 2014), o método proposto é mais simples e rápido, além de apresentar boa precisão, exatidão e sensibilidade comparável.

Novas investigações ainda devem ser realizadas para a aplicação deste sistema BIA acoplado SPGrE em outras amostras como, no controle de qualidade (em tempo de real) de fármacos, de alimentos, combustíveis e amostras ambientais. Neste mesmo sentido a resistência química destes eletrodos pode ser avaliada na presença de outros solventes como acetona, isopropanol e DMF possibilitando análises em meios ainda mais complexos. A modificação do eletrodo com diferentes materiais, como nanopartículas metálicas, enzimas, polímeros, material biológico, entre outros, possibilitaria uma melhora nas propriedades eletroanalíticas para a detecção de uma gama de analitos em diferentes meios.

4.2 Determinação de mercúrio total em óleo de peixe em cápsulas por SWASV utilizando eletrodo impresso de ouro com alta temperatura de cura (SPGE-AT)

Figura 26: Ilustração para a determinação de mercúrio em óleo de peixe em cápsulas por SWASV utilizando eletrodo impresso de ouro com alta temperatura de cura (SPGE-AT)



O mercúrio é um dos elementos mais tóxicos que ocorrem naturalmente no meio ambiente. Além disso, a contribuição antropogênica para as emissões de mercúrio (especialmente na forma de espécies de Hg^{2+}) é relevante e leva à poluição do meio ambiente aquático. As espécies orgânicas e inorgânicas são geradas por diferentes atividades industriais como indústrias farmacêuticas, eletroquímicas, fertilizantes, além disso, atividades como mineração irregular, descarte inadequado de eletrônicos e lâmpadas fluorescentes, queima de combustíveis fósseis e incineração de lixo urbano são outras fontes de contaminação. O mercúrio inorgânico adere-se ao material particulado e atinge corpos de água, acumulando-se nos sedimentos em águas naturais (AUGELLI et al., 2007; AZEVEDO et al., 2018; DA SILVA et al., 2018; SÁNCHEZ URÍA; SANZ-MEDEL, 1998). Sob condições anaeróbicas, a ação de microrganismos facilita a formação de metilmercúrio e esta espécie difunde-se mais facilmente do que o Hg inorgânico através da incorporação nos tecidos de peixes que estão em contato com rios contaminados (AUGELLI et al., 2007).

O crescente consumo de peixe e do óleo de peixe devido às propriedades saudáveis desses alimentos, a determinação de Hg nessas amostras é essencial para o controle de qualidade de alimentos e produtos farmacêuticos baseados em cápsulas de óleo de peixe (MEI et al., 2018; YAO et al., 2017). A Comunidade Europeia e a Farmacopeia Europeia

estabelecem um limite máximo de mercúrio em óleo de peixe de $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ (MEI et al., 2018). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não prevê um limite máximo deste contaminante para suplementos a base de óleo de peixe, e sim para a categoria de tecido de peixe na qual o limite máximo é $500 \mu\text{g kg}^{-1}$ (ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2013).

Diferentes técnicas analíticas têm sido aplicadas para a determinação de mercúrio em amostras de óleo, incluindo espectrométricas e de redissolução voltamétrica e potenciométrica (DE O VICENTINO; BRUM; CASSELLA, 2015; HSU; JIANG; SAHAYAM, 2013; KARADJOVA; VENELINOV, 2002; MUNOZ et al., 2007; PONTES et al., 2013; YAO et al., 2017). Além da sensibilidade comparável aos métodos espectrométricos, os eletroquímicos fornecem vantagens relevantes dentro da química analítica moderna para a determinação de metais que inclui instrumentação portátil, respostas rápidas, redução da quantidade de amostra e reagentes e capacidade de análises em campo em tempo real. Os eletrodos impressos desempenham papel fundamental no desenvolvimento de metodologias eletroquímicas, pois são descartáveis, podem ser produzidos em larga escala, são relativamente baratos e de fácil operação (LI et al., 2012). Por outro lado, os procedimentos analíticos dedicados à análise de óleo requerem uma etapa de preparação de amostra antes das determinações (MUNOZ et al., 2005), que é crucial considerando a determinação de elementos voláteis, como o mercúrio (MUNOZ et al., 2007). Para aproveitar as vantagens dos métodos eletroquímicos portáteis, é essencial desenvolver etapas simples de preparação de amostras e que sejam compatíveis para análises fora de um laboratório. Neste caso, o preparo das amostras oleosas foi realizado através de processos de digestão das amostras com a finalidade de decompor a matriz orgânica e liberar o mercúrio na sua forma inorgânica (Hg^{2+}) facilitando assim a detecção pela técnica redissolução voltamétrica nos eletrodos impressos de ouro.

Trabalhos recentes mostraram o bom desempenho de SPGE para determinações de Hg em diferentes amostras (ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014; BERNALTE; MARÍN SÁNCHEZ; GIL, 2011; BERNALTE; MARÍN SÁNCHEZ; PINILLA GIL, 2012; BERNALTE; MARÍN SÁNCHEZ; PINILLAGIL, 2013; FERNÁNDEZ et al., 2016; GAO; HUANG, 2013; RUEDA-HOLGADO et al., 2012; TORMIN et al., 2016). O trabalho foi iniciado pela ativação do SPGE-AT em meio de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por voltametria cíclica (30 ciclos) e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} como descrito na seção experimental. O uso de HCl foi escolhido devido a performance que esse eletrólito tem em favorecer os processos de limpeza do eletrodo antes das medidas e também na

melhora nos sinais de corrente de redissolução para metais como cobre, chumbo e mercúrio em eletrodos de ouro (ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014; BERNALTE; MARÍN SÁNCHEZ; GIL, 2011). A ativação de eletrodos impressos de ouro é altamente necessária para se obter sinais analíticos nítidos e reproduzíveis devido à diminuição da corrente de fundo e estabilização da linha base dos eletrodos como já mostrado em trabalhos anteriores (BONFIL; BRAND, 2000; LASCHI; PALCHETTI; MASCINI, 2006).

Os primeiros ciclos de ativação do eletrodo iniciados em 0,0 até +0,6V apresentaram respostas ruidosas, porém, após o décimo ciclo a linha base do voltamograma começou a estabilizar e as correntes tornaram-se menos ruidosas e, após o término de 30 ciclos, nenhuma perturbação do sinal de corrente foi identificada.

Após a ativação do eletrodo, a janela de potencial de trabalho do SPGE-AT foi estudada em meio de HCl 0,1 mol L⁻¹ por SWASV utilizando os parâmetros baseados em um trabalho já publicado (ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014). Os resultados mostraram que houve visualmente a formação de bolhas de hidrogênio na superfície do eletrodo, aumento da corrente de fundo e linha base ruidosa quando o voltamograma iniciou a varredura em regiões de potenciais mais negativos do que -0,1 V. Um sinal na linha base (semelhante a um pico de redissolução) foi obtido em 0,1 V em todos os testes realizados mesmo na ausência de qualquer metal. Este sinal também foi identificado em outro trabalho utilizando o mesmo eletrodo adquirido pela empresa Dropsens (BERNALTE et al., 2013). Através de estudos por voltametria cíclica, os autores atribuíram que o surgimento do pico se tratava de alguma contaminação da tinta proveniente do processo de fabricação do próprio eletrodo. Por outro lado, quando o voltamograma atingiu potenciais positivos, acima de +0,6 V, a linha base aumentou devido à dissolução do ouro, que é facilitada pela presença de íons cloreto no eletrólito como mostrado pela equação (3) (AUGELLI et al., 2007).



Tendo em vista a evolução de hidrogênio em potenciais negativos (< -0,1V), o pico atribuído a tinta do eletrodo (+0,1V), e o início da oxidação do ouro após +0,6V, o SPGE-AT apresentou uma janela de potencial mais estreita em comparação com o SPGE com baixa temperatura de cura das tintas (SPGE-BT) como já mostrado na literatura (BERNALTE et al., 2013). Através dos testes foi possível escolher uma janela ótima de

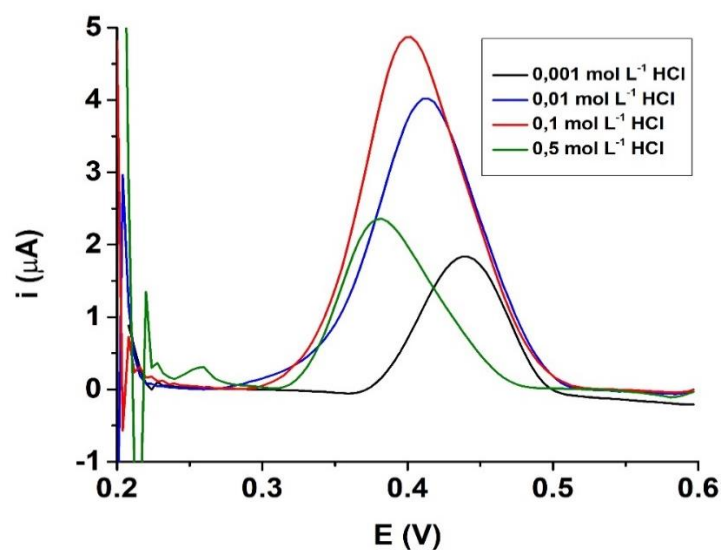
trabalho para este eletrodo compreendida entre +0,2 até +0,6V, na qual não houve a formação de bolhas, apresentou respostas menos ruidosas e corrente de fundo estável. Além disso, o pico voltamétrico de remoção do mercúrio ocorre em +0,4 V, dentro da janela de potencial otimizada para este SPGE. A otimização da janela de potencial do eletrodo auxilia no aumento de vida útil do eletrodo o que colabora para o menor custo das análises. Cabe ressaltar que os SPGE-AT utilizados para o desenvolvimento deste trabalho não possuíam a camada isolante resistente a solventes orgânicos, ou seja, esses eletrodos foram fabricados para análises preferencialmente em meio aquoso.

O uso desses eletrodos impressos de ouro é limitado devido ao baixo sobrepotencial para os íons H^+ , ou seja, a formação de gás hidrogênio (H_2) na superfície do eletrodo que ocorre em potenciais menos negativos quando comparado com outros eletrodos como o filme de mercúrio ou de bismuto. Essa formação de gás prejudica a deposição dos metais de interesse na superfície do eletrodo gerando sinais distorcidos e perda na detectabilidade do método (AUGELLI et al., 2007; BERNALTE et al., 2013). No entanto, mesmo com a janela de potencial reduzida, o SPGE-AT foi selecionado para este trabalho devido a melhor detectabilidade para mercúrio quando comparado com o SPGE-BT (ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014). Uma das explicações da diferença na detectabilidade é que apesar do SPGE-BT apresentar maior área eletroquímica em relação ao SPGE-AT a composição superficial mostrou que a quantidade de ouro presente na superfície do SPGE-AT é maior. Desta forma as características como, limite para potenciais negativos ou positivos e a detectabilidade estão diretamente ligados a essa quantidade de ouro disposta sobre a superfície do SPGE-AT (BERNALTE et al., 2013).

Após o estudo da janela de potencial, foi realizado um estudo de eletrólito suporte com diferentes ácidos. Além de HCl 0,1 mol L⁻¹, foram testados os ácidos sulfúrico, nítrico e perclórico 0,1 mol L⁻¹ em função do sinal de corrente do mercúrio por SWASV. O ácido clorídrico apresentou o maior sinal analítico para o metal, sendo 10 vezes maior que o sinal obtido para o ácido sulfúrico, enquanto que não foi observado em nenhuma resposta para os demais eletrólitos. O fato da resposta do mercúrio em meio de HCl ser melhor é explicada devido a capacidade de o cloreto complexar com o Hg^{2+} já que a interação entre este elemento e o ouro é muito forte ocorrendo a formação de amalgama durante os processos de deposição. De certa forma a presença de cloreto facilita a redissolução do mercúrio para a solução através da formação de complexos com o cloreto (PINILLA GIL; OSTAPCZUK, 1994).

Em seguida foi avaliada a concentração de HCl no eletrólito em quatro níveis; 0,001, 0,01, 0,1 e 0,5 mol L⁻¹. A Figura 27 mostra o efeito da concentração de HCl no eletrólito no respectivo sinal de 50 µg L⁻¹ de mercúrio livre.

Figura 27: Relação entre a concentração de HCl e a resposta de mercúrio determinada por SWASV em SPGE-AT não resistentes a solventes orgânicos. Condições de SWASV: potencial de deposição = -0,1 V, tempo de deposição = 90 s, frequência = 10 Hz, degrau de potencial = 4 mV, amplitude de potencial = 40 mV.



Fonte: Próprio autor

A concentração de 0,5 mol L⁻¹ de HCl promoveu distorções da linha base do voltamograma e antecipação do pico do mercúrio para regiões menos positivas. Além disso, o tempo de vida útil do eletrodo de ouro pode ser afetado devido a presença de altas concentrações de cloreto que facilitam o processo de oxidação do ouro em potenciais mais positivos, acima de +0,6 V. Por outro lado, a solução contendo 0,001 mol L⁻¹ de HCl apresentou a menor resposta analítica para o metal, e deslocou o pico para potenciais mais positivos que +0,4V. Com relação as concentrações restantes, o eletrólito contendo 0,1 mol L⁻¹ apresentou a maior resposta analítica para o mercúrio em potenciais de +0,4V. Nessa concentração não houve a antecipação da oxidação do ouro, o pico do sinal obtido foi bem definido sem alargamentos ou deslocamento de potencial. Pode-se observar que a concentração de cloreto está diretamente relacionada com o perfil do voltamograma e a magnitude do sinal de mercúrio. Tal fato pode ser explicado pela capacidade do cloreto em complexar com o mercúrio e facilitar a redissolução do metal da superfície do eletrodo

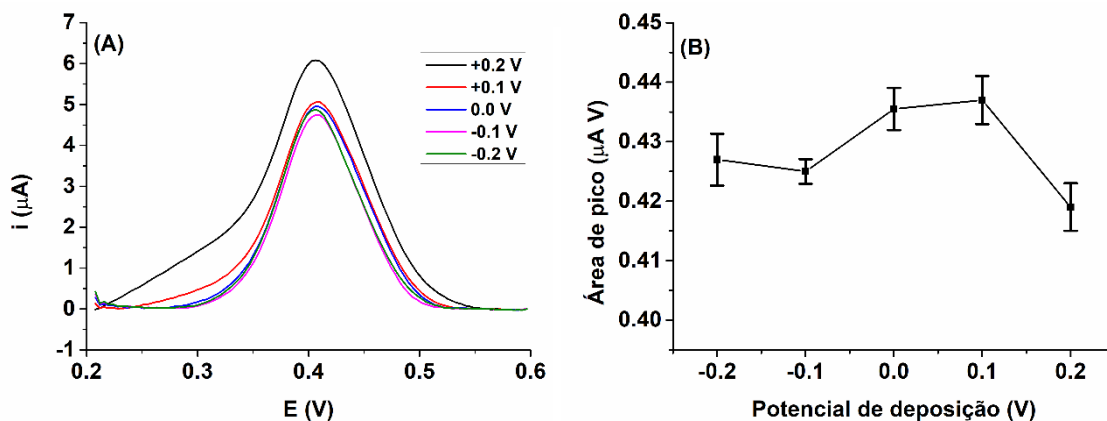
para a solução. Resultados semelhantes foram obtidos em um trabalho cuja concentração de cloreto foi variada no eletrólito. Os autores mostraram que uma maior concentração deste ânion antecipou o potencial de pico do mercúrio, enquanto que concentrações menores de cloreto provocaram um deslocamento o pico para regiões mais positivas (BONFIL; BRAND, 2000; PINILLA GIL; OSTAPCZUK, 1994). O mesmo eletrólito já foi utilizado por outros autores em determinações de mercúrio utilizando SPGE em diferentes amostras (ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014; BERNALTE; MARÍN SÁNCHEZ; GIL, 2011; TORMIN et al., 2016).

Posteriormente, os parâmetros SWASV, frequência (8 – 100 Hz), amplitude de potencial (20 – 100 mV) e degrau de potencial (2 – 10 mV), foram avaliados com base em experiências univariadas utilizando $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de mercúrio em meio de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com SPGE-AT. Os processos faradâicos ocorridos na superfície do eletrodo são controlados por esses parâmetros e as variações são representadas através de melhorias na intensidade e perfil do sinal analítico. Todos os procedimentos de otimização foram realizados sob agitação constante com uma barra magnética. Durante a leitura e redissolução dos metais, a agitação é automaticamente desligada pelo software do método. O tempo entre o desligamento da agitação e o início da leitura é chamado de tempo de equilíbrio.

Uma etapa de condicionamento (limpeza) foi selecionada em +0,6 V sob agitação com base no potencial que o mercúrio é redissolvido na solução (+0,4V) e por um período que fosse suficiente para remover algum resquício do mercúrio depositado e que não redissolveu para o eletrólito. Essa etapa é de grande importância pois tem como objetivos restaurar a linha de base e evitar a contaminação do eletrodo a partir da medida anterior e por isso, realizar medidas reproduzíveis.

O potencial de deposição foi inicialmente avaliado tendo em vista a estreita janela de potenciais que podem ser aplicados sem comprometer a reprodutibilidade das medidas pela geração de hidrogênio, principalmente em potenciais mais negativos. Os experimentos foram estudados na faixa de -0,2 até +0,2 V conforme a Figura 28.

Figura 28: Avaliação do potencial de deposição (-0,2 a +0,2V) nas medidas em triplicata de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de mercúrio em 0,1 mol L^{-1} de HCl utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Hg^{2+} e (B) sinais de área para cada potencial avaliado. Condições de SWASV: tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, degrau de potencial = 4 mV, amplitude de potencial = 30 mV.



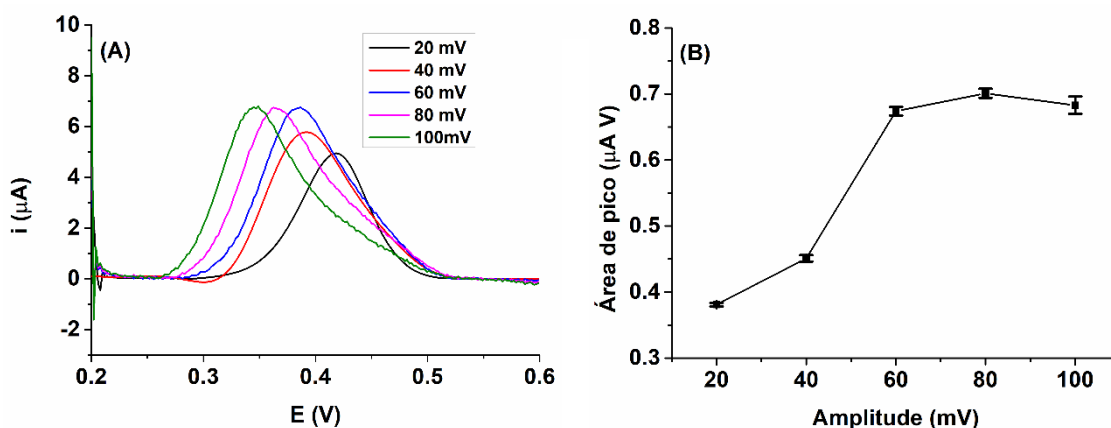
Fonte: Próprio autor.

Conforme os resultados, não foi observada uma tendência das correntes entre as medidas para os diferentes potenciais. As respostas analíticas compreendidas na faixa estudada apresentaram valores semelhantes, contudo, por apresentar baixo desvio entre as medidas, o potencial de -0,1 V foi selecionado nos experimentos subsequentes. Como já mencionado, potenciais mais negativos que -0,2 V não foram estudados devido a geração de hidrogênio na superfície do eletrodo causando perda na reprodutibilidade do sinal.

Em seguida o tempo de deposição para o mercúrio foi avaliado no intervalo de 30 a 240 segundos. Como já descrito na literatura, o aumento do tempo de deposição acarreta em um acréscimo no sinal de corrente, pois uma maior quantidade de analito é depositado na superfície do eletrodo conforme o tempo aumenta. De forma semelhante, foi observado um crescimento linear do sinal de mercúrio em toda a faixa estudada apresentando baixos desvios padrão em todos os pontos. No entanto, 90 segundos de deposição foi selecionado como valor ótimo devido à boa detectabilidade e aumento da frequência de análise em comparação com os tempos superiores. É importante dizer que o tempo de deposição otimizado pode ser alterado para valores maiores dependendo da concentração do metal na amostra que se deseja analisar e desta forma, aumentar a sensibilidade e, conseqüentemente, limites de detecção mais baixos podem ser obtidos.

A faixa estudada para frequência, amplitude de potencial e degrau de potencial foram selecionadas baseadas em trabalhos anteriores que utilizaram o SPGE para o desenvolvimento do método. A Figura 29 mostra o estudo da amplitude variando-se de 20 até 100 mV e os respectivos sinais de correntes obtidos para (n = 3).

Figura 29: Estudo para otimização da amplitude (20 a 100 mV) para leituras em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de mercúrio. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Hg²⁺ e (B) sinais de área para cada valor de amplitude avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = -0,1V, tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, degrau de potencial = 4 mV.

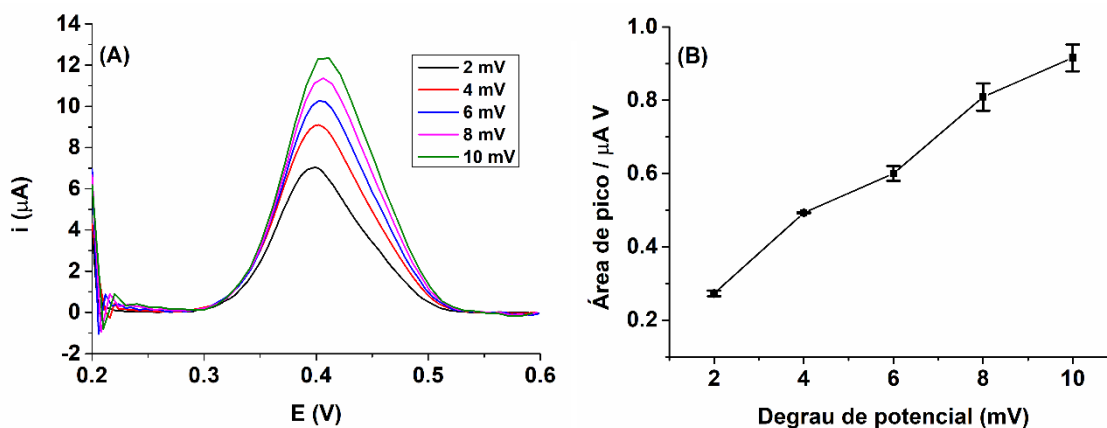


Fonte: Próprio autor

Foi observado um aumento de sinal de corrente para o mercúrio até 80 mV de amplitude. Nota-se um aumento mais significativo nas respostas analíticas no intervalo de 20 até 60 mV e depois, certa estabilidade até o valor de 100 mV. Este parâmetro contribuiu para o aumento da detectabilidade do metal, contudo, apesar de baixos desvios, em amplitudes a partir de 60 mV houve aumento da distorção do pico da redissolução gerando gráficos visualmente ruidosos e alargados. Assim, a amplitude de 40 mV foi selecionada como o valor otimizado apresentando bons sinais de correntes, baixos desvios entre as medidas e picos não ruidosos e com boa resolução.

Em sequência foi realizado o estudo para o parâmetro de degrau de potencial nas respostas analíticas do mercúrio. A Figura 30 mostra a faixa estabelecida para os experimentos com o degrau de potencial e os respectivos valores médios das correntes.

Figura 30: Estudo para otimização do degrau de potencial (2 a 10 mV) para leituras em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de mercúrio. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Hg²⁺ e (B) sinais de área para cada valor do degrau de potencial avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = -0,1V, tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, amplitude de potencial = 30 mV.

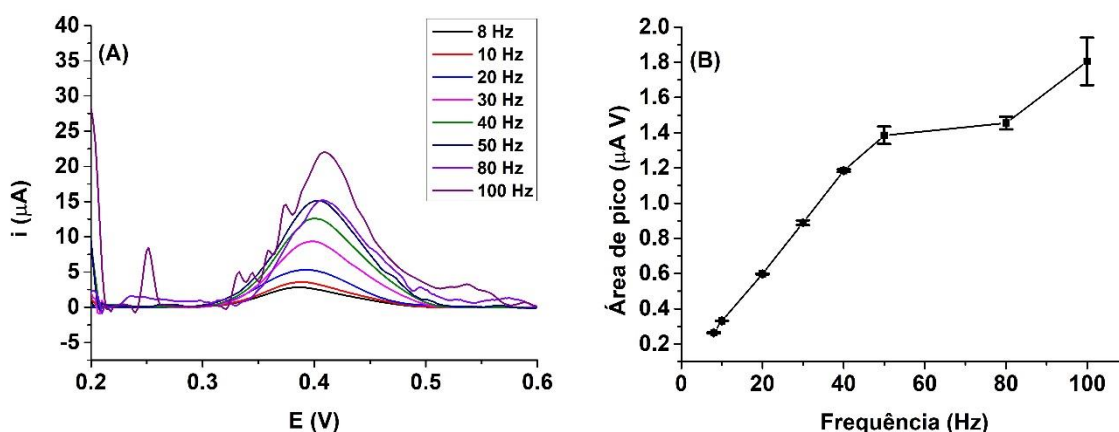


Fonte: Próprio autor

O degrau de potencial mostrou uma tendência linear crescente nas respostas analíticas do mercúrio como ser observado pela Figura 27. A partir de 6 mV não houve um acréscimo considerável do sinal do metal, além disso, houve um aumento dos desvios entre as medidas e perda da resolução gráfica devido ao aumento da velocidade de varredura. Assim, o incremento de potencial de 4 mV foi selecionado como ótimo devido ao bom sinal de corrente de redissolução do mercúrio e os baixos desvios confirmados pelas barras de erros.

Um estudo de otimização para a frequência de aplicação dos pulsos de potencial foi realizado e os resultados apresentados na Figura 31. Para este parâmetro, os valores estudados foram na faixa de 8 até 100 Hz.

Figura 31: Estudo para otimização da frequência (8 a 100 Hz) para leituras em triplicata de soluções aquosas de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 50 µg L⁻¹ de mercúrio. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Hg²⁺ e (B) sinais de área para cada valor de frequência de aplicação do pulso de potencial avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = -0,1 V, tempo de deposição = 90 s, amplitude de potencial = 30 mV, degrau de potencial = 4 mV.



Fonte: Próprio autor

De acordo com a Figura 28 houve um aumento do sinal de corrente para o mercúrio de 8 até 80 Hz e um decréscimo em 100 Hz. Um comportamento crescente e linear foi observado até 40 Hz e a partir desse valor, nenhuma tendência nos valores foi obtida. O acréscimo nos desvios entre as medidas (n=3) é proporcionado pelo aumento da velocidade de varredura e, conseqüentemente, perda na resolução gráfica dos sinais. Desta forma, o valor de 40 Hz foi escolhido como ideal devido ao ganho na detectabilidade de mercúrio e baixos desvios quando comparado com os resultados obtidos para frequências menores, além de fornecer uma velocidade de varredura de 160 mV s⁻¹ contribuindo para análises mais rápidas.

Após as otimizações dos parâmetros de onda quadrada outras características para o método foram avaliadas como velocidade de agitação, potencial e tempo de limpeza (condicionamento), e tempo de equilíbrio. A agitação proporciona melhora na detectabilidade do metal devido ao aumento do transporte de massa para a superfície do eletrodo durante o período de deposição. Por outro lado, o potencial e o tempo de limpeza (condicionamento) tiveram como objetivos evitar a contaminação do eletrodo aumentando sua vida útil, e proporcionar reprodutibilidade entre as medidas. Além disso, o tempo de equilíbrio é outra característica importante pois evita que as medidas sejam realizadas ainda sobre o efeito da agitação minimizando os efeitos do transporte de massa

por convecção. Todos os parâmetros otimizados neste trabalho estão de acordo com os valores obtidos em um trabalho já publicado na literatura para a determinação de mercúrio em amostras ambientais por SWASV utilizando-se o SPGE-AT (BERNALTE; MARÍN SÁNCHEZ; GIL, 2011).

Cabe ressaltar que todas as medidas das otimizações dos parâmetros de onda quadrada foram realizadas com um único eletrodo impresso de ouro (SPGE-AT) e sem a troca de eletrólito ou qualquer outro componente do sistema.

A Tabela 8 resume as variáveis otimizadas e os respectivos intervalos estudados para a determinação de mercúrio óleo de peixe em cápsulas utilizando SPGE-AT e SWASV.

Tabela 8: Otimização dos parâmetros do eletrólito e de SWASV para a determinação de Hg utilizando o SPGE-AT

Parâmetro	Intervalo de estudo	Valor otimizado
Concentração de HCl	0,001 – 0,5 mol L ⁻¹	0,1 mol L ⁻¹
Frequência	8 – 100 Hz	10 Hz
E _{incremento}	2 – 10 mV	4 mV
E _{amplitude}	20 – 100 mV	40 mV
E _{dep}	+0,2 V até -0,2 V	-0,1 V
T _{dep}	30 – 240 s	90 s
Velocidade de agitação	500 – 2500 rpm	1000 rpm
E _{condicionamento}	+0,4 V até +0,6 V	+0,6 V
T _{condicionamento}	15 – 90 s	30 s
T _{equilíbrio}	15 – 90 s	15 s

Fonte: Próprio autor.

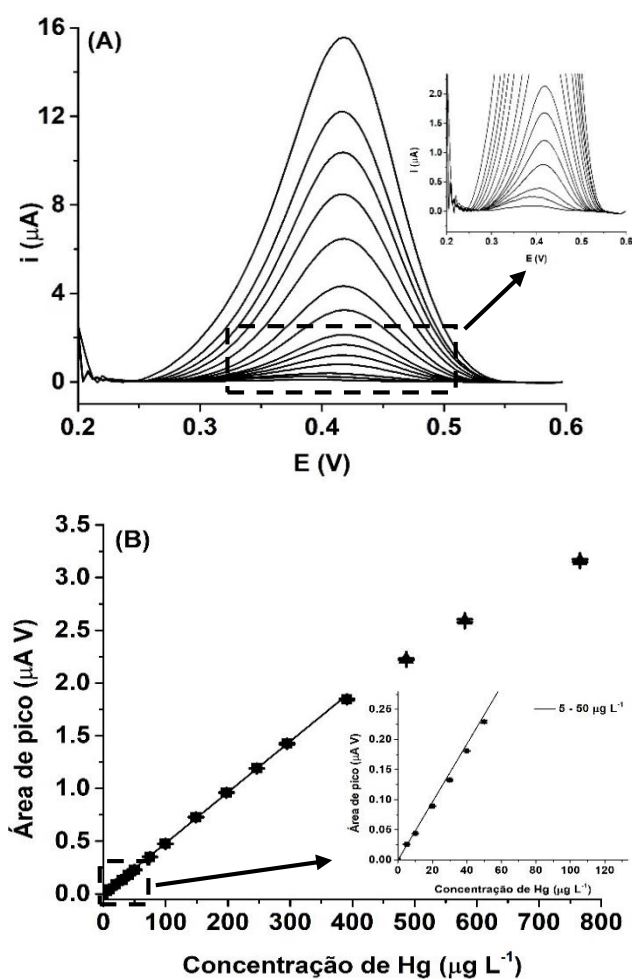
4.2.1 Figuras de mérito

Após as otimizações do eletrólito e dos parâmetros de SWASV, o método proposto foi validado. Um comportamento linear do mercúrio foi observado na faixa de concentração entre 5 e 400 µg L⁻¹ em meio de HCl 0,1 mol L⁻¹ como pode ser observado na Figura 32. O coeficiente angular (sensibilidade) e de correlação linear (r) foram

0,00481 $\mu\text{A V}/\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,999 respectivamente. A equação da curva de calibração é representada abaixo:

$$y(\mu\text{A V}) = -0,00192 + 0,00481[\text{Hg}^{2+}] (\mu\text{g L}^{-1}) \quad (R = 0,999)$$

Figura 32: (A) Voltamogramas de redissolução para concentrações crescentes de mercúrio (5 – 400 $\mu\text{g L}^{-1}$) em meio meio de HCl 0,1 mol L^{-1} . Em (B) a respectiva curva de calibração para mercúrio. Condições de SWASV apresentas na Tabela 8.



Fonte: Próprio autor.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram de 0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,83 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (LD = $3 \times \text{DPb}/S$ e LQ = $10 \times \text{DPb}/S$, em que DPb é o desvio padrão da linha base do branco para $n = 10$ e S é a inclinação da curva analítica).

Para o estudo de repetibilidade, foram avaliados quatro níveis de concentração de mercúrio, 5, 20, 50 e 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 10$) em HCl 0,1 mol L^{-1} realizado no sistema convencional utilizando o SPGE-AT nas condições SWASV otimizadas, incluindo a

etapa de condicionamento do eletrodo. Os desvios-padrão relativos (DPR) foram de 3,8, 2,9, 2,3 e 1,4%, respectivamente. Estes valores mostram a eficiência da etapa de limpeza eletroquímica (etapa de condicionamento) otimizada, que evitou a contaminação do eletrodo pelo mercúrio e flutuações nos sinais de corrente entre as medidas.

A Tabela 9 resume as características analíticas do método proposto para o sistema convencional sob condições otimizadas.

Tabela 9: Características analíticas do método proposto para a determinação de Hg por SPGE-AT em 0,1 mol L⁻¹ HCl.

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Sensibilidade ($\mu\text{A V}/\mu\text{g L}^{-1}$)	0,00481
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,25
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,83
FL ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5 – 400
r	0,999
Repetibilidade DPR (%; n = 10; 5 $\mu\text{g L}^{-1}$)	3,8
Repetibilidade DPR (%; n = 10; 20 $\mu\text{g L}^{-1}$)	2,9
Repetibilidade DPR (%; n = 10; 50 $\mu\text{g L}^{-1}$)	2,3
Repetibilidade DPR (%; n = 10; 250 $\mu\text{g L}^{-1}$)	1,4
Intra-dia DPR (%; n = 5; 50 $\mu\text{g L}^{-1}$)	3,1
Inter-eletrodos DPR (%; n = 3)	4,3

LD = Limite de detecção; LQ = limite de quantificação, FL = faixa linear,

DPR = Desvio padrão relativo

Fonte: Próprio autor

4.2.2 Otimização do preparo da amostra

Inicialmente, foi avaliada a eficiência de três métodos diferentes de digestão de amostras (banho com ultrassom, calcinação e bloco digestor) na extração de Hg de um padrão oleoso. Os parâmetros analíticos como massa de padrão, solução e volume dos reagentes extratores foram pré-definidos com base em trabalhos já publicados na literatura envolvendo preparo de amostras de lubrificantes e óleos vegetais como citado na parte experimental. Assim, o padrão oleoso de mercúrio certificado de 100 mg kg⁻¹ foi

selecionado para o processo de otimização das digestões devido a semelhança da sua composição com as amostras do óleo de peixe e pela confiabilidade na sua concentração.

A energia ultrassônica obtida por banhos ou sondas é amplamente utilizada no preparo de diferentes amostras como é destacado pela literatura. Contudo, a energia utilizada em banhos ultrassônicos não é distribuída uniformemente. O comportamento das regiões de maior intensidade da energia depende da localização dos cristais piezoelétricos responsáveis pelo processo de cavitação (MUNOZ; OLIVEIRA; ANGNES, 2006). Assim, foi necessário o estudo da eficiência do banho ultrassônico através de um teste empregando uma folha de papel alumínio antes de iniciar os procedimentos de digestão. O papel foi colocado em contato direto com o metal do fundo do banho ultrassônico e o volume interno completado com água. Após acionar o banho, em poucos segundos já foi possível observar o início da perfuração do papel alumínio causado pelas bolhas da cavitação. Após 5 minutos as regiões central e esquerda superior foram as que apresentaram o maior número de perfurações e, conseqüentemente os locais na qual a energia se propaga com maior intensidade de acordo com a Figura 33. Desta forma, as amostras foram colocadas nessas regiões para garantir o melhor rendimento da radiação para que o processo de digestão fosse mais eficiente.

Figura 33: Estudo da distribuição da energia no banho de ultrassom e apresentação regiões de maior perfuração na folha de alumínio provocada pelos cristais piezoelétricos.



Fonte: Próprio autor

Este simples teste permitiu averiguar as regiões que apresentam a maior concentração de perfurações na folha de alumínio dentro do banho. Nessas regiões, a radiação ultrassônica é mais intensa, o que possibilita um melhor aproveitamento dessa radiação para a digestão das amostras. Assim, os frascos de plástico contendo a massa do

padrão oleoso e a solução extratora (1 mL de HCl concentrado e 1 mL de H₂O₂ 30% m/v) foram colocados em um suporte metálico com capacidade para nove frascos e adicionada na região central do no banho de tal forma que a mistura foi completamente imersa.

Os demais procedimentos de digestão para cada metodologia foram realizados conforme descrito na seção experimental. Além disso, cabe ressaltar que a concentração final de mercúrio na célula após as diluições das amostras digeridas, para cada procedimento de digestão, foi de 50 µg L⁻¹. A comparação da eficiência de cada procedimento de digestão foi realizada após a determinação de Hg nas amostras digeridas pelo método de adição padrão nas condições otimizadas de eletrólito e SWASV. A Tabela 10 mostra os resultados obtidos para cada metodologia de preparo de amostra realizada em triplicata na determinação de mercúrio extraído do padrão oleoso.

Tabela 10: Comparação das metodologias de digestão baseados em valores de recuperação de mercúrio no padrão óleo certificado.

Metodologia	Concentração obtida	Recuperação (%) n = 3
	(µg L ⁻¹) n = 3	
Banho de ultrassom	49,8 ± 4,2	94,2 ± 9,6
Bloco digestor	29,1 ± 0,7	58,0 ± 0,7
Calcinação	< LD	< LD

Fonte: Próprio autor.

De acordo com os resultados a digestão auxiliada pelo banho por ultrassom foi a mais eficiente para decompor a matriz orgânica sem que houvesse perda do metal. Durante o processo de extração a solução do banho foi mantida em temperatura ambiente. Foi observado resquícios de material residual não digerido após o procedimento de sonicação dentro dos tubos de digestão; no entanto, os valores de recuperação mostram a eficiência da liberação de Hg da matriz oleosa para solução ácida aquosa mesmo antes da otimização do procedimento.

O bloco do digestor exigiu temperaturas próximas à 160 °C durante os procedimentos de digestão, o que não é ideal para a determinação de Hg, devido à volatilidade deste metal mesmo em temperatura ambiente (AUGELLI et al., 2007). Os resultados de recuperação, em torno de 50%, indicam que as etapas de preparo de amostras destinadas à determinação de Hg requerem procedimentos em temperaturas moderadas para evitar perdas por volatilidade. Por outro lado, se forem utilizados

métodos de digestão empregando-se temperaturas elevadas, o uso de frascos fechados se faz necessário, como no caso de digestões de forno de micro-ondas que é altamente aconselhável para promover digestão de diferentes matrizes sem perdas de analitos voláteis (AUGELLI et al., 2007; FERREIRA et al., 2015).

A calcinação converteu completamente a matriz orgânica do padrão em cinzas que posteriormente foram dissolvidas em solução ácida; no entanto, os valores de recuperação indicam a volatilidade de mercúrio durante a digestão, especialmente para a etapa que utilizou altas temperaturas (550 °C) e frascos abertos, o que contribuiu para a perda total do metal (ADELOJU, 1989). Portanto, o método de digestão assistido por banho ultrassônico a temperatura ambiente é a melhor opção para tratar amostras de óleo para determinação de Hg, colaborando também para a portabilidade da metodologia como um todo (ASHLEY, 1995) e com a “química verde” devido ao menor consumo de energia e reagentes quando comparado com os demais métodos de digestão (BENDICHO et al., 2012). Este tipo de preparação de amostra foi previamente aplicado para diferentes amostras em que a determinação de Hg foi direcionada, como em combustíveis (FREITAS et al., 2015; TORMIN et al., 2016), fertilizantes (LIMA et al., 2015), material biológico (MUNOZ; OLIVEIRA; ANGNES, 2006), solos (COLLASIOL; POZEBON; MAIA, 2004) e alimentos (ALTUNAY, 2018)

É importante dizer que, a concentração final do ácido na solução contida na célula após a diluição dos digeridos não interferiu no comportamento eletroquímico do sinal de mercúrio no SPGE-AT se apresentando de forma estável e sem ruídos. Além disso, um único eletrodo foi responsável pela realização de todas as medidas dos digeridos.

4.2.3 Otimização dos parâmetros de digestão empregando banho de ultrassom

Foi realizado um estudo univariado de alguns parâmetros do método de digestão por banho ultrassônico, como volume de solução extratora, tempo de sonicação e massa de amostra. O intervalo de variação para os parâmetros foi adaptado de trabalhos publicados na literatura (CYPRIANO; MATOS; MATOS, 2008; FREITAS et al., 2015; MUNOZ; OLIVEIRA; ANGNES, 2006). De forma semelhante ao aplicado na escolha da metodologia de digestão, a concentração de mercúrio na célula após as diluições dos digeridos foi de 50 µg L⁻¹ sendo quantificadas por adição de padrão.

Inicialmente, foram estudados diferentes volumes da solução extratora na digestão em banho ultrassônico. 100 mg de padrão oleoso foram tratados separadamente com 2000, 1500, 1000 e 500 μL da mistura 1:1 de HCl concentrado e H_2O_2 (30% m/v) durante 30 min no banho. Para cada volume da solução extratora estudada, foi realizada a triplicata da digestão, ou seja, 12 experimentos. Ao final do período de sonicação, os digeridos foram avolumados com água desionizada e uma alíquota dessa solução adicionada na célula contendo o eletrólito otimizado. Todas as amostras tratadas com os quatro diferentes volumes da solução permitiram a determinação do mercúrio por SWASV otimizado com recuperações obtidas entre 93 e 110%, desvios menores que 14% e correlação linear acima de 0,997 para todas as curvas de adição padrão com $n = 3$. Observou-se que, apesar dos bons resultados obtidos, algumas gotas de óleo tiveram que ser removidas da superfície dos frascos das amostras digeridas com 500 μL da solução extratora. Este volume da solução pode não ter sido suficiente para digerir toda a amostra. No entanto, as amostras tratadas com 2000 μL da mistura apresentaram recuperações próximas de 100% e menores desvios quando comparadas às demais soluções. Isso pode ser atribuído à digestão total da amostra (não foram obtidos resíduos de óleo e uma solução final limpa), o que possibilitou análises reprodutíveis. Os volumes acima de 2000 μL da solução extrativa não foram avaliados porque, mesmo após a diluição na célula, alta acidez poderia comprometer a estabilidade do SPGE-AT.

Os próximos experimentos objetivaram avaliar o tempo de sonicação para a digestão do padrão oleoso no banho de ultrassom. Novamente, cerca de 100 mg do padrão de óleo foram misturados com 2000 μL da solução extratora e a mistura tratada separadamente sob sonicação durante 15, 30, 45 e 60 min. Todas as digestões foram realizadas em triplicata o que levou a 12 experimentos. Os resultados para este parâmetro mostraram que todos os tempos de sonicação estudados foram eficientes na extração de mercúrio com recuperações superiores a 90% e coeficientes de correlação linear maiores que 0,998, para todas as curvas de adição padrão, com $n = 3$. A fim de garantir uma maior frequência de análise, o tempo de 15 min de sonicação foi selecionado para testes adicionais, além disso, apresentou recuperações próximas de 100% e desvios inferiores em relação aos demais experimentos.

Em seguida, a eficiência da extração de mercúrio foi avaliada separadamente variando-se a massa em 100, 200, 300 e 400 mg do padrão de óleo certificado sob as condições otimizadas da solução extratora (2000 μL da mistura 1:1 HCl concentrado e H_2O_2 30% m/v) e do tempo de sonicação (15 minutos). Todas as digestões foram

conduzidas em triplicata, totalizando 12 experimentos. O objetivo do aumento da massa de padrão foi de garantir melhoria nos limites de detecção do método pela extração de um teor mais elevado de mercúrio e uma menor diluição na solução extratora. O estudo mostrou que a extração de mercúrio foi bem-sucedida em todos os casos, com recuperações variando de 97 a 103% para $n = 3$ e coeficientes lineares maiores que 0,998, para todas as curvas de adição padrão. No entanto, quantidades de padrão oleoso acima de 100 mg não foram eficientemente digeridas como evidenciado pela aparência visual (gotículas de óleo de superfície). Além disso, foram verificados desvios padrões relativamente altos (acima de 16%). Assim, as condições otimizadas para o método de digestão em banho de ultrassom foram 100 mg de amostra, 2000 μL de solução extratora e 15 min de sonicação no banho. Os valores dos parâmetros otimizados para a extração de mercúrio do padrão oleoso utilizando o banho de ultrassom estão de acordo com aqueles encontrados na literatura (CYPRIANO; MATOS; MATOS, 2008; FREITAS et al., 2015). O próximo passo foi aplicar este procedimento para as cápsulas de óleo de peixe compradas no mercado local. A Tabela 11 mostra um resumo das experiências e a eficiência na extração de mercúrio do padrão oleoso digerido em banho de ultrassom e determinado por SWASV otimizado utilizando um SPGE-AT.

Tabela 11: Resumo das variáveis analisadas para a otimização da digestão do padrão oleoso contendo mercúrio em banho de ultrassom e as respectivas concentrações obtidas em triplicata para cada parâmetro otimizado

Parâmetros da digestão (unidade)	Intervalo	Valor otimizado	Concentração obtida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%) $n = 3$
Volume da solução extratora (μL)	500 – 2000	2000	$49,8 \pm 0,4$	$99,6 \pm 0,9$
Tempo de sonicação (min)	15 – 60	15	$50,2 \pm 7,2$	$102,7 \pm 3,7$
Massa de padrão (mg)	100 – 400	100	$47,3 \pm 5,1$	$99,1 \pm 1,2$

Fonte: Próprio autor.

4.2.4 Aplicação do método proposto na determinação de mercúrio em cápsulas contendo óleo de peixe.

O método proposto foi aplicado à determinação do mercúrio em três amostras de óleo de peixe em cápsulas adquiridas no mercado local. As cápsulas de cada fabricante

foram perfuradas e aproximadamente 100 mg do óleo de peixe foram pesados em frascos de polipropileno, perfazendo um total de 9 experimentos. A matriz oleosa das cápsulas de todos os fabricantes apresentou coloração amarelada e viscosidade semelhante ao padrão certificado de mercúrio. As amostras então foram digeridas pela solução extratora otimizada em banho de ultrassom por 15 minutos e posteriormente analisadas por SWASV proposto, utilizando o método de adição padrão para quantificação.

As análises revelaram que as concentrações de mercúrio nas três amostras estavam abaixo do limite de detecção ($0,25 \mu\text{g L}^{-1}$) do método. Como citado anteriormente, as legislações europeias como a da Comunidade Europeia (CE) e a Farmacopeia Europeia estabelecem um limite máximo para mercúrio em suplementos alimentares à base de óleos de peixe em de 100 ng g^{-1} . Já no Brasil a ANVISA estipula um limite de 500 ng g^{-1} em peixe, uma vez que a legislação não contém especificação para suplementos a base de óleo de peixe. Neste contexto, cada amostra de óleo de peixe foi fortificada com uma concentração do padrão oleoso de mercúrio. Desta forma, foi possível avaliar a precisão do método por testes de adição e recuperação. A amostra 1 foi fortificada com $2,4 \mu\text{g g}^{-1}$, a amostra 2 com $5,0 \mu\text{g g}^{-1}$ e a amostra 3 com $9,8 \mu\text{g g}^{-1}$. Após as fortificações as amostras foram digeridas em triplicata no banho por ultrassom empregando-se os parâmetros otimizados. O teor de mercúrio foi determinado por SWASV otimizado no SPGE-AT usando o método de adição padrão. As concentrações na célula eletroquímica foram teoricamente 5, 10 e $20 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente após as diluições dos digeridos em 10 vezes, considerando os valores das fortificações. A Tabela 12 apresenta os valores de recuperação das análises de três amostras de óleo de peixe em cápsulas não fortificadas e fortificadas com um padrão oleoso certificado contendo mercúrio.

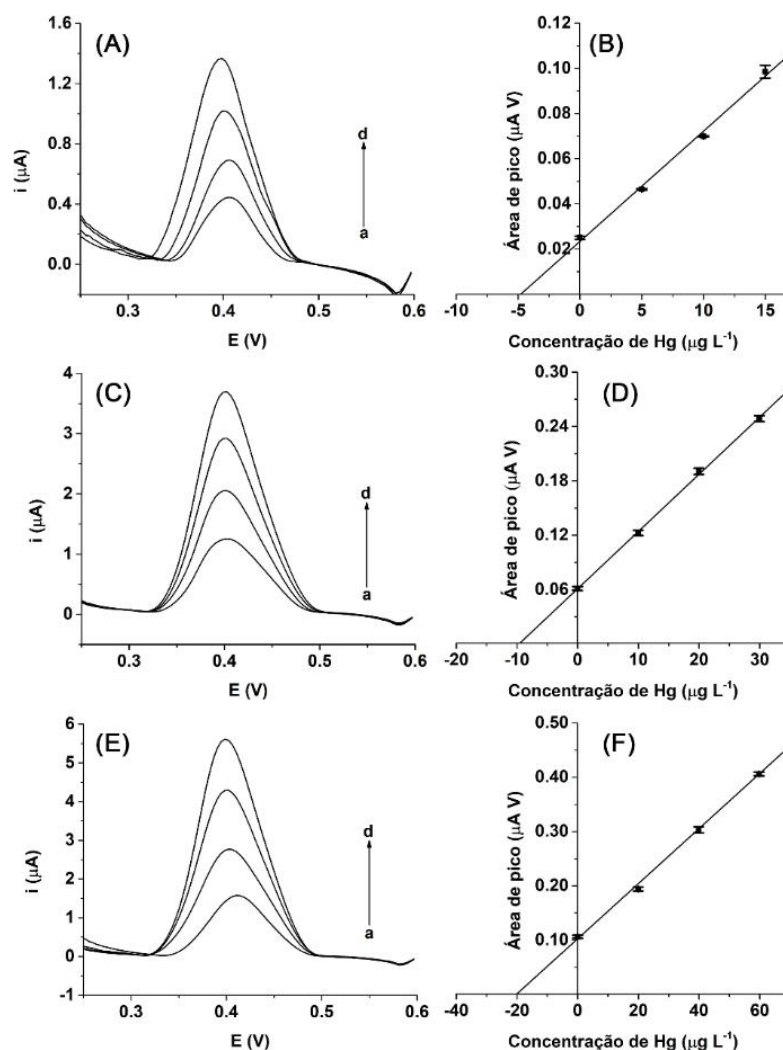
Tabela 12: Valores de recuperação para o mercúrio para três amostras comerciais de óleo de peixe em cápsulas fortificadas com padrão oleoso certificado.

Amostras	Concentração de Hg (n = 3)			
	Encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fortificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Recuperado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	< LD	2,4	$2,24 \pm 0,09$	$93,9 \pm 3,5$
2	< LD	5,0	$4,80 \pm 0,18$	$95,6 \pm 3,7$
3	< LD	9,8	$10,14 \pm 0,40$	$102,6 \pm 4,5$

As análises realizadas pelo sistema convencional acoplado ao SPGE-AT das amostras digeridas de óleo de peixe em cápsulas apresentaram boa concordância com as concentrações fortificadas e valores de aceitáveis de recuperação foram obtidos na faixa de 94 a 102%. Apesar de complexas, as amostras foram digeridas de forma eficiente como comprovado pelos testes de recuperação, além disso, um único eletrodo foi utilizado para as análises de todas as amostras fortificadas. Entretanto, foi observado que a vida útil do eletrodo no meio oxidante é menor em relação ao meio contendo apenas eletrólito. Enquanto que um único eletrodo foi capaz de realizar 300 leituras em meio de eletrólito contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, com o eletrodo em contato com o meio oxidante (HCl e H_2O_2) foi possível realizar apenas 100 medidas. Uma das justificativas seria alguma reação indesejável entre as tintas que compõe o eletrodo e o meio oxidante. Outro ponto importante foi a eficácia da etapa de limpeza do eletrodo que não permitiu a contaminação e a propagação de algum erro de concentração do mercúrio após leituras sucessivas.

A Figura 34 apresenta as respostas voltamétricas típicas de uma análise por adição de padrão de mercúrio em amostras digeridas de óleo de peixe em cápsulas e as respectivas curvas de adição de padrão.

Figura 34: À esquerda: Em (A, C e E) são apresentados os voltamogramas de SWASV para as respostas de Hg em amostras de óleo de peixe fortificados com o padrão de referência de óleo resultando nas seguintes concentrações finais na célula: (A) $5 \mu\text{g L}^{-1}$, (B) $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e (C) $20 \mu\text{g L}^{-1}$ após as digestões em condições otimizadas. As amostras foram analisadas pelo método de adição padrão para três adições consecutivas (b – d) de soluções padrão de Hg (II). Direita: Em (B, D e F) são representadas as respectivas curvas. Parâmetros otimizados na Tabela 8.



Fonte: Próprio autor.

Todas as curvas de adição de padrão apresentam coeficientes de correlação linear (R) maiores que 0,998. Considerando que as diluições dos digeridos na célula eletroquímica foram de 10 vezes, os limites de detecção e quantificação foram $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $8,3 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, sendo calculados utilizando 90 segundos de tempo de deposição. A aplicação de tempos de deposição maiores abaixaria os limites de detecção

do método, contudo, diminuem sua frequência analítica. O limite de detecção do método proposto é comparável aos trabalhos publicados na determinação de mercúrio em amostras ambientais utilizando o SPGE-AT ($LD = 1,1 \mu g L^{-1}$) (BERNALTE; MARÍN SÁNCHEZ; GIL, 2011), em amostras de óleo de peixe por GFAAS ($LD = 6,0 \mu g L^{-1}$) (FORAN; FLOOD; LEWANDROWSKI, 2003) e por ICP-MS ($LD = 0,5 \mu g L^{-1}$) (MEI et al., 2018). Além disso, as características analíticas (LD, LQ, faixa linear e sensibilidade) do método desenvolvido são comparáveis com trabalhos que utilizaram diferentes preparos de amostras e métodos de detecção para análise de mercúrio (FERREIRA et al., 2015; GAO; HUANG, 2013; MUNOZ et al., 2007; ZAIB et al., 2015).

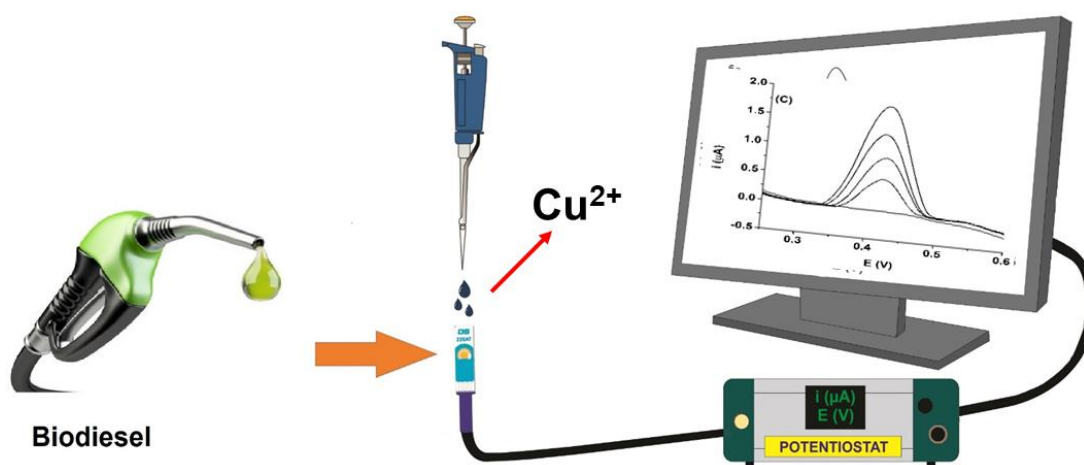
Não foi observado nenhum sinal proveniente de outro metal na janela de potencial estudada, como por exemplo o cobre, o que poderia comprometer a determinação de mercúrio nessas amostras.

A digestão em banho por ultrassom proporcionou uma rápida decomposição das amostras oleosas à temperatura ambiente com valores de recuperação adequados para extrações de mercúrio em relação aos procedimentos que utilizam o bloco digestor e a calcinação. Não foi verificada a mudança da coloração das amostras após a adição da solução oxidante, permanecendo com aspecto límpido. Apesar da formação de uma fina película orgânica sobre os digeridos, não foi necessária a centrifugação das amostras para se retirar a fase aquosa. Além disso, o método SWASV otimizado foi sensível, preciso e não apresentou interferências de outros metais que podem ser encontrados em cápsulas contendo óleo de peixe. A vida útil do eletrodo foi relativamente alta, 100 medidas, até a troca e continuidade das análises,

Trabalhos futuros serão desenvolvidos a partir das mesmas amostras, porém utilizando-se eletrodos impressos de ouro resistentes a solventes orgânicos. Dessa forma, o preparo das amostras dos suplementos alimentares a base de óleo de peixe poderá ser simplificada à simples diluição em eletrólito suporte adequado, sem a necessidade de digestões previamente elaboradas. O uso do SPGE-BT resistente a meios orgânicos pode ser uma ótima alternativa para determinações simultâneas de Pb, Cu e Hg em amostras oleosas uma vez que a janela de potencial deste eletrodo é mais ampla. O custo da análise poderá ser mais viável, a geração de resíduos e manipulação de reagentes nocivos será minimizada, além de melhorar questões como a portabilidade.

4.3 Determinação direta de cobre livre em biodiesel por SWASV utilizando eletrodo impresso de ouro com alta temperatura de cura (SPGE-AT) resistente a solvente orgânico

Figura 35: Ilustração do sistema utilizado para a determinação direta de cobre livre em biodiesel por SWASV utilizando eletrodo impresso de ouro com alta temperatura de cura (SPGE-AT) resistente a solvente orgânico



A crescente demanda por combustíveis fósseis em todos os setores principalmente transporte e geração de energia causa preocupações ambientais principalmente relacionadas às emissões de compostos de carbono e enxofre. Assim, uma alternativa é o uso de biocombustíveis derivados de fontes renováveis, como o biodiesel (TALEBIAN-KIAKALAIEH; AMIN; MAZAHARI, 2013).

O biodiesel é um combustível renovável composto por uma mistura de ésteres mono-alquílicos de ácidos graxos de cadeia longa derivado de triglicérides (óleos vegetais ou gordura animal), que substitui parcial ou totalmente o diesel de petróleo em motores por ignição por compressão. A reação de transesterificação é a via mais comum para a formação de biodiesel a partir de óleos ou gorduras, em que os triglicerídeos são reagidos com um álcool de cadeia pequena (metanol ou etanol) na presença de um catalisador (geralmente KOH) resultando em uma mistura de ésteres (biodiesel) e glicerol como subproduto. No entanto, alguns contaminantes podem ser encontrados no biodiesel, mesmo após as etapas de purificação, como glicerol (principal coproduto), álcool residual, resquícios de catalisadores, triglicerídeos que não reagiram e metais traço. A presença dessas moléculas ou espécies no biodiesel pode afetar a qualidade e gerar

problemas ambientais, como emissões atmosféricas prejudiciais e desgaste excessivo do motor. Desta forma, o controle de qualidade do biodiesel é obrigatório para a comercialização deste biocombustível, sendo controlada por algumas legislações, como EN-14214 (europeia), ASTM D-6751 (EUA) e a resolução ANP brasileira nº 45/2014 (ATADASHI; AROUA; AZIZ, 2010; CHEN et al., 2018; KNOTHE; RAZON, 2017; RASHED et al., 2016; SAJJADI; RAMAN; ARANDIYAN, 2016).

Dentre os contaminantes citados, o monitoramento de metais, como Cu, Co, Fe, Pb, Ni, Mn, e Hg, também é importante pois essas espécies podem ser introduzidas no biodiesel ou outros combustíveis, a partir do cultivo de matérias primas em solos contaminados, durante o processo de produção ou durante o transporte e armazenamento. A presença destes metais acelera os processos de degradação dos combustíveis causando alterações indesejáveis nas propriedades físico-químicas do biodiesel, tais como mudanças na viscosidade cinemática, densidade e do índice de acidez, tornando-o inadequado para a comercialização. Além disso, a queima destes combustíveis contaminados liberam os metais na atmosfera na forma de material particulado e, quando inalado pela população, apresentam grande potencial para causar doenças respiratórias (SARIN et al., 2009; SQUISSATO et al., 2017).

Os metais como cobre, ferro, cobalto, manganês e níquel já foram investigados como agentes que aceleram processos de degradação do biodiesel (JAIN; SHARMA, 2014; KNOTHE; STEIDLEY, 2018; SARIN et al., 2010a, 2010b) e foi observado que o cobre, mesmo em concentrações abaixo de 1 ppm, teve um efeito pronunciado na redução da estabilidade oxidativa (SARIN et al., 2009).

A espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), potenciometria de redissolução anódica (SCP) e voltametria de redissolução anódica (ASV) são exemplos de técnicas que foram usadas para a determinação de cobre em amostras de biodiesel (ALMEIDA et al., 2010; GHISI et al., 2011; LEPRI et al., 2011; PILLAY et al., 2012; PINTO; LEMOS, 2013; QUADROS et al., 2011). Contudo, os métodos espectrométricos e eletroquímicos publicados até agora informam os valores do teor total de cobre, embora a eletroanálise tenha sido proposta para a determinação de espécies de metais livres em biodiesel utilizando eletrodo convencional de disco de ouro (ALMEIDA et al., 2010). Ainda assim, nenhum trabalho anterior apresentou um método analítico para determinar apenas as espécies livres em biodiesel. Além disso, ainda não está claro na

literatura se os metais livres (por exemplo, Cu^{2+}) ou orgânicos (organometálico) são responsáveis pela redução da estabilidade à oxidação de biodiesel.

Os eletrodos impressos têm sido utilizados para a determinação direta de metais em bioetanol combustível e antioxidantes fenólicos em biodiesel pela simples diluição das amostras em um eletrólito adequado (CARAMIT et al., 2013; TORMIN et al., 2016). Nesse mesmo sentido, íons cobre foram determinados em biodiesel de forma direta pela diluição apropriada da amostra em etanol (ALMEIDA et al., 2010). Contudo, o sistema convencional utilizado nas determinações de cobre em biodiesel contou com um eletrodo de ouro comercial em bastão, um eletrodo de referência de Ag/AgCl e um eletrodo de platina como contra eletrodo. De forma alternativa, o emprego de eletrodos impressos de ouro com baixa temperatura de cura (SPGE-AT) e resistentes a solventes orgânicos foram avaliados na determinação de cobre livre em biodiesel de forma direta desempenhando um papel fundamental no desenvolvimento de métodos eletroquímicos para análises portáteis.

A escolha do eletrólito foi um ponto primordial para o desenvolvimento do trabalho tendo em vista uma boa solubilidade do biodiesel no meio sem a separação de fases após sucessivas medidas. O etanol e o isopropanol foram inicialmente escolhidos para os testes de miscibilidade. Apesar dos dois solventes conseguirem solubilizar uma determinada alíquota de biodiesel, o etanol foi selecionado para os testes seguintes devido a sua maior abundância no laboratório que foi desenvolvido o trabalho, fácil manipulação e menor custo (ALMEIDA et al., 2010; MUNOZ; ANGLES, 2004).

O primeiro teste consistiu em avaliar o conteúdo de cobre no etanol de forma direta com o SPGE-AT de acordo com uma metodologia já publicada na literatura (ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014). Este experimento inicial teve como objetivo identificar alguma contaminação do etanol grau analítico por cobre e que possivelmente pudesse interferir nas medidas na presença de biodiesel. Após os testes, não foi identificado nenhum sinal na linha base do etanol referente ao cobre mesmo com tempos de deposição maiores (180 segundos). Logo, o etanol foi considerado como apto a ser aplicado como eletrólito nas determinações de cobre livre em biodiesel.

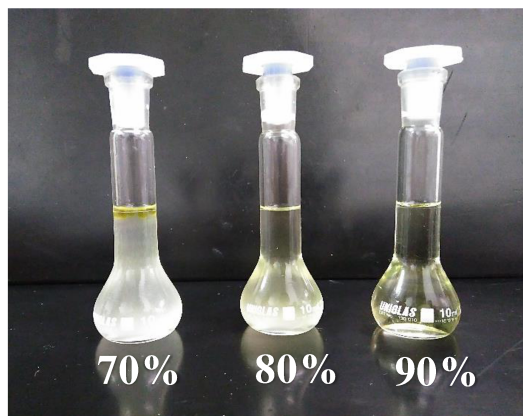
Como o objetivo deste trabalho foi demonstrar a aplicação de SPGE-AT resistente a solventes orgânicos na determinação direta de cobre livre em biodiesel e sua correlação com a estabilidade oxidativa, foram realizados alguns testes de solubilidade do biodiesel em diferentes proporções de etanol e água em uma faixa de volume adaptada da literatura (ALMEIDA et al., 2010). Neste trabalho, os autores constataram que a melhor

composição do eletrólito foi 0,5% m/m de biodiesel, 70,2% m/m etanol e 29,3% m/m de água, o que corresponde a 100 μ L (0,088 g) de biodiesel, 15 mL (12 g) de etanol, e 5 mL (5 g) de água. Essa composição de solventes e amostra foi utilizada para a determinação direta de cobre em amostras de biodiesel utilizando um eletrodo de bastão de ouro com detecção por redissolução potenciométrica.

Os testes de miscibilidade realizados nas proporções de 70, 80 e 90% (v/v) de etanol e mantendo constante os 200 μ L (0,166 mg) de biodiesel, mostraram que a proporção contendo 90% (v/v) de etanol e 10% (v/v) de água apresentou uma melhor solubilização do biodiesel (microemulsão visualmente límpida e clara) permanecendo por mais de 10 h estável, ou seja, em uma única fase. O uso de uma porcentagem superior a 90% (v/v) de etanol no eletrólito não foi avaliado uma vez que o aumento do teor de solvente orgânico pode fornecer correntes mais baixas e, consequentemente menor detectabilidade do analito, o que pode ser atribuído a maior resistência elétrica do meio, como foi observado em trabalhos publicados na literatura (MUNOZ; ANGNES, 2004). Por outro lado, as proporções contendo 70 e 80% (v/v) de etanol não foram suficientes para solubilizar completamente o biodiesel, resultando na formação de uma solução turva e separação de fases (gotículas superficiais de biodiesel), principalmente para a composição contendo 70% (v/v), o que poderia fornecer resultados não reprodutíveis para o método. Na composição contendo 80% (v/v) de etanol, a solução final apresentou aspecto turvo (não límpida) e, após certo período, pôde-se observar a formação de gotículas oleosas no seio e na superfície da solução comprovando a não homogeneidade. Desta forma, a proporção contendo 90% (v/v) de etanol e 10% (v/v) de água foi a selecionada para os próximos experimentos devido à excelente miscibilidade do biodiesel e a baixa diluição do biodiesel (50 vezes) nessa composição. A Figura 36 mostra o aspecto visual das três soluções hidroetanólicas contendo 70, 80 e 90% (v/v) de etanol e água após as adições de 200 μ L de biodiesel em cada composição.

É importante destacar que a diluição direta da amostra no eletrólito simplifica o preparo e diminui o tempo de análise além de colaborar para a portabilidade do método já que não são necessários os processos demorados de digestão convencionais, como o bloco digestor ou a calcinação.

Figura 36: Efeito de diferentes proporções de etanol/água (v/v) na completa miscibilidade do biodiesel.



Fonte: Próprio autor

Os eletrodos impressos resistentes foram condicionados (ativados) da mesma forma que os eletrodos não resistentes a solventes utilizados no trabalho anterior. A ativação do SPGE-AT foi realizada em meio de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por voltametria cíclica (30 ciclos), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} na janela de potencial que variou de $+0,2 \text{ V}$ até $+0,6 \text{ V}$. Os voltamogramas iniciais apresentaram respostas ruidosas e perfil semelhante aos eletrodos não resistentes. Ao longo de novos ciclos, os sinais de correntes foram se tornando menos ruidosos e nenhum sinal que possa ser proveniente da composição das tintas do eletrodo ou contaminação externa foi observado.

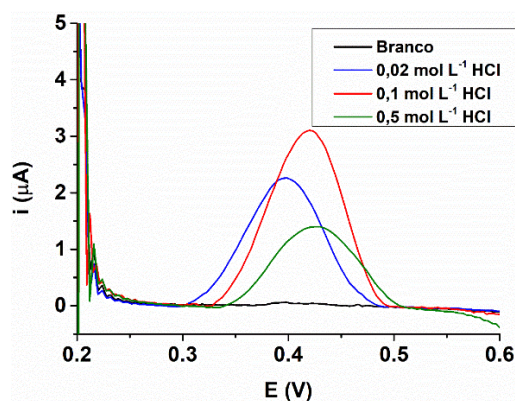
Em seguida, com o eletrodo ativado, diferentes soluções ácidas (HCl, HNO_3 e HClO_4) foram investigadas como eletrólitos de suporte em uma concentração final de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ preparadas diretamente em etanol a 90% (v/v) e 10% de água (v/v). Os parâmetros da voltametria de redissolução anódica foram selecionados baseados em trabalhos já publicados para a determinação de metais em soluções hidroetanólicas (ALMEIDA et al., 2010; ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014), porém, mantendo-se a janela de potencial na faixa de $+0,2 \text{ V}$ até $+0,6 \text{ V}$ e o potencial de deposição de $-0,1 \text{ V}$ para se evitar sinais indesejados e minimizar a evolução de hidrogênio característica dos eletrodos SPGE-AT. Foi adotado um potencial de condicionamento (limpeza) em $+0,6 \text{ V}$ por 30 s para evitar a contaminação do eletrodo a partir da medida anterior e com isso, realizar medidas reprodutíveis. O eletrólito contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl em sua composição apresentou o maior sinal analítico na detecção de $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu(II), sendo 3 vezes maior do que a resposta para o eletrólito composto por $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 , enquanto que

nenhum sinal de corrente foi observado no eletrólito contendo HClO_4 . De forma semelhante ao mercúrio, a presença de íons cloreto no eletrólito facilita a reoxidação do cobre da superfície do eletrodo para a solução através da formação de complexos (OMANOVIĆ et al., 2010; UGO et al., 2001).

O sinal para o cobre foi deslocado para regiões mais positivas, aproximadamente 0,02 V em comparação com as determinações deste metal em eletrólitos aquosos cujo sinal é obtido em 0,4 V. Já foi relatado na literatura que o aumento da proporção de etanol no eletrólito (75% v/v) proporciona um deslocamento do sinal do cobre para potenciais mais positivos, cerca de 0,02 V (MUNOZ; ANGNES, 2004). Apesar do etanol utilizado no eletrólito ter sido testado previamente e nenhum sinal de impureza ter sido obtido na janela de potencial, o deslocamento de picos é de difícil interpretação. Muitos fatores podem influenciar como a cinética da superfície do eletrodo, pH do meio, complexação, entre outros. No entanto, o potencial do SPGE-AT é comandado pelo eletrodo de pseudo-referência e é dependente da composição da solução do meio. Portanto, o deslocamento do pico do cobre obtido nas soluções hidroetanólicas pode ter ocorrido devido a variação do potencial do pseudo-referência em contanto direto com a solução contendo etanol (TAKEUCHI et al., 2009; WAN et al., 2015).

Em seguida, a detecção de cobre foi avaliada em diferentes concentrações de HCl (0,5, 0,02 e 0,1 mol L⁻¹) preparadas diretamente em 90% (v/v) de etanol e 10% (v/v) de água como mostrado na Figura 37.

Figura 37: Relação entre a concentração de HCl e a resposta de Cu(II) determinada por SWASV em SPGE-AT resistentes a solventes orgânicos. Condições de SWASV: potencial de deposição = -0,1 V, tempo de deposição = 90 s, frequência = 10 Hz, degrau de potencial = 4 mV, amplitude de potencial = 30 mV.



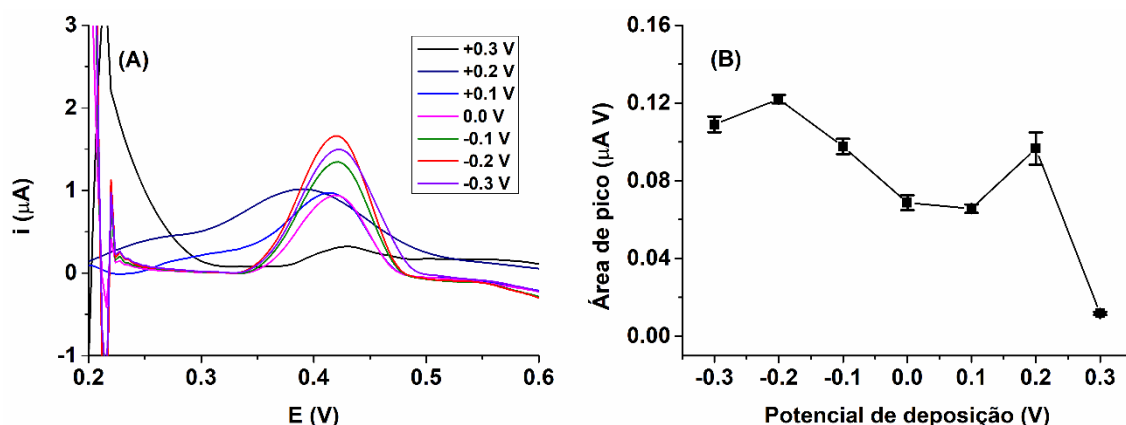
Fonte: Próprio autor

O pico de redissolução do cobre apresentou forma alargada e menos intensa no eletrólito contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl em comparação com as demais concentrações. Além disso, elevadas concentrações de cloreto são responsáveis por facilitar a oxidação do ouro do eletrodo em potenciais positivos. Por outro lado, eletrólitos com elevada acidez podem causar distorções nos voltamogramas devido à geração de hidrogênio através da redução de H^+ na superfície do eletrodo de ouro (BERNALTE et al., 2013). Já na composição de $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ verificou-se uma menor detectabilidade entre todas as concentrações e houve um deslocamento do pico para regiões menos positivas (+0,4 V). O mesmo efeito foi observado em trabalho no qual concentrações menores de cloreto favoreceram o decréscimo do sinal de cobre e deslocou o pico para regiões menos positivas (BONFIL; BRAND, 2000). Portanto, verificou-se que a composição do eletrólito contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl em meio de 90% (v/v) de etanol e 10% (v/v) de água apresentou a maior resposta para a detecção de $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre e o pico foi obtido em +0,42 V sem distorções e com boa definição.

A otimização do eletrólito permite uma combinação adequada de variáveis que aumentem as capacidades das técnicas eletroquímicas. É importante o monitoramento dos metais em diferentes meios em busca da condição ideal em termos de sensibilidade e seletividade do método, principalmente quando se trabalha com análises multielementares em uma mesma varredura. Fatores como, o ácido/tampão utilizado e sua concentração são dependentes do tipo de eletrodo e dos metais que se deseja determinar. Desta forma é aconselhável o estudo da composição do eletrólito como sendo o marco inicial para o desenvolvimento de uma nova metodologia eletroquímica.

Após as otimizações do eletrólito, os parâmetros de deposição e de SWV foram avaliados. Inicialmente o potencial de deposição foi estudado em uma faixa compreendida entre -0,3V até +0,3 V conforme a Figura 38. Valores mais negativos de potenciais não foram analisados devido a geração de hidrogênio e, conseqüentemente perda na reprodutibilidade das medidas.

Figura 38: Avaliação do potencial de deposição (-0,3 a +0,3V) nas medidas em triplicata de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Cu(II) e (B) sinais de área para cada potencial avaliado. Condições de SWASV: tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, degrau de potencial = 4 mV, amplitude de potencial = 38 mV.

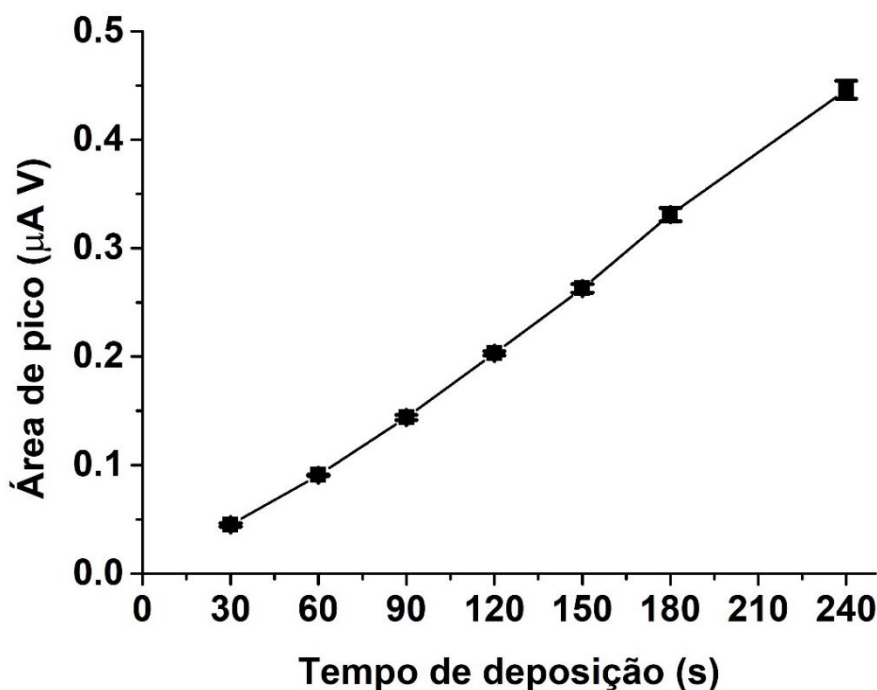


Fonte: Próprio autor

Foi observada uma tendência decrescente no sinal de corrente para o cobre conforme os potenciais de deposição selecionados foram tornando menos negativos. Apesar de se obter uma boa resposta de corrente em -0,3V, este potencial foi descartado devido à visual geração de hidrogênio do eletrodo de ouro conforme já discutido anteriormente. Dessa forma, o potencial de deposição de -0,2V foi selecionado para os experimentos seguintes devido ao maior sinal de corrente obtido para o cobre, baixos desvios entre as medidas e ausência de ruídos nos voltamogramas.

Em seguida, o tempo de deposição foi avaliado no intervalo de 30 a 240 segundos conforme mostrado na Figura 39. Um comportamento linear do sinal de corrente foi observado em toda a faixa estudada. O tempo de 90 segundos foi selecionado para os próximos experimentos devido a boa correlação entre o tempo de deposição e a detectabilidade de cobre sem comprometer a frequência analítica do método proposto. No entanto, em se tratando de determinações de cobre em níveis traços no biodiesel, tempos de deposição maiores podem ser utilizados caso não seja possível quantificar o metal aplicando-se apenas 90 segundos de pré-concentração.

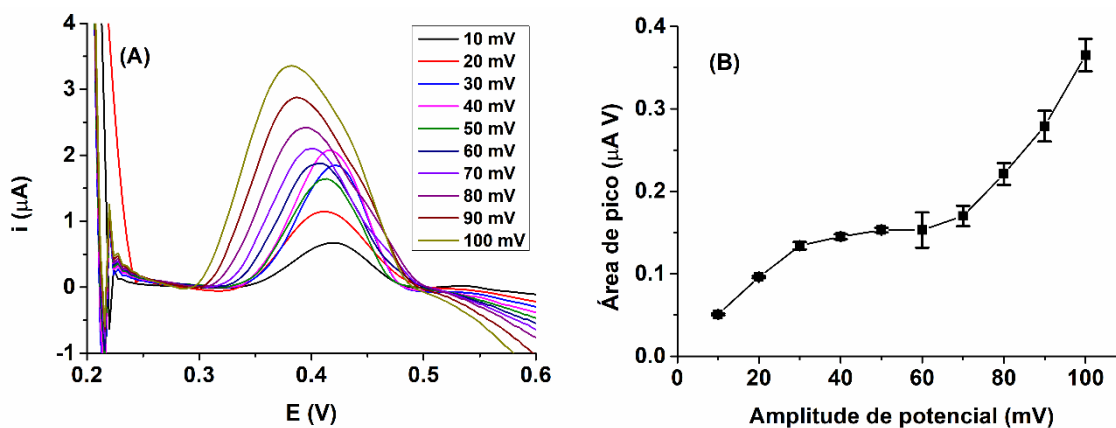
Figura 39: Avaliação do tempo de deposição (30 a 180 s) nas medidas em triplicata de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. Condições de SWASV: Potencial de deposição = $-0,2 \text{ V}$, frequência = 20 Hz , degrau de potencial = 4 mV , amplitude de potencial = 38 mV .



Fonte: Próprio autor

Os parâmetros de SWV, frequência, amplitude de potencial e degrau de potencial, foram avaliados com base em experimentos univariados para a detecção de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre no eletrólito otimizado composto por 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl no volume final. A faixa estudada de cada variável da SWV foi baseada nas condições selecionadas em trabalhos voltados para a determinação de metais em bioetanol combustível (ALMEIDA; RICHTER; MUNOZ, 2014) e em biodiesel (ALMEIDA et al., 2010). A Figura 40 mostra o estudo da amplitude variando-se de 20 até 100 mV e os respectivos sinais de correntes obtidos para ($n = 3$) utilizando o SPGE-AT.

Figura 40: Estudo para otimização da amplitude (10 a 100 mV) para leituras em triplicata de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Cu(II) e (B) sinais de área para cada valor de amplitude avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = $-0,2 \text{ V}$, tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, incremento de potencial = 4 mV.

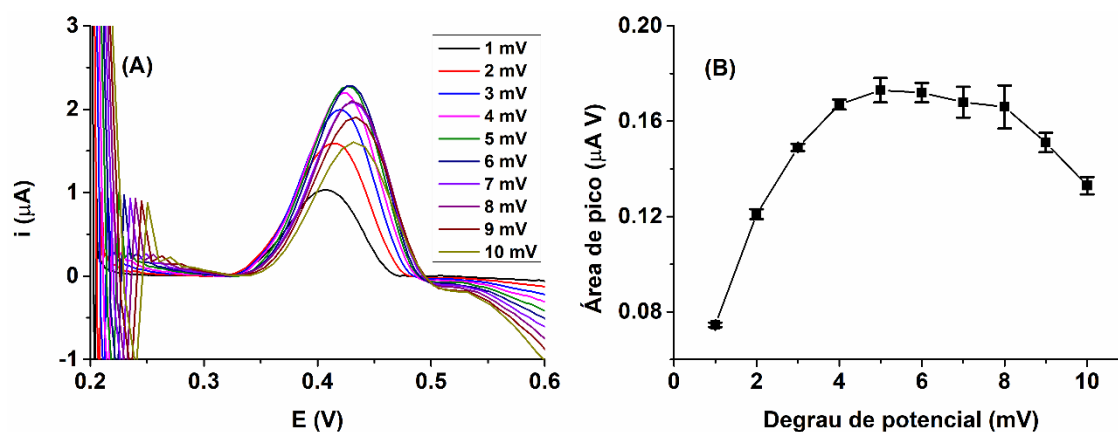


Fonte: Próprio autor

De acordo com a Figura 40, pode ser observado um aumento de sinal de corrente para o cobre até 100 mV de amplitude. Nota-se um aumento nas respostas analíticas acompanhadas de baixos desvios no intervalo de 10 até 50 mV e um crescimento significativo do sinal de 60 até 100 mV, contudo com elevados desvios. A partir do valor de 50 mV foi possível verificar distorções do pico da redissolução gerando gráficos visualmente ruidosos e alargados. Esse alargamento contribuiu para o aumento do sinal da área do pico e, conseqüentemente, o acréscimo indesejado do sinal analítico. Dessa forma, foi selecionada a amplitude de potencial de 30 mV por apresentar boa resposta analítica, baixos desvios entre as medidas, picos não ruidosos e definidos.

A Figura 41 mostra a faixa de estudo para o degrau de potencial variando-se de 1 até 10 mV e as respectivas respostas de correntes obtidas para ($n = 3$) utilizando o SPGE-AT.

Figura 41: Estudo para otimização do degrau de potencial (1 a 10 mV) para leituras em triplicata de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Cu(II) e (B) sinais de área para cada valor do degrau de potencial avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = $-0,2 \text{ V}$, tempo de deposição = 90 s, frequência = 20 Hz, amplitude de potencial = 30 mV.

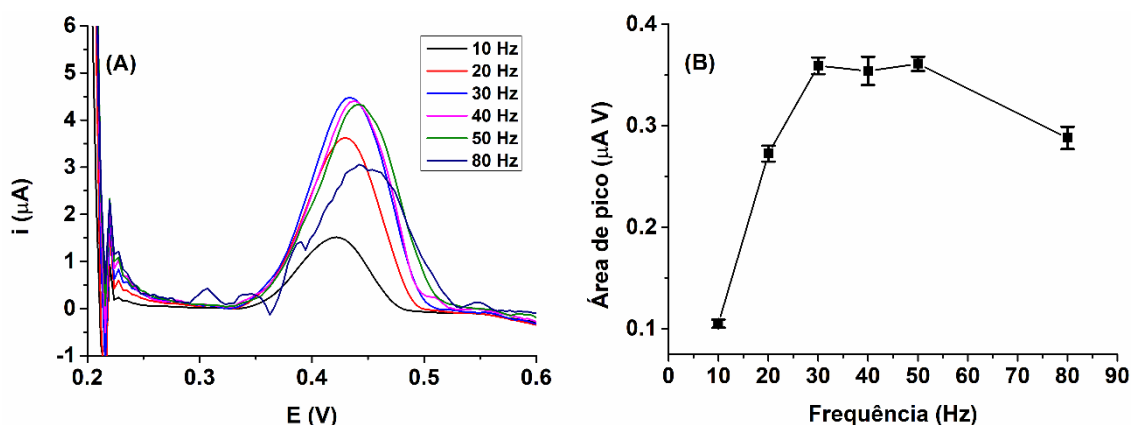


Fonte: Próprio autor

Um comportamento crescente das respostas analíticas e baixos desvios foram obtidas em degraus de potenciais compreendidos entre 1 e 5 mV. A partir de 5 mV houve um pequeno decréscimo do sinal de cobre e aumento dos desvios entre as medidas. Além disso, a perda da resolução gráfica é devido ao aumento da velocidade de varredura (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). Para o desenvolvimento do trabalho o degrau de potencial de 3 mV foi selecionado em preferência a 4 mV devido ao bom sinal de corrente acompanhado de baixos desvios e, principalmente pelos gráficos gerados não apresentarem ruídos.

A frequência de aplicação dos pulsos de potencial foi realizada na faixa compreendida entre 10 e 80 Hz e os resultados apresentados na Figura 42.

Figura 42: Estudo para otimização da frequência (8 a 100 Hz) para leituras em triplicata de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT. (A) Perfil dos voltamogramas de redissolução de Cu(II) e (B) sinais de área para cada valor de frequência de aplicação do pulso de potencial avaliado. Condições de SWASV: Potencial de deposição = $-0,2 \text{ V}$, tempo de deposição = 90 s, degrau de potencial = 4 mV , amplitude de potencial = 30 mV .



Fonte: Próprio autor

Um aumento na detectabilidade e baixos desvios relativos foram observados na faixa de frequência entre 10 e 30 Hz. A partir de 40 Hz (platô) não houve uma tendência entre as respostas de corrente, entretanto, foi observado um aumento dos desvios relativos entre as medidas correlacionado com a geração de gráficos ruidosos. Este efeito em frequências maiores é causado pelo acréscimo na velocidade de varredura durante as leituras em função da própria resistência da solução (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). Apesar de baixos desvios, o valor de 30 Hz não foi selecionado para o desenvolvimento do trabalho por apresentar respostas gráficas ruidosas. Assim, a frequência de 20 Hz foi a condição ótima obtida para os experimentos futuros devido ao ganho na resposta analítica do cobre, apresentar baixos desvios como mostrado pela barra de erros e sinais não ruidosos. Além disso, a taxa de varredura de 60 mV s^{-1} contribuiu para análises relativamente rápidas em meios não aquosos.

Outras características do método foram avaliadas como o potencial e o tempo de condicionamento do eletrodo, a velocidade de agitação durante a etapa de deposição de cobre e o tempo de equilíbrio da solução antes das medidas. Todos esses parâmetros auxiliam nos ganhos de corrente, proporcionam medidas mais reprodutíveis e aumentam a vida útil do eletrodo como já discutido anteriormente. Para a etapa de condicionamento

(limpeza) foi selecionado um potencial de +0,6 V por 30 segundos para restaurar a linha de base e evitar a contaminação do eletrodo por cobre.

A velocidade de agitação durante a etapa de pré-concentração foi avaliada na faixa de 500-2500 rpm e o valor de 1000 rpm foi selecionado para medidas sequenciais com base na resposta analítica mais elevada e reprodutível para o cobre em função de um transporte de massa mais efetivo até o eletrodo. O tempo de equilíbrio da solução, ou seja, o período de repouso do eletrólito após a agitação na etapa de pré-concentração foi otimizado em 15 segundos.

Todas as medidas das otimizações dos parâmetros de onda quadrada e de redissolução foram realizadas com um único eletrodo impresso de ouro resistente a solventes orgânicos (SPGE-AT). Não foi necessária a troca do eletrólito ou qualquer outro componente do sistema.

A Tabela 13 resume todas as variáveis otimizadas e os respectivos intervalos estudados para a determinação direta de cobre livre em biodiesel utilizando SPGE-AT resistente a solventes orgânicos e voltametria de redissolução anódica por onda quadrada.

Tabela 13: Otimização das condições de eletrólito e de SWASV para a determinação de Cu(II) utilizando o SPGE-AT.

Parâmetro	Intervalo de estudo	Valor otimizado
Proporção de etanol	70 – 90% (v/v)	90%
Concentração de HCl	0,02 – 0,5 mol L ⁻¹	0,1 mol L ⁻¹
Frequência	10 – 80 Hz	20 Hz
E _{degrau}	1 – 10 mV	3 mV
E _{amplitude}	10 – 100 mV	30 mV
E _{dep}	+0,3 V até -0,3 V	-0,2 V
T _{dep}	30 – 240 s	90 s
Velocidade de agitação	500 – 2500 rpm	1000 rpm
E _{condicionamento}	+0,4 V até +0,6 V	+0,6 V
T _{condicionamento}	15 – 90 s	30 s
T _{equilíbrio}	15 – 90 s	15 s

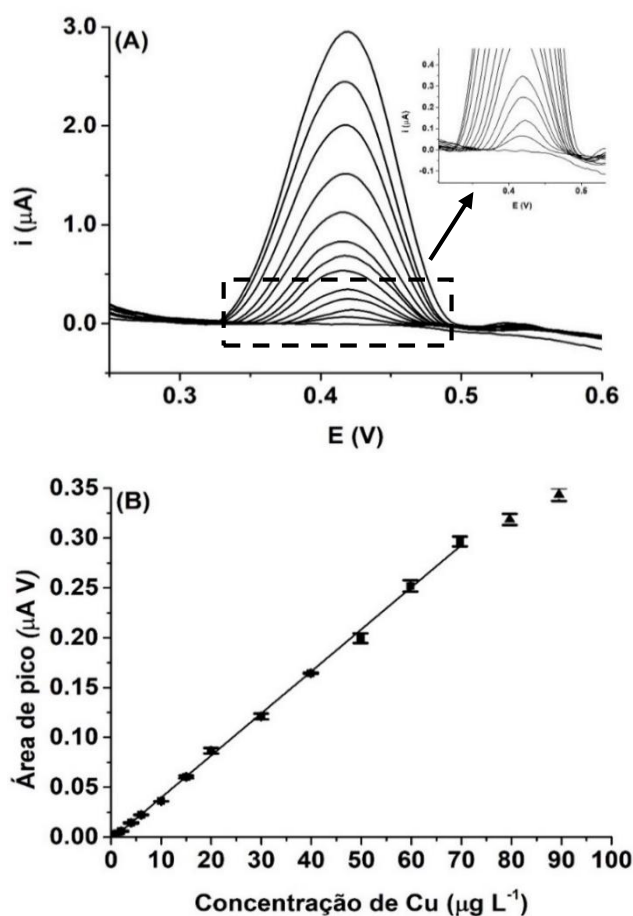
Fonte: Próprio autor

4.3.1 Figuras de mérito

O método proposto foi validado e um comportamento linear de cobre foi observado na faixa de concentração entre 1 e 70 $\mu\text{g L}^{-1}$ no eletrólito composto por 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L^{-1} de HCl no volume final como pode ser observado na Figura 43. O coeficiente angular (sensibilidade) e de correlação linear (r) foram 0,00340 $\mu\text{A V}/\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,998, para 90 segundos de deposição, respectivamente. A equação da curva de calibração é representada abaixo:

$$y(\mu\text{A V}) = -0,00284 + 0,00340[\text{Cu}^{2+}] (\mu\text{g L}^{-1}) \quad (R = 0,998)$$

Figura 43: (A) Voltamogramas de redissolução anódica para concentrações crescentes de cobre (1 – 70 $\mu\text{g L}^{-1}$) em 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L^{-1} de HCl no volume final utilizando o SPGE-AT resistentes a solventes orgânicos. Em (B) a respectiva curva de calibração para o cobre é apresentada. Condições de SWASV apresentas na Tabela 13.



Fonte: Próprio autor

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram de $0,060 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente ($\text{LD} = 3 \times \text{DPb}/S$ e $\text{LQ} = 10 \times \text{DPb}/S$, em que DPb é o desvio padrão da linha base do branco para $n = 10$ e S é a inclinação da curva analítica). Considerando a diluição de 50 vezes (v/v) de amostras de biodiesel no eletrólito otimizado, os valores de LD e LQ correspondem a 3 e $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (correspondendo a 3,4 e $11,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ levando-se em consideração a densidade do biodiesel), respectivamente.

Para o estudo de repetibilidade, foram avaliados três níveis de concentração de cobre, 2, 10 e $20 \mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 10$) e os DPR obtidos foram de 4,4, 3,1 e 2,9%, respectivamente. Estes resultados mostram a boa estabilidade do eletrodo nas soluções hidroetanólicas e a importância da etapa de limpeza antes de cada medida para evitar a contaminação do SPGE com o metal proveniente das medidas anteriores.

A Tabela 14 resume as características analíticas do método proposto para o sistema convencional sob condições otimizadas.

Tabela 14: Características analíticas do método proposto para a determinação de Cu(II) por SPGE-AT 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl como eletrólito.

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Sensibilidade ($\mu\text{A V}/\mu\text{g L}^{-1}$)	0,00340
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,060
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,20
FL ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1 – 70
r	0,998
Repetibilidade DPR (%; $n = 10$; $2 \mu\text{g L}^{-1}$)	4,4
Repetibilidade DPR (%; $n = 10$; $10 \mu\text{g L}^{-1}$)	3,1
Repetibilidade DPR (%; $n = 10$; $20 \mu\text{g L}^{-1}$)	2,9
Intra-dia DPR (%; $n = 5$; $10 \mu\text{g L}^{-1}$)	4,0
Inter-eletrodos DPR (%; $n = 3$)	4,8

Fonte: Próprio autor.

O limite de detecção do método desenvolvido para a determinação de cobre utilizando os eletrodos impressos de ouro é menor em comparação a alguns métodos propostos na literatura, como na determinação direta de cobre em biodiesel utilizando um eletrodo de disco de ouro ($\text{LD} = 280 \mu\text{g L}^{-1}$) (ALMEIDA et al., 2010) e na determinação

direta de cobre em biodiesel utilizando um eletrodo de carbono modificado com filme de mercúrio ($LD = 3,78 \mu\text{g L}^{-1}$) (MARTINIANO et al., 2013). Além disso, o LD deste trabalho está próximo dos valores obtidos para a determinação de cobre em biodiesel utilizando as técnicas espectroscópicas como ICP-MS e GFAAS (LEPRI et al., 2011; SÁNCHEZ et al., 2015).

4.3.2 Aplicação do método proposto na análise de amostras reais de biodiesel

De acordo com a Tabela 15 todas as propriedades físico-químicas para o biodiesel adquirido atingiram os limites mínimos ou máximos de acordo com as normas de controle de qualidade para este biocombustível (EN 14214), exceto estabilidade à oxidação.

Tabela 15: Caracterização físico-química do biodiesel utilizado no trabalho, incluindo os respectivos métodos realizados de acordo com EN14214.

Propriedade (Unidade)	Valor	Limite	Método
Teor de éster (% em massa)	$97,1 \pm 0,3$	Min. 96,5	EN14103
Viscosidade cinemática ($\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$, a 40 °C)	$4,19 \pm 0,2$	1,9 – 6,0	ASTM D445
Índice de acidez (mg de KOH g^{-1})	$0,26 \pm 0,03$	Max. 0,50	EN 14104
Estabilidade à oxidação (h, a 110 °C)	$6,90 \pm 0,40$	> 8,0	EN 14112
Conteúdo de água (ppm)	188 ± 7	Max. 200	EN ISO 12937
Glicerol livre (% em massa)	$0,005 \pm 0,002$	Max. 0,02	EN 14105/14106
Glicerol total (% em massa)	$0,22 \pm 0,01$	Max. 0,25	EN 14105
Densidade (Kg m^{-3})	882 ± 9	850 – 900	ASTM D4052
Na + K (mg kg^{-1})	< 1,0	Max. 5,0	EN 14108/14109
Ca + Mg (mg kg^{-1})	<1,0	Max. 5,0	EN 14538

Fonte: Próprio autor

Embora este biodiesel tenha sido produzido a partir de óleo de cozinha residual, ou seja, após a sua utilização no preparo de alimentos, sua estabilidade à oxidação atingiu 6,9 h de tempo de indução na ausência de antioxidantes sintéticos. Este valor se encontra próximo ao mínimo de 8 horas estabelecido pela norma internacional. A estabilidade à oxidação está diretamente relacionada com vários fatores como, grau de insaturação dos ácidos graxos, posição das insaturações na cadeia carbônica, aumento da temperatura do biocombustível, presença de umidade, presença de luz, exposição ao ar atmosférico,

presença de etanol, e a presença de metais de transição, principalmente ferro e cobre (HOEKMAN et al., 2012; KNOTHE; RAZON, 2017; VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018).

Após a obtenção dos parâmetros analíticos, o método proposto foi aplicado à determinação de cobre livre nas amostras de biodiesel. Todas as amostras de biodiesel, incluindo as submetidas aos testes de imersão, apresentaram excelente solubilidade no eletrólito otimizado, formando uma única fase, de cor amarelo claro e sem impurezas. A cor apresentada (amarelo e límpido) pelo biodiesel é semelhante aos demais biodieseis produzidos a partir de diferentes óleos vegetais comerciais, tais como, soja, milho, girassol, dentre outros. Não existe um limite estabelecido pelas normas para a coloração do biodiesel, contudo deve-se apresentar límpido para o consumo automotivo.

Inicialmente, o teor de cobre livre foi avaliado nas amostras de biodiesel puro (controle), isto é, uma alíquota não submetida aos testes de imersão. A análise revelou que a concentração de cobre livre está abaixo do LD para o respectivo método proposto, mesmo aplicando-se 180 segundos de deposição. Em um trabalho anterior que desenvolveu um método eletroanalítico para a determinação direta de Cu(II) em biodiesel usando eletrodos comerciais de disco de ouro não foi possível detectar cobre para um tempo de deposição de 300 s (ALMEIDA et al., 2010). É importante mencionar que mesmo o cobre não sendo detectado pelo método proposto não é possível afirmar que este biodiesel é totalmente livre deste metal pois pode estar na forma não livre no meio e, por isso as análises por GFAAS podem confirmar o conteúdo total de cobre em cada amostra após a digestões do biodiesel em banho de ultrassom.

Assim, como o cobre livre não foi detectado pelo método proposto nas amostras analisadas, a exatidão do método foi avaliada por testes de adição e recuperação em amostras controle fortificadas com uma solução padrão do metal. Os níveis de concentração de cobre adicionados nas amostras foram baseados em estudos anteriores da estabilidade oxidativa do biodiesel em que a presença deste metal a partir de 0,1 mg kg⁻¹ já se obteve um efeito negativo do período de indução (JAIN; SHARMA, 2014; SARIN et al., 2009). Todas as amostras foram submetidas as análises de estabilidade oxidativa para comparar o comportamento do período de indução nas amostras fortificadas com cobre e em uma amostra controle (não fortificada).

A Tabela 16 apresenta os valores de recuperação para as análises de cobre livre em duas amostras de biodiesel com dois níveis de concentração determinadas pelo método SWASV proposto e os respectivos valores de período de indução. Os resultados

são expressos como a média de 3 determinações independentes para cada uma das duas amostras, com seus desvios com nível de confiança de 95%.

Tabela 16: Valores de recuperação de Cu em duas amostras comerciais de biodiesel.

Concentração de Cu (n = 3)						
Amostras	Encontrado (mg kg ⁻¹)	Fortificado (mg kg ⁻¹)	Recuperação (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)	GFAAS (total) (mg kg ⁻¹)	Período de indução (h)
BMR controle*	< LD*	---	---	---	0,072 ± 0,001	6,90 ± 0,40
BMR fortificado 1	< LD	0,113	0,111 ± 0,005	99 ± 4	0,178 ± 0,006	1,82 ± 0,11
BMR fortificado 2	< LD	0,566	0,574 ± 0,022	101 ± 4	0,625 ± 0,008	0,45 ± 0,07

* Aplicação de 180 segundos de deposição.

Fonte: Próprio autor

Observa-se que pelo método proposto não foi possível a detecção e quantificação de cobre livre na amostra controle mesmo após a aplicação de 180 segundos de deposição ($LQ = 1,5 \mu\text{g kg}^{-1}$), contudo, os resultados de GFAAS mostraram a presença de $0,072 \text{ mg kg}^{-1}$ de cobre nessa mesma amostra após as digestões ácidas em banho de ultrassom. Foram obtidos valores de recuperação aceitáveis (99% e 101%) para as amostras fortificadas e analisadas pelo método proposto, considerando a diluição da amostra e a densidade do biodiesel. Estes resultados também indicam boa exatidão do método SWASV proposto para quantificar espécies de Cu(II) livre em biodiesel de forma direta, ou seja, por simples diluição da amostra no eletrólito.

As determinações por GFAAS revelaram a presença de uma quantidade considerável de Cu biodiesel puro (antes de fortificar). Considerando os baixos valores de LD obtidos pelo método SWASV proposto em 90 segundos ($3,4 \mu\text{g kg}^{-1}$) e 180 segundos ($1,5 \mu\text{g kg}^{-1}$) de deposição, pode-se dizer que esse teor de cobre encontrado no biodiesel puro não está presente na forma livre, Cu(II), ou lábil na amostra e sim sob a forma de organometálicos. Mesmo após a diluição da amostra em eletrólito

hidroetanólico contendo HCl 0,1 mol L⁻¹, as espécies de cobre permaneceram ligadas à matriz orgânica do biodiesel e não foram liberadas para a solução sob a forma de Cu(II) o que possibilitaria ser detectada e determinada pelo método SWASV. As formas com as quais o cobre pode ser encontrado em amostras como água de rios, solos e óleos são basicamente três: o cobre livre sob a forma de Cu(II) e cobre complexado com ligantes orgânicos ou inorgânicos. A soma das diferentes frações de cobre é denominada de cobre total. Geralmente a forma inorgânica (Cu(II)) é a fração de menor concentração, já a fração organometálica, por ser mais estável, é a porção mais encontrada em amostras orgânicas (FU et al., 2018; KUPPER et al., 2009; RYAN et al., 2013; YUAN et al., 2015).

Portanto, a combinação de resultados obtidos pelos métodos SWASV e GF AAS fornecem fortes evidências que a espécie de Cu(II) livre está em concentrações extremamente baixas no biodiesel analisado e que a fração de cobre cuja concentração é $0,072 \pm 0,001$ mg kg⁻¹ obtida nesta amostra representa a forma não lábil.

A presença de cobre em combustível de aviação, mesmo em concentrações baixas, em torno de 40 µg kg⁻¹, exerce o mesmo efeito de degradação no biodiesel por acelerar as reações de oxidação do combustível. Uma das formas de minimizar os efeitos do cobre é adicionar ao combustível um desativador de metal que reduz a atividade catalítica. Em um trabalho publicado na literatura os autores descreveram uma metodologia para distinguir e quantificar duas classes diferentes de compostos de cobre em combustível de aviação. Através de extrações em fase líquida os autores conseguiram separar uma das frações de cobre após a adição do desativador de metal para formar o complexo. O sistema de detecção consistiu de um HPLC-UV responsável pela determinação do cobre complexado. Um espectrômetro de absorção em chama foi acoplado na saída do HPLC para a detecção do teor total de cobre, ou seja, o cobre que não complexou e que estava na forma de carboxilato, mais o ligado ao desativador. Com essa metodologia, os autores concluíram que foi possível distinguir as duas classes diferentes de compostos de cobre na mesma amostra de combustível de aviação, o que ajudará para fornecer uma compreensão da atividade catalítica de diferentes compostos de cobre, levando a uma melhor compreensão dos fatores que causam a instabilidade do combustível (TAYLOR; SYNOVEC, 1993).

As mesmas amostras fortificadas foram digeridas e analisadas por GFAAS apresentando resultados com boa concordância com os valores obtidos pelo SWASV, porém considerando a quantidade não lábil, não detectada pelo SWASV. Os valores de

recuperação obtidos foram $102 \pm 5\%$ e $99 \pm 4\%$ para as fortificações com $0,113 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,566 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente.

Como citado anteriormente, um teor de Cu(II) a partir de $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ já promove uma degradação intensa do biodiesel e consequentemente decréscimo no período de indução (JAIN; SHARMA, 2014; SARIN et al., 2009). Como pode ser observado na Tabela 16, o valor de cobre total da amostra controle ($0,072 \text{ mg kg}^{-1}$) obtido pelo GFAAS é relativamente próximo de $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$, entretanto, não foi suficiente para provocar uma queda substancial na estabilidade oxidativa do biodiesel quando comparado com os resultados para as amostras fortificadas. Este resultado preliminar indica que as espécies de cobre presentes no biodiesel-controle estão ligadas em sua maior parte na matriz orgânica, ou seja, estão sob a forma cobre não-lábil.

O resultado do período de indução em 6,9 h para esta amostra está abaixo da norma de referência que estipula um mínimo 8 h para este parâmetro. Esse fato é justificado pela matriz oleosa utilizada no processo de produção deste biodiesel. O óleo residual de cozinha empregado na produção do biodiesel utilizado no trabalho é parcialmente degradado pela ação da elevada temperatura, pelo oxigênio do ar e da umidade durante os processos de cozimento ou fritura dos alimentos. E a partir dessa fonte degradada contendo os produtos de oxidação como peróxidos, que o biodiesel é produzido, logo, terá uma menor estabilidade oxidativa (CANESIN et al., 2014). Com o intuito de corrigir estes valores, as indústrias produtoras de biodiesel adicionam antioxidantes sintéticos fenólicos tais como TBHQ, BHT, BHA entre outros, para que o biocombustível possa se adequar às normas e ser comercializado (ALMEIDA et al., 2011; SALUJA; KUMAR; SHAM, 2016; SARIN et al., 2010b; YAAKOB et al., 2014). Contudo, para se evitar possíveis interferências no sinal do metal, o biodiesel utilizado no desenvolvimento do trabalho não continha nenhum antioxidante adicionado.

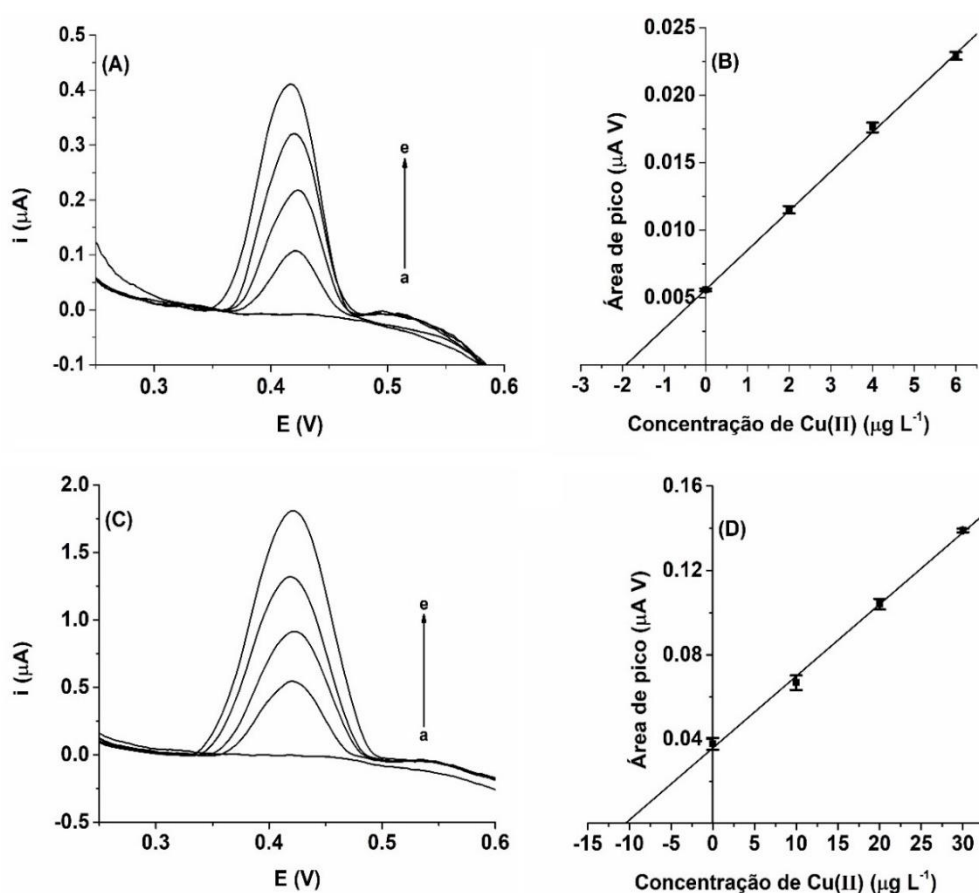
Para as demais amostras fortificadas com $0,113$ e $0,566 \text{ mg kg}^{-1}$ de cobre houve um decréscimo acentuado no período de indução durante os testes de estabilidade oxidativa, principalmente para a amostra fortificada 2. Os resultados mostram uma queda no período de indução de 6,90 horas na amostra controle para 1,82 e 0,45 horas nas amostras fortificadas com $0,113$ e $0,566 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente. Ou seja, quanto maior teor de cobre livre presente no biodiesel, mais rápida será a degradação e menor serão os valores da estabilidade oxidativa do biocombustível.

A presença de cobre (livre) acelera os processos de degradação do biodiesel, em comparação com a amostra controle. Vários produtos são formados tais como ácidos

orgânicos de cadeia curta, cetonas, aldeídos, peróxidos, sedimentos insolúveis e polímeros. Desta forma, os parâmetros físico-químicos do biodiesel são alterados, como a viscosidade, a densidade, o índice de acidez entre outros. Além disso, a degradação deste biocombustível contribui para o aumento das emissões atmosféricas nocivas de CO, CO₂, SO₂ e material particulado, além de comprometer as peças internas do motor através de entupimentos dos bicos injetores e corrosão de partes metálicas que estão em contato com o biodiesel degradado (SAZZAD et al., 2016; ZULETA et al., 2012).

A Figura 44 mostra as medidas do SWASV correspondentes as determinações de espécies de Cu(II) nas amostras de biodiesel fortificadas e as respectivas curvas de calibração.

Figura 44: Esquerda: (A e B) Registros de SWASV para a detecção direta de Cu(II) livre em amostras comerciais de biodiesel para resultar nas seguintes concentrações finais na célula: A) 2 µg L⁻¹ e B) 10 µg L⁻¹. Sinais de a) em branco e após três adições (c - e) de padrão de óleo de Cu(II). À direita: (B e D) respectivas curvas analíticas. Condições de SWASV apresentas na Tabela 13.



Fonte: Próprio autor

Os voltamogramas mostrados na Figura 40 correspondem às determinações de cobre livre nas amostras de biodiesel que foram diluídas 50 vezes no eletrólito composto por 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água e 0,1 mol L⁻¹ HCl e as respectivas curvas de calibração. Todas as curvas apresentaram um coeficiente de correlação maiores que 0,998. As respostas do SWASV para todas as amostras analisadas estavam livres de interferência da matriz orgânica do biodiesel sob condições otimizadas. Além disso, o pico de redissolução de Cu(II) foi observado em +0,42 V, cerca de 200 mV mais positivo em comparação com as medidas realizadas em meio aquoso usando o eletrodo de disco de ouro e um eletrodo de referência de Ag/AgCl/saturado com KCl. Essa diferença potencial de pico (~100 mV) pode estar relacionada ao eletrodo de referência do SPGE (pseudo-referência de Ag/AgCl). Além disso, o maior porcentagem de etanol no eletrólito de suporte pode contribuir para a mudança potencial para mais regiões de potenciais mais positivas como relatado na literatura (ALMEIDA et al., 2010; MUNOZ; ANGNES, 2004).

4.3.3 Aplicação do método proposto para a análise do biodiesel após testes de imersão de placas de cobre

As placas de cobre foram imersas nas amostras de biodiesel para simular um processo real de corrosão para diferentes tempos de exposição (24, 48 e 72 h) e as amostras resultantes de biodiesel foram analisadas pelo método proposto para conteúdo livre de Cu(II) e de GF AAS para o conteúdo total de cobre.

A Tabela 17 mostra o teor de cobre livre determinado pelo método SWASV otimizado e de cobre total por GFAAS nas amostras submetidas ao teste de imersão e os respectivos períodos de indução.

Tabela 17: Concentração de cobre livre liberada para biodiesel durante os testes de imersão estática em diferentes períodos (24, 48 e 72 h) e o teor de cobre total com os respectivos períodos de indução.

Concentração de cobre (n = 3)			
Amostras	Encontrado (livre) (mg kg ⁻¹)	GFAAS (total) (mg kg ⁻¹)	Período de indução (h)
BMR controle*	< LD *	0,072 ± 0,001	6,90 ± 0,40
BMR 24 h*	0,033 ± 0,002*	0,095 ± 0,005	5,32 ± 0,12
BMR 48 h	0,073 ± 0,003	0,133 ± 0,004	3,18 ± 0,09
BMR 72 h	0,154 ± 0,004	0,265 ± 0,006	1,20 ± 0,08

* Aplicação de 180 segundos de deposição.

Fonte: Próprio autor

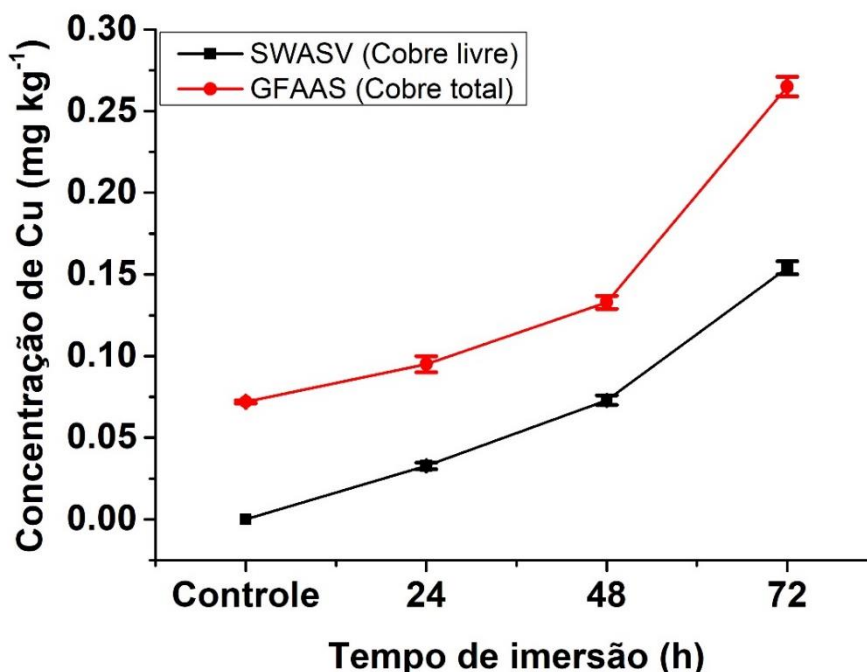
Foi verificado um aumento de viscosidade do biodiesel após os processos de degradação do biodiesel. No entanto, este efeito não influenciou a diluição das amostras no eletrólito e manteve-se homogêneo durante toda as etapas de análises. Este aumento da viscosidade é atribuído à formação de produtos poliméricos de maior peso molecular a partir da oxidação das cadeias de ácidos graxos (VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018; ZULETA et al., 2012).

Pode-se observar uma tendência para o teor livre de cobre em biodiesel em diferentes tempos de imersão. A maior concentração de cobre livre foi encontrada na amostra de biodiesel que permaneceu por 72 horas em contato com a placa de cobre, em seguida na amostra com 48 h de imersão e o menor conteúdo após 24 h de imersão. Os valores obtidos para o teor livre de cobre foram $0,0327 \pm 0,002$, $0,073 \pm 0,003$ e $0,144 \pm 0,004$ mg L⁻¹ para 24, 48 e 72 h de imersão, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os estudos já publicados na literatura sobre a corrosão de diferentes placas metálicas pela ação do biodiesel. Os autores relatam que, quanto maior o tempo de contato entre as placas e o biodiesel, maior o conteúdo do metal solubilizado no biocombustível. Isso pode ser explicado pelo aumento da formação de ácidos orgânicos durante a degradação do biodiesel. Esses produtos ácidos corroem as placas metálicas e aumentam o teor de metal no biodiesel e consequentemente, acelera ainda mais os processos de degradação. Isso explica a tendência crescente encontrada para o teor de cobre livre em

biodiesel com o aumento do tempo de imersão (FAZAL; HASEEB; MASJUKI, 2013; FAZAL et al., 2018; FERNANDES et al., 2013; HASEEB et al., 2010).

A Figura 45 mostra a variação do teor de cobre pelo método proposto e do teor total por GF AAS ao longo dos diferentes tempos de imersão entre as placas e o biodiesel.

Figura 45: Correlação entre os teores de cobre livre e total após diferentes tempos de imersão de placas de cobre em biodiesel.

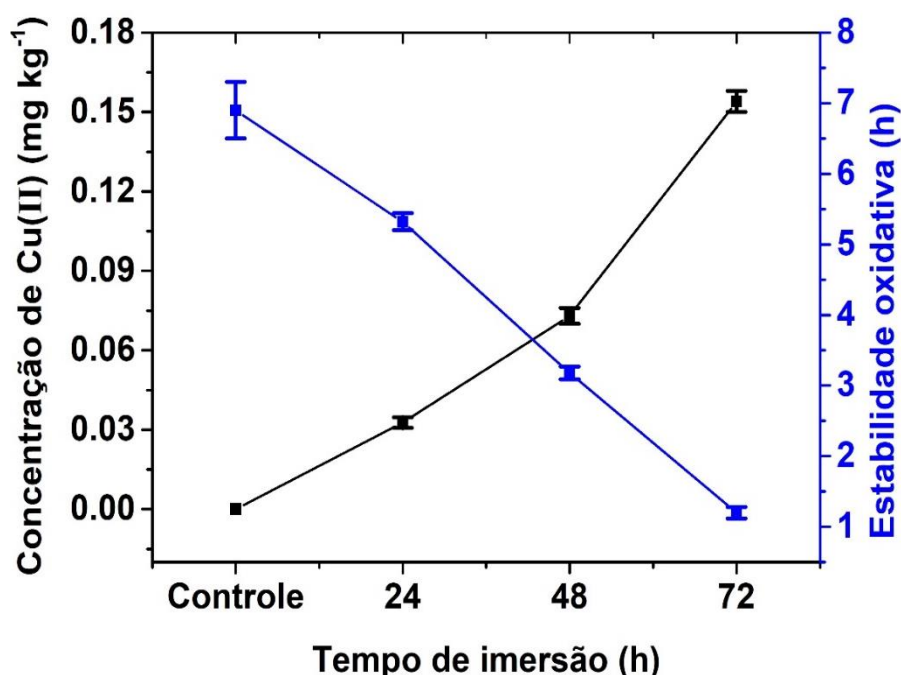


Fonte: Próprio autor

O aumento na quantidade total de cobre medido por GFAAS é quase proporcional ao aumento da concentração de Cu(II) livre determinado pelo método proposto por SWASV. Considerando que a quantidade inicial de cobre encontrada nas amostras de biodiesel por GFAAS seja uma fração organometálica e que está presente em todas as amostras durante os testes de imersão, o aumento contínuo na quantidade de cobre em diferentes períodos de imersão está relacionado com a corrosão das placas e liberação de espécies livres de Cu(II) no biodiesel.

A Figura 46 mostra a relação entre o tempo de imersão das placas metálicas com o aumento do teor de cobre livre no biodiesel devido aos processos de corrosão e a diminuição da estabilidade oxidativa deste biocombustível.

Figura 46: Relação entre o teor de cobre livre (Cu(II)) com o aumento do tempo de imersão das placas metálicas no biodiesel e o decréscimo da estabilidade oxidativa no biocombustível.

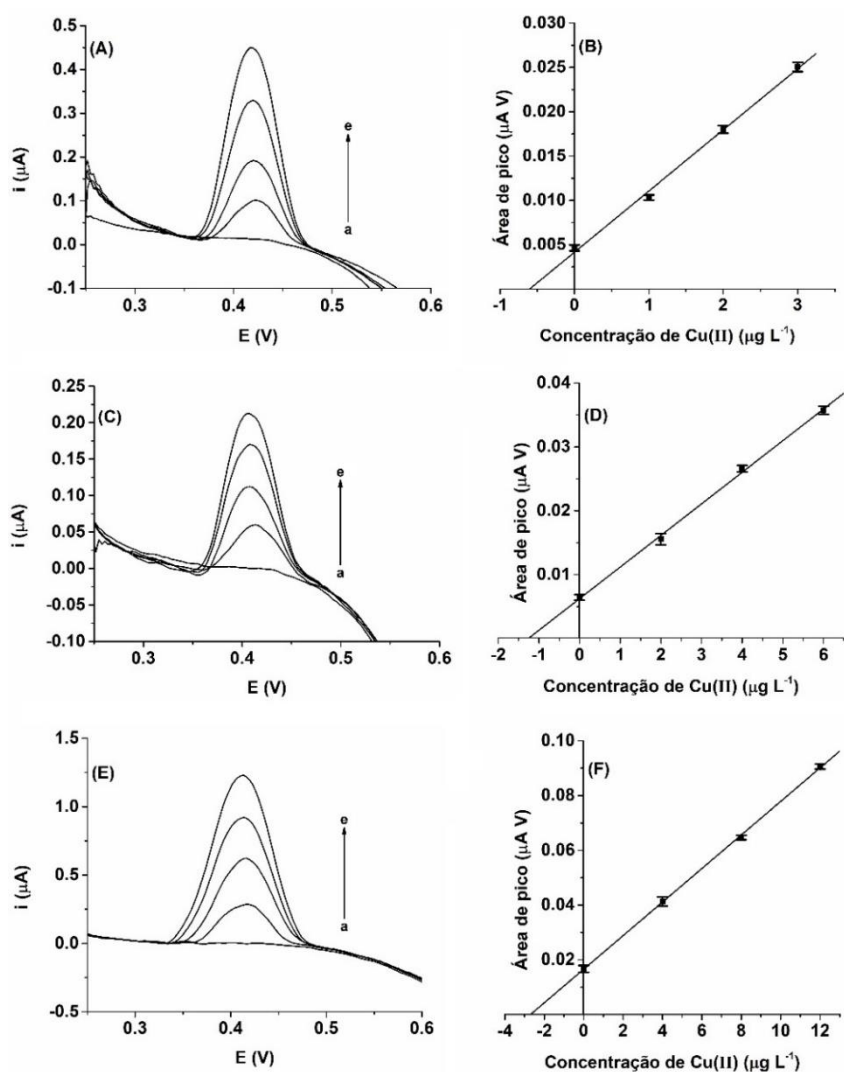


Fonte: Próprio autor

Como citado anteriormente, o teor de cobre livre no biodiesel controle está abaixo dos limites de detecção do método proposto, mesmo aplicando-se 180 s de deposição. Neste biodiesel, a estabilidade oxidativa obtida foi 6,9 h devido à insignificante quantidade de Cu(II) disponível (livre) para acelerar os processos de oxidação do biocombustível. A concentração obtida de $0,0327 \pm 0,002 \text{ mg kg}^{-1}$ após 24 horas de imersão foi suficiente para causar o início da degradação do biodiesel como pode ser visto pelo decréscimo no período de indução de 6,9 horas para 5,3 horas (Tabela 17). Após 48 horas de imersão, a concentração de cobre livre no biodiesel aumentou para $0,073 \pm 0,003 \text{ mg kg}^{-1}$ e o período de indução caiu pela metade do valor inicial da amostra controle, de 6,9 horas para 3,18 horas. E em 72 horas o teor de cobre livre obtido nessa amostra foi de $0,154 \pm 0,004 \text{ mg kg}^{-1}$ sendo mais que o dobro em relação a amostra anterior, além disso, o período de indução foi drasticamente reduzido para 1,20 horas quando comparado com a amostra controle. De forma geral, quanto maior o tempo de contato do biodiesel com a placa metálica maior será a concentração de cobre liberada para o biocombustível e, consequentemente mais acelerada será a degradação do biodiesel causada pela presença do metal (FAZAL; HASEEB; MASJUKI, 2013).

Os voltamogramas apresentados na Figura 47 mostram o perfil da análise do teor de cobre livre nas amostras de biodiesel após serem submetidas a 24, 48 e 72 horas de imersão em placas de cobre. As respectivas curvas de adição de padrão estão dispostas ao lado de cada voltamograma. Todos os parâmetros voltamétricos estão listados na Tabela 13.

Figura 47: Esquerda: Registros de SWASV para a detecção direta de Cu(II) em amostras comerciais de biodiesel após diferentes períodos de imersão com placas de cobre. Em (A) = 24h; (C) = 48 h e (E) = 72 h. Sinais de **a**) em branco, **b**) amostra e após três adições (**c** - **e**) de padrão de óleo de Cu(II). À direita: (B, D e F) as respectivas curvas analíticas. Condições de SWASV apresentas na Tabela 13.



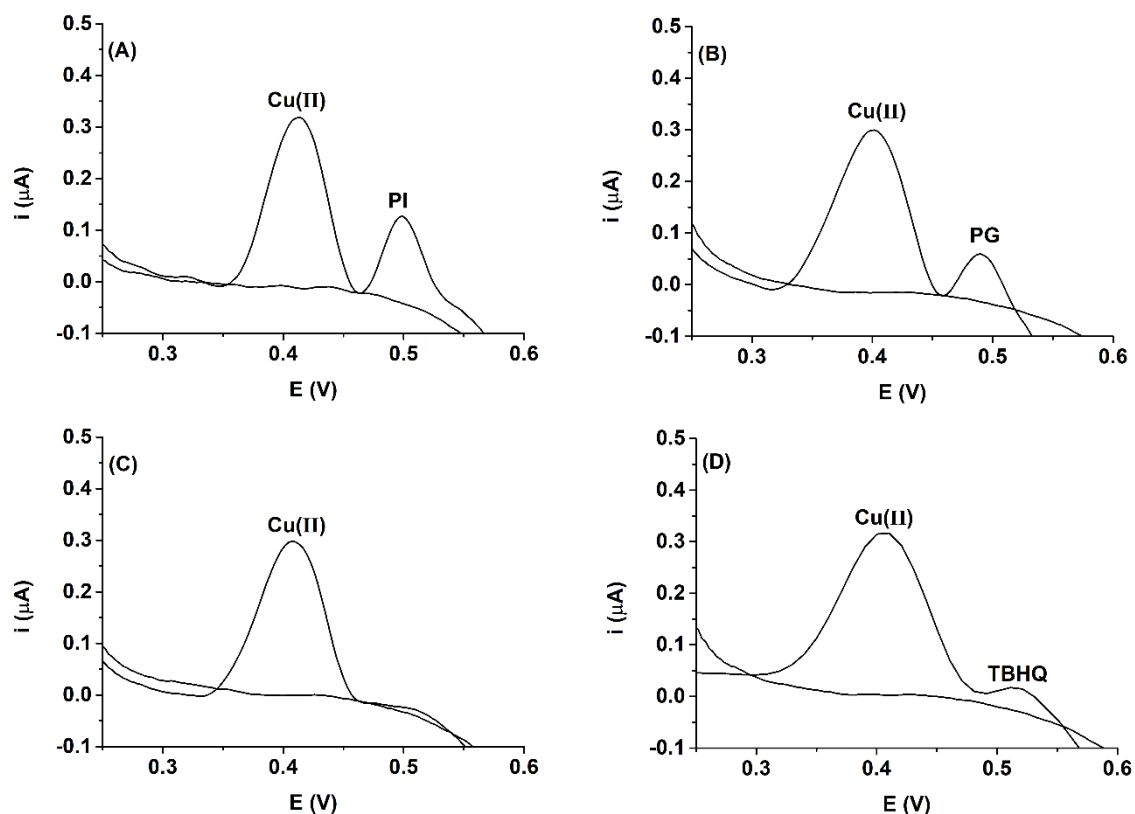
Fonte: Próprio autor

Todas as amostras foram diluídas 50 vezes no eletrólito otimizado. O método de adição padrão foi utilizado para a quantificação de cobre livre e as curvas mostraram um coeficiente de correlação maiores que 0,997. Não foi observada nenhuma alteração no potencial do pico de redissolução do cobre em relação às amostras fortificadas. A degradação do biodiesel e a geração de vários produtos de oxidação não influenciou nas determinações de cobre devido à alteração química do meio. Nenhum outro metal foi detectado ou interferiu nas respostas voltamétricas das amostras analisadas após os testes de corrosão.

Analisando os resultados da Tabela 17, pode-se observar uma variação significativa do total teor de cobre esperado nas amostras de biodiesel expostas a 48 e 72 h. Com base na quantidade apresentada no controle ($0,072 \text{ mg kg}^{-1}$), era de se esperar valores do teor total de cobre em torno de $0,145$ e $0,226 \text{ mg kg}^{-1}$ para 48 e 72 h de imersão, respectivamente, devido a soma do conteúdo de cobre da amostra controle com os valores detectáveis pelo método proposto. Essa variação parece estar relacionada a erros aleatórios de ambos os procedimentos analíticos empregado para determinações totais e livres de cobre (SQUISSATO et al., 2018b). No entanto, ambas metodologias mostraram resultados precisos e exatos após os testes de recuperação em amostras fortificadas com concentrações conhecidas como mostrado na Tabela 16.

Em outros experimentos, o sinal de detecção do cobre(II) foi avaliado na presença dos antioxidantes sintéticos PI, PG, BHT e TBHQ que são comumente utilizados na correção do período de indução dos biodieseis antes da comercialização (FAZAL et al., 2017; VAN DER WESTHUIZEN; FOCKE, 2018; VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018). No entanto, os antioxidantes são eletroativos (CARAMIT et al., 2013; TORMIN et al., 2012), e podem interferir na detecção do Cu(II) e portanto, eles foram avaliados como espécies potencialmente interferentes. Nestes testes, não foram avaliadas as recuperações dos sinais de cobre, e sim apenas se o método proposto é capaz de identificar e distinguir o sinal do metal e dos antioxidantes na presença de biodiesel. A Figura 48 mostra o sinal obtido para $6 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre na presença de 400 mg kg^{-1} de cada antioxidante nas condições otimizadas utilizando o SPGE-AT.

Figura 48: Voltamogramas obtidos por SWASV para detecção direta de íons Cu(II) livre ($6 \mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de biodiesel na presença (400 mg L^{-1}) de antioxidantes (A) PI, (B) PG, (C) BHT e (D) TBHQ. Parâmetros da SWASV, eletrólito e diluição da amostra semelhantes à da Figura 40.



Fonte: Próprio autor

A Figura 48 apresenta os picos de redissolução do cobre na presença de cada antioxidante analisado. Pode-se notar que em todos os experimentos, houve um ligeiro deslocamento, cerca de 0,1 V, do sinal do cobre para potenciais mais negativos. Em A foi possível identificar um pico de oxidação em +0,49 V, o qual pode ser atribuído ao propil galato. Em B foi observado um sinal de oxidação em +0,5 V sendo relacionado ao pirogalol. Em ambos casos o método desenvolvido foi capaz de distinguir o sinal de redissolução do cobre do sinal de oxidação dos antioxidantes nas concentrações utilizadas. Entretanto, devido a pequena separação do sinal do cobre e dos antioxidantes (aproximadamente 0,09 V) a determinação de cobre na presença de propilgalato ou de pirogalol pode ser comprometida. Com as adições sucessivas do padrão metálico os sinais de ambos podem se sobrepor levando a uma medida errônea. Em C não foi observado

pico de oxidação do BHT na concentração avaliada, apenas o sinal de redissolução do metal. Por outro lado, o TBHQ interfere diretamente no sinal de Cu(II) já que seu pico de oxidação ocorre próximo ao pico de redissolução do Cu(II) sob esta condição.

A concentração destes antioxidantes que são adicionados ao biodiesel está dentro de uma ampla faixa, 10 a 4000 mg L⁻¹ para que se atenda as normas que estipula no mínimo 8 h para o teste de estabilidade oxidativa. Isto ocorre devido às diferentes características de cada biodiesel o que leva a uma ampla variação dos valores de estabilidade à oxidação e consequentemente, diferentes concentrações do antioxidante podem ser utilizadas. Além disso, dependendo da matriz oleosa (soja, algodão, óleo residual) utilizada para a produção do biodiesel, antioxidantes específicos são adicionados por apresentam um efeito mais pronunciado do que os demais na melhoria da estabilidade oxidativa (FAZAL; HASEEB; MASJUKI, 2013; FAZAL et al., 2017; VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018; XIN; IMAHARA; SAKA, 2009).

Em trabalhos futuros será abordado a determinação simultânea de espécies orgânicas e inorgânicas em combustíveis de forma direta em eletrodos impressos.

Este trabalho foi desenvolvido para a determinação direta de cobre livre em biodiesel utilizando os SPGE-AT resistentes a solventes orgânicos. A técnica de voltametria de redissolução anódica por onda quadrada foi aplicada com eficiência e não sofreu interferência da matriz orgânica mesmo nos casos onde a amostra estava degradada. Os baixos limites de detecção e quantificação obtidos para o método desenvolvido possibilitaram avaliar a concentração de cobre que era liberado das placas para o biodiesel em diferentes períodos de imersão. Além disso, foi possível correlacionar o decréscimo do período de indução com a presença de cobre livre e total após os testes de corrosão. Os teores de cobre total nas amostras determinadas por GF AAS apresentam boa relação com os dados obtidos por SWASV. Após 80 medidas, não foram observadas interferências provenientes de resíduos de tintas ou algum material que compõe os eletrodos, mesmo com a presença de biodiesel, demonstrando a grande promessa desses eletrodos resistentes para análise direta de combustíveis ou biocombustíveis.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Este trabalho demonstrou a aplicação eletrodos impressos resistentes e não resistentes a solventes orgânicos na determinação de contaminantes (metais) ou aditivos (anticorrosivos) em amostras de combustíveis renováveis (bioetanol e biodiesel), amostras ambientais (água do mar), óleo mineral e alimentos (óleo de peixe em cápsulas). Foi demonstrado que é possível realizar as determinações pela simples diluição das amostras complexas diretamente nos respectivos eletrólitos otimizados, ou após experimentos rápidos de digestão de amostras (máximo 15 minutos) em banho de ultrassom. A facilidade oferecida no preparo das amostras, possibilita o desenvolvimento de metodologias portáteis que podem ser empregadas no controle de qualidade *in situ* (no campo) destas amostras. A configuração dos SPE's admite que os três eletrodos (trabalho, pseudo-referência, e contra eletrodo) sejam impressos em apenas um único dispositivo e possui a vantagem de miniaturizar o sistema de detecção principalmente quando acopladas com potenciostatos portáteis e laptops. A variedade da composição das tintas e substratos utilizados na produção dos eletrodos impressos atribui a estes dispositivos características importantes como melhorias na sensibilidade e seletividade e a capacidade de resistência a alguns solventes orgânicos que foi o foco deste trabalho.

Na primeira parte da tese, o uso do eletrodo impresso de grafite em substrato de poliéster possibilitou análises em um eletrólito contendo 95% de etanol. A determinação do anticorrosivo DMCT com o SPGrE acoplado ao sistema BIA com detecção amperométrica se mostrou versátil, rápida e precisa. Foi demonstrado a primeira aplicação de eletrodos impressos descartáveis no monitoramento de um anticorrosivo em diversas amostras como água do mar sintética, etanol combustível e óleo lubrificante em eletrólito composto por 95% (v/v) de etanol e 5% (v/v) de água e 0,1 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico no volume final. As amostras foram fortificadas com concentrações conhecidas de DMCT e diluídas diretamente no eletrólito para as determinações amperométricas em 1,1 V no sistema BIA. O método apresentou boa exatidão e precisão confirmados pelos testes de recuperação na faixa de 96 – 106%, além de baixos desvios nos estudos de repetibilidade em diferentes concentrações (DPR<1,0%). As medidas inter-dia e inter-eletrodos (DPR <4,3%) mostraram boa robustez dos SPGrE. Um único eletrodo foi continuamente utilizado por mais de 200 injeções consecutivas livre de processos adsorptivos com medidas rápidas, 180 injeções por hora.

Na segunda parte da tese, voltada para a área de alimentos, foi demonstrado pela primeira vez um método eletroanalítico para a determinação de Hg em amostras comerciais de óleo de peixe em cápsulas utilizando os eletrodos impressos de ouro ou SPGEs. Três tipos de digestões foram avaliados na decomposição de um padrão oleoso de mercúrio certificado; banho ultrassônico, a calcinação e o bloco digestor. A digestão com banho com ultrassom em temperatura ambiente forneceu uma decomposição rápida (15 minutos) e eficiente (recuperação maior que 94%) para o padrão oleoso. Com temperaturas mais brandas, a calcinação e o bloco digestor não apresentaram resultados satisfatórios devido as perdas por volatilização do mercúrio contido no padrão. Os parâmetros de SWASV foram otimizados no eletrólito contendo 0,1 M de HCl e o método se mostrou sensível ($LD = 0,25 \mu\text{g L}^{-1}$). Os experimentos de repetibilidade ($DPR < 4,0\%$), testes intra-dia ($DPR < 3,1\%$) e inter-eletrodos ($DPR < 4,3\%$) apresentaram desvios relativamente baixos confirmando uma boa precisão entre as medidas e entre os eletrodos. Além disso, com um único eletrodo foi possível de se realizar 100 leituras sem a substituição por um novo sensor. Os valores de recuperação (95 – 105%) para as amostras de óleo de peixe em cápsulas fortificadas com o padrão oleoso de mercúrio demonstraram boa exatidão no processo de digestão destas amostras, e livre de interferências de outros metais. Desta forma, a digestão de amostras oleosas em banho de ultrassom combinado com a detecção eletroanalítica utilizando SPGEs possibilita uma alternativa eficiente e barata para as análises de rotina de Hg em amostras de oleosas comerciais.

Para a terceira etapa desta tese foi apresentado uma nova metodologia para detectar Cu(II) livres em biodiesel de forma simples, sensível e rápida utilizando eletrodos impressos de ouro resistentes à solventes orgânicos SPGEs. Amostras de biodiesel comercial foram contaminadas após testes de imersão em placas de cobre e analisadas após diluição simples em um eletrólito hidroetanólico contendo 90% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de água desionizada e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl no volume final. Os parâmetros de SWASV foram otimizados no eletrólito e o método analítico apresentou excelente sensibilidade ($LD = 0,0060 \mu\text{g L}^{-1}$), boa precisão ($DPR < 4,3\%$) e exatidão (recuperações entre 99 e 102%). Foram obtidos baixos desvios entre as leituras com diferentes eletrodos ($DPR < 4,8\%$ para 3 dispositivos) confirmando a boa robustez destes eletrodos impressos. Um único eletrodo respondeu de forma satisfatória por 80 medições consecutivas em meio hidroetanólico. Foi demonstrado que o teor de Cu(II) livre está diretamente ligado com a diminuição da estabilidade oxidativa do biodiesel. A amostra de biodiesel controle (sem imersão) foi analisada por GF AAS após a digestão. Os resultados mostraram que a fração

de cobre nesta amostra pode estar ligada na matriz orgânica o que proporcionou valores mais elevados da estabilidade oxidativa. A correlação entre o teor de cobre(II) livre e total foi bem estabelecida entre as duas técnicas e o método SWASV acoplado com o SPGE resistente em meios orgânicos pode ser utilizada para análises rápidas, sensíveis, baratas e de rotina de metais em combustíveis.

Portanto, a aplicação analítica dos eletrodos impressos deve-se levar em conta o analito e o meio (eletrólito) que serão realizadas as determinações. A não interação entre os componentes do eletrodo (tintas e substratos) com o eletrólito é de fundamental importância para prevenir interferências e sinais não esperados. Análises diretas por simples diluição tem chamado atenção devido a simplicidade no preparo de amostras e a melhoria nos limites de detecção. Contudo, devido à complexidade da matriz envolvida, sinais não desejados podem diminuir a seletividade do método e interferir na detecção do analito de interesse. Desta forma, a fim de minimizar tais inconvenientes se faz necessário novos estudos para o desenvolvimento de eletrodos constituídos de diferentes substratos e tintas condutoras e proporcionar aplicações diretas em amostras de alimentos ou (bio)combustíveis de forma geral. Além disso, as tecnologias de impressão 3D podem produzir eletrodos descartáveis para análises de uma gama de analitos em diferentes meios aquosos ou não aquosos.

Os métodos desenvolvidos nesta tese podem ser aplicados em análises em campo (fora do laboratório) já que os equipamentos utilizados como potenciostatos, notebooks, micropipetas eletrônicas, banhos de ultrassom e células eletroquímicas estão disponíveis comercialmente e possuem a versatilidade de serem facilmente transportados.

6. REFERÊNCIAS

- ADELOJU, S. B. Comparison of some wet digestion and dry ashing methods for voltammetric trace element analysis. **The Analyst**, v. 114, n. 4, p. 455–461, 1989. <http://doi.org/10.1039/AN9891400455>
- ALBAREDA-SIRVENT, M.; MERKOÇI, A.; ALEGRET, S. Configurations used in the design of screen-printed enzymatic biosensors. A review. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 69, n. 1, p. 153–163, 2000. [http://doi.org/10.1016/S0925-4005\(00\)00536-0](http://doi.org/10.1016/S0925-4005(00)00536-0)
- ALEEVA, Y.; PIGNATARO, B. Recent advances in upscalable wet methods and ink formulations for printed electronics. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 2, n. 32, p. 6436–6453, 2014. <http://doi.org/10.1039/c4tc00618f>
- ALMEIDA, E. S.; MONTEIRO, M. A. N. A.; MONTES, R. H. O.; MOSQUETTA, R.; COELHO, N. M. M.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A. Direct determination of copper in biodiesel using stripping analysis. **Electroanalysis**, v. 22, n. 16, p. 1846–1850, 2010. <http://doi.org/10.1002/elan.201000162>
- ALMEIDA, E. S.; PORTELA, F. M.; SOUSA, R. M. F.; DANIEL, D.; TERRONES, M. G. H.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A. Behaviour of the antioxidant tert-butylhydroquinone on the storage stability and corrosive character of biodiesel. **Fuel**, v. 90, n. 11, p. 3480–3484, 2011. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.06.056>

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, jul. 2014. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2014.05.031>

ALMEIDA, E. S.; SILVA, L. A. J.; SOUSA, R. M. F.; RICHTER, E. M.; FOSTER, C. W.; BANKS, C. E.; MUNOZ, R. A. A. Organic-resistant screen-printed graphitic electrodes: Application to on-site monitoring of liquid fuels. **Analytica Chimica Acta**, v. 934, p. 1–8, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2016.05.055>

ALONSO-LOMILLO, M. A.; DOMÍNGUEZ-RENEDO, O.; ARCOS-MARTÍNEZ, M. J. Screen-printed biosensors in microbiology: A review. **Talanta**, v. 82, n. 5, p. 1629–1636, 2010. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.08.033>

ALTUNAY, N. Utility of ultrasound assisted-cloud point extraction and spectrophotometry as a preconcentration and determination tool for the sensitive quantification of mercury species in fish samples. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 189, p. 167–175, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.saa.2017.08.033>

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RCD Nº 42 de agosto de 2013**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/393845/RDC%2Bn%25C2%25BA%2B42_2013_final.pdf/eec629cf-8d17-422b-a362-366b275c1a00. Acesso em: 2 nov. 2018.

ARDUINI, F.; MICHELI, L.; MOSCONE, D.; PALLESCHI, G.; PIERMARINI, S.; RICCI, F.; VOLPE, G. Electrochemical biosensors based on nanomodified screen-printed electrodes: Recent applications in clinical analysis. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 79, p. 114–126, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2016.01.032>

ARIÑO, C.; SERRANO, N.; DÍAZ-CRUZ, J. M.; ESTEBAN, M. Voltammetric determination of metal ions beyond mercury electrodes. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 990, p. 11–53, 2017. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2017.07.069>

ASHLEY, K. Ultrasonic extraction and field-portable anodic stripping voltammetry of lead from environmental samples. **Electroanalysis**, v. 7, n. 12, p. 1189–1192, dez. 1995. <http://doi.org/10.1002/elan.1140071217>

ATADASHI, I. M.; AROUA, M. K.; AZIZ, A. A. High quality biodiesel and its diesel engine application: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 7, p. 1999–2008, 2010. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2010.03.020>

AUGELLI, M. A.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M.; CANTAGALLO, M. I.; ANGNES, L. Analytical procedure for total mercury determination in fishes and shrimps by chronopotentiometric stripping analysis at gold film electrodes after microwave digestion. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 579–584, 2007. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.017>

AZEVEDO, L. S.; PESTANA, I. A.; ROCHA, A. R. M.; MENEGUELLI-SOUZA, A. C.; LIMA, C. A. I.; ALMEIDA, M. G.; BASTOS, W. R.; SOUZA, C. M. M. Drought promotes increases in total mercury and methylmercury concentrations in fish from the lower Paraíba do Sul river, southeastern Brazil. **Chemosphere**, v. 202, p. 483–490, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.059>

BANDODKAR, A. J.; WANG, J. Non-invasive wearable electrochemical sensors: A review. **Trends in Biotechnology**, v. 32, n. 7, p. 363–371, 2014. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.04.005>

BARKER, G. C.; JENKINS, I. L. Square-wave polarography. **The Analyst**, v. 77, n. 920, p. 685, 1952. <http://doi.org/10.1039/an9527700685>

BARTON, J.; GARCÍA, M. B. G.; SANTOS, D. H.; FANJUL-BOLADO, P.; RIBOTTI, A.; MCCAUL, M.; DIAMOND, D.; MAGNI, P. Screen-printed electrodes for environmental monitoring of heavy metal ions: a review. **Microchimica Acta**, v. 183, n. 2, p. 503–517, 2016. <http://doi.org/10.1007/s00604-015-1651-0>

BENDICHO, C.; DE LA CALLE, I.; PENA, F.; COSTAS, M.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, p. 50–60, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.018>

BERNALTE, E.; MARÍN-SÁNCHEZ, C.; PINILLA-GIL, E.; BRETT, C. M. A. Characterisation of screen-printed gold and gold nanoparticle-modified carbon sensors

by electrochemical impedance spectroscopy. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 709, p. 70–76, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.jelechem.2013.09.007>

BERNALTE, E.; MARÍN SÁNCHEZ, C.; GIL, E. P. Determination of mercury in ambient water samples by anodic stripping voltammetry on screen-printed gold electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 689, p. 60–64, 2011. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2011.01.042>

BERNALTE, E.; MARÍN SÁNCHEZ, C.; PINILLA GIL, E. Determination of mercury in indoor dust samples by ultrasonic probe microextraction and stripping voltammetry on gold nanoparticles-modified screen-printed electrodes. **Talanta**, v. 97, p. 187–192, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.04.015>

BERNALTE, E.; MARÍN SÁNCHEZ, C.; PINILLAGIL, E. High-throughput mercury monitoring in indoor dust microsamples by bath ultrasonic extraction and anodic stripping voltammetry on gold nanoparticles-modified screen-printed electrodes. **Electroanalysis**, v. 25, n. 1, p. 289–294, 2013. <http://doi.org/10.1002/elan.201200341>

BONFIL, Y.; BRAND, M. Trace determination of mercury by anodic stripping voltammetry at the rotating gold electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 424, n. 1, p. 65–76, 2000. [http://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)01074-6](http://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)01074-6)

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. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(199910\)11:14<1013::AID-](http://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(199910)11:14<1013::AID-)

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O.; MITOSERIU, L. C. Amperometric and Voltammetric Detection in Batch Injection Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 19, p. 3145–3150, 1994. <http://doi.org/10.1021/ac00091a024>

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O.; MITOSERIU, L. C. Amperometric batch injection analysis: Theoretical aspects of current transients and comparison with wall-jet electrodes in continuous flow. **Electroanalysis**, v. 7, n. 3, p. 225–229, 1995. <http://doi.org/10.1002/elan.1140070305>

BUFFLE, J.; TERCIER-WAEBER, M. L. Voltammetric environmental trace-metal analysis and speciation: From laboratory to in situ measurements. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 3 SPEC. ISS., p. 172–191, 2005. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2004.11.013>

CANESIN, E. A.; DE OLIVEIRA, C. C.; MATSUSHITA, M.; FELICIDADE DIAS, L.; REGHIANY PEDRÃO, M.; DE SOUZA, N. E. Characterization of residual oils for biodiesel production. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 39–45, 2014. <http://doi.org/10.1016/j.ejbt.2013.12.007>

CARAMIT, R. P.; DE FREITAS ANDRADE, A. G.; GOMES DE SOUZA, J. B.; DE ARAUJO, T. A.; VIANA, L. H.; TRINDADE, M. A. G.; FERREIRA, V. S. A new voltammetric method for the simultaneous determination of the antioxidants TBHQ and BHA in biodiesel using multi-walled carbon nanotube screen-printed electrodes. **Fuel**, v.

105, p. 306–313, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.06.062>

CARAMIT, R. P.; LUCCA, B. G.; SOUZA FERREIRA, V.; ABARZAMUNOZ, R. A.; RICHTER, E. M.; DA SILVA, R. A. B. On-Site determination of carbendazim, catechol and hydroquinone in tap water using a homemade batch injection analysis cell for screen printed electrodes. **Electroanalysis**, v. 27, n. 2, p. 271–275, 2015. <http://doi.org/10.1002/elan.201400454>

CHEN, H.; XIE, B.; MA, J.; CHEN, Y. NO_x emission of biodiesel compared to diesel: Higher or lower? **Applied Thermal Engineering**, v. 137, p. 584–593, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2018.04.022>

CHEN, W.; LUO, H. Q.; LI, N. B. Inhibition effects of 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole on the corrosion of mild steel in sulphuric acid solution. **Corrosion Science**, v. 53, n. 10, p. 3356–3365, 2011. <http://doi.org/10.1016/j.corsci.2011.06.013>

CHERNOV'YANTS, M. S.; ALESHINA, N. V.; BURYKIN, I. V. Chromatographic and electrophoretic determination of thioamides based on thiazole, 1,3,4-thiadiazole, 1,2,4-triazole, and tetrazole. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 66, n. 3, p. 280–284, 2011. <http://doi.org/10.1134/S1061934811010023>

COLLASIOL, A.; POZEBON, D.; MAIA, S. M. Ultrasound assisted mercury extraction from soil and sediment. **Analytica Chimica Acta**, v. 518, n. 1–2, p. 157–164, ago. 2004. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2004.04.021>

COMPAGNONE, D.; DI FRANCIA, G.; DI NATALE, C.; NERI, G.; SEEBER, R.; TAJANI, A. Chemical sensors and biosensors in Italy: A review of the 2015 literature. **Sensors (Switzerland)**, v. 17, n. 4, p. 868–890, 2017. <http://doi.org/10.3390/s17040868>

COUTO, R. A. S.; LIMA, J. L. F. C.; QUINAZ, M. B. Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis. **Talanta**, v. 146, p. 801–814, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.011>

CUI, G.; JAE HYUN YOO; JOUNG SU LEE; YOO, J.; JUNG HEE UHM; GEUN SIG CHA; NAM, H. Effect of pre-treatment on the surface and electrochemical properties of screen-printed carbon paste electrodes. **Analyst**, v. 126, n. 8, p. 1399–1403, 2001. <http://doi.org/10.1039/b102934g>

CYPRIANO, J. C.; MATOS, M. A. C.; MATOS, R. C. Ultrasound-assisted treatment of palm oil samples for the determination of copper and lead by stripping chronopotentiometry. **Microchemical Journal**, v. 90, n. 1, p. 26–30, 2008. <http://doi.org/10.1016/j.microc.2008.03.001>

DA SILVA, D. L. F.; DA COSTA, M. A. P.; SILVA, L. O. B.; DOS SANTOS, W. N. L. Simultaneous determination of mercury and selenium in fish by CVG AFS. **Food Chemistry**, v. 273, p. 24–30, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.020>

DE O VICENTINO, P.; BRUM, D. M.; CASSELLA, R. J. Development of a method for total Hg determination in oil samples by cold vapor atomic absorption spectrometry after

its extraction induced by emulsion breaking. **Talanta**, v. 132, p. 733–738, 2015.
<http://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.10.019>

DE OLIVEIRA, S. M.; SIGUEMURA, A.; LIMA, H. O.; DE SOUZA, F. C.; MAGALHÃES, A. A. O.; TOLEDO, R. M.; D'ELIA, E. Flow injection analysis with amperometric detection for morpholine determination in corrosion inhibitors. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 8, p. 1399–1406, 2014.
<http://doi.org/10.5935/0103-5053.20140122>

DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003.
<http://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100015>

DIAS, A. A.; CARDOSO, T. M. G.; CARDOSO, R. M.; DUARTE, L. C.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M.; COLTRO, W. K. T. Paper-based enzymatic reactors for batch injection analysis of glucose on 3D printed cell coupled with amperometric detection. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 226, p. 196–203, abr. 2016.
<http://doi.org/10.1016/j.snb.2015.11.040>

DROPSSENS. **DropSens: Screen-printed electrodes**. Disponível em: http://www.dropsens.com/en/screen_printed_electrodes_pag.html. Acesso em: 16 out. 2018.

DUARTE, K.; JUSTINO, C. I. L.; FREITAS, A. C.; GOMES, A. M. P.; DUARTE, A. C.; ROCHA-SANTOS, T. A. P. Disposable sensors for environmental monitoring of lead,

cadmium and mercury. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 64, p. 183–190, 2015. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2014.07.006>

ECONOMOU, A. Recent developments in on-line electrochemical stripping analysis-An overview of the last 12 years. **Analytica Chimica Acta**, v. 683, n. 1, p. 38–51, dez. 2010. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2010.10.017>

ECONOMOU, A. Screen-printed electrodes modified with “green” metals for electrochemical stripping analysis of toxic elements. **Sensors (Switzerland)**, v. 18, n. 4, p. 1032–1054, 2018. <http://doi.org/10.3390/s18041032>

FANJUL-BOLADO, P.; HERNÁNDEZ-SANTOS, D.; LAMAS-ARDISANA, P. J.; MARTÍN-PERNÍA, A.; COSTA-GARCÍA, A. Electrochemical characterization of screen-printed and conventional carbon paste electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 53, n. 10, p. 3635–3642, 2008a. <http://doi.org/10.1016/j.electacta.2007.12.044>

FAZAL, M. A.; HASEEB, A. S. M. A.; MASJUKI, H. H. Corrosion mechanism of copper in palm biodiesel. **Corrosion Science**, v. 67, p. 50–59, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.corsci.2012.10.006>

FAZAL, M. A.; JAKERIA, M. R.; HASEEB, A. S. M. A.; RUBAIEE, S. Effect of antioxidants on the stability and corrosiveness of palm biodiesel upon exposure of different metals. **Energy**, v. 135, p. 220–226, 2017. <http://doi.org/10.1016/j.energy.2017.06.128>

FAZAL, M. A.; SUHAILA, N. R.; HASEEB, A. S. M. A.; RUBAIEE, S.; AL-ZAHRANI, A. Influence of copper on the instability and corrosiveness of palm biodiesel and its blends: An assessment on biodiesel sustainability. **Journal of Cleaner Production**, v. 171, p. 1407–1414, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.144>

FERNANDES, D. M.; MONTES, R. H. O.; ALMEIDA, E. S.; NASCIMENTO, A. N.; OLIVEIRA, P. V.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A. Storage stability and corrosive character of stabilised biodiesel exposed to carbon and galvanised steels. **Fuel**, v. 107, p. 609–614, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.11.010>

FERNÁNDEZ, E.; VIDAL, L.; COSTA-GARCÍA, A.; CANALS, A. Mercury determination in urine samples by gold nanostructured screen-printed carbon electrodes after vortex-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 915, p. 49–55, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2016.02.028>

FERREIRA, H. B. P.; BARBEIRA, P. J. S. Voltammetric determination of zinc in lubricating oils. **Energy and Fuels**, v. 23, n. 6, p. 3048–3053, 2009. <http://doi.org/10.1021/ef900123y>

FERREIRA, S. L. C.; LEMOS, V. A.; SILVA, L. O. B.; QUEIROZ, A. F. S.; SOUZA, A. S.; DA SILVA, E. G. P.; DOS SANTOS, W. N. L.; DAS VIRGENS, C. F. Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices - A review. **Microchemical Journal**, v. 121, p. 227–236, 2015. <http://doi.org/10.1016/j.microc.2015.02.012>

FOCKE, W. W.; WESTHUIZEN, I. VAN DER; OOSTHUYSEN, X. Biodiesel oxidative stability from Rancimat data. **Thermochimica Acta**, v. 633, p. 116–121, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.tca.2016.03.023>

FORAN, S. E.; FLOOD, J. G.; LEWANDROWSKI, K. B. Measurement of mercury Levels in concentrated over-the-counter fish oil preparations: Is fish oil healthier than fish? **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 127, n. 12, p. 1603–1605, 2003. [http://doi.org/10.1043/1543-2165\(2003\)127<1603:MOMLIC>2.0.CO;2](http://doi.org/10.1043/1543-2165(2003)127<1603:MOMLIC>2.0.CO;2)

FOSTER, C. W.; METTERS, J. P.; KAMPOURIS, D. K.; BANKS, C. E. Ultraflexible screen-printed graphitic electroanalytical sensing platforms. **Electroanalysis**, v. 26, n. 2, p. 262–274, 2014. <http://doi.org/10.1002/elan.201300563>

FRAG, E. Y. Z.; MOHAMED, G. G.; EL-DIEN, F. A. N.; MOHAMED, M. E. Construction and performance characterization of screen printed and carbon paste ion selective electrodes for potentiometric determination of naphazoline hydrochloride in pharmaceutical preparations. **Analyst**, v. 136, n. 2, p. 332–339, 2011. <http://doi.org/10.1039/c0an00343c>

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. 7, n. 17, p. 7170–7176, 2015. <http://doi.org/10.1039/c4ay02313g>

FRENA, M.; CAMPESTRINI, I.; DE BRAGA, O. C.; SPINELLI, A. 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. <http://doi.org/10.1016/j.electacta.2011.02.111>

FU, B.; LIU, G.; SUN, M.; HOWER, J. C.; HU, G.; WU, D. A comparative study on the mineralogy, chemical speciation, and combustion behavior of toxic elements of coal beneficiation products. **Fuel**, v. 228, p. 297–308, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.04.085>

GAO, C.; HUANG, X. J. Voltammetric determination of mercury(II). **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 51, p. 1–12, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2013.05.010>

GHISI, M.; CHAVES, E. S.; QUADROS, D. P. C.; MARQUES, E. P.; CURTIUS, A. J.; MARQUES, A. L. B. 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. <http://doi.org/10.1016/j.microc.2010.11.003>

GIMENES, D. T.; PEREIRA, P. F.; CUNHA, R. R.; BEZERRADA SILVA, R. A.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. A simple strategy to improve the accuracy of the injection step in batch injection analysis systems with amperometric detection. **Electroanalysis**, v. 24, n. 9, p. 1805–1810, 2012. <http://doi.org/10.1002/elan.201200254>

HART, J. P.; CREW, A.; CROUCH, E.; HONEYCHURCH, K. C.; PEMBERTON, R. M. Some Recent Designs and Developments of Screen-Printed Carbon Electrochemical Sensors/Biosensors for Biomedical, Environmental, and Industrial Analyses. **Analytical Letters**, v. 37, n. 5, p. 789–830, 2004. <http://doi.org/10.1081/AL-120030682>

HART, J. P.; WRING, S. A. Screen-printed voltammetric and amperometric electrochemical sensors for decentralized testing. **Electroanalysis**, v. 6, n. 8, p. 617–624, 1994. <http://doi.org/10.1002/elan.1140060802>

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. [http://doi.org/10.1016/S0165-9936\(96\)00097-0](http://doi.org/10.1016/S0165-9936(96)00097-0)

HASEEB, A. S. M. A.; FAZAL, M. A.; JAHIRUL, M. I.; MASJUKI, H. H. Compatibility of automotive materials in biodiesel: A review. **Fuel**, v. 90, n. 3, p. 922–931, 2011. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.10.042>

HASEEB, A. S. M. A.; MASJUKI, H. H.; ANN, L. J.; FAZAL, M. A. Corrosion characteristics of copper and leaded bronze in palm biodiesel. **Fuel Processing Technology**, v. 91, n. 3, p. 329–334, 2010. <http://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.11.004>

HAYAT, A.; MARTY, J. L. Disposable screen printed electrochemical sensors: Tools for environmental monitoring. **Sensors (Switzerland)**, v. 14, n. 6, p. 10432–10453, 2014. <http://doi.org/10.3390/s140610432>

HERZOG, G.; BENI, V. Stripping voltammetry at micro-interface arrays: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 769, p. 10–21, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.031>

HOEKMAN, S. K.; BROCH, A.; ROBBINS, C.; CENICEROS, E.; NATARAJAN, M. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 1, p. 143–169, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.143>

HONEYCHURCH, K. C. Screen-printed Electrochemical Sensors and Biosensors for Monitoring Metal Pollutants. **Insciences Journal | Sensors Insciences J**, v. 2, n. 1, p. 1–51, 2012. <http://doi.org/10.5640/insc.020101>

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. [http://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)00703-9](http://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00703-9)

HSU, W. H.; JIANG, S. J.; SAHAYAM, A. C. Determination of Cu, As, Hg and Pb in vegetable oils by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry with palladium nanoparticles as modifier. **Talanta**, v. 117, p. 268–272, dez. 2013. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.09.013>

HU, J. Q.; WEI, X. Y.; ZONG, Z. M. Study on tribological and corrosion inhibiting properties of thiadiazole derivative as lubricant grease additive. **Industrial Lubrication and Tribology**, v. 58, n. 6, p. 320–323, 2006.
<http://doi.org/10.1108/00368790610691400>

HUANG, L.; TANG, F.; HU, B.; SHEN, J.; YU, T.; MENG, Q. Chemical reactions of 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole (DMTD) with metallic copper, silver, and mercury. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 105, n. 33, p. 7984–7989, 2001.
<http://doi.org/10.1021/jp004385j>

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors: definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247–1250, 1991.
<http://doi.org/10.1351/pac199163091247>

JADAV, J. K.; UMRANIA, V. V.; RATHOD, K. J.; GOLAKIYA, B. A. Development of silver/carbon screen-printed electrode for rapid determination of vitamin C from fruit juices. **LWT - Food Science and Technology**, v. 88, p. 152–158, 2018.
<http://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.005>

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Effect of metal contents on oxidation stability of biodiesel/diesel blends. **Fuel**, v. 116, p. 14–18, 2014.
<http://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.07.104>

JAMALUDDIN AHMED, M.; MAMUN, M. AL. Spectrophotometric determination of lead in industrial, environmental, biological and soil samples using 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole. **Talanta**, v. 55, n. 1, p. 43–54, 2001. [http://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00389-7](http://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00389-7)

JANASEK, D.; FRANZKE, J.; MANZ, A. Scaling and the design of miniaturized chemical-analysis systems. **Nature**, v. 442, n. 7101, p. 374–380, 2006. <http://doi.org/10.1038/nature05059>

JANATA, J. Principles of Chemical Sensors. In: New York: Springer, 2009. p. 1–12.

JEWELL, E.; HAMBLYN, S.; CLAYPOLE, T.; GETHIN, D. Deposition of High Conductivity Low Silver Content Materials by Screen Printing. **Coatings**, v. 5, n. 2, p. 172–185, 2015. <http://doi.org/10.3390/coatings5020172>

KADARA, R. O.; JENKINSON, N.; BANKS, C. E. Characterisation of commercially available electrochemical sensing platforms. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 138, n. 2, p. 556–562, 2009. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2009.01.044>

KAJIČ, P.; MILOŠEV, I.; PIHLAR, B.; PIŠOT, V. Determination of trace cobalt concentrations in human serum by adsorptive stripping voltammetry. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 17, n. 3, p. 153–158, 2003. [http://doi.org/10.1016/S0946-672X\(03\)80019-6](http://doi.org/10.1016/S0946-672X(03)80019-6)

KARADJOVA, I.; VENELINOV, T. Determination of arsenic and mercury in sunflower oil by electrothermal atomic absorption. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, n.

10, p. 948–953, 2002. <http://doi.org/10.1080/02652030210155387>

KHALED, E.; MOHAMED, G. G.; AWAD, T. Disposal screen-printed carbon paste electrodes for the potentiometric titration of surfactants. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 135, n. 1, p. 74–80, 2008. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2008.07.027>

KIMMEL, D. W.; LEBLANC, G.; MESCHIEVITZ, M. E.; CLIFFEL, D. E. Electrochemical sensors and biosensors. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 2, p. 685–707, 2012. <http://doi.org/10.1021/ac202878q>

KIT-ANAN, W.; OLARNWANICH, A.; SRIPRACHUABWONG, C.; KARUWAN, C.; TUANTRANONT, A.; WISITSORAAT, A.; SRITURAVANICH, W.; PIMPIN, A. Disposable paper-based electrochemical sensor utilizing inkjet-printed Polyaniline modified screen-printed carbon electrode for Ascorbic acid detection. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 685, p. 72–78, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.jelechem.2012.08.039>

KNOTHE, G.; RAZON, L. F. Biodiesel fuels. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 58, p. 36–59, 2017. <http://doi.org/10.1016/j.pecs.2016.08.001>

KNOTHE, G.; STEIDLEY, K. R. The effect of metals and metal oxides on biodiesel oxidative stability from promotion to inhibition. **Fuel Processing Technology**, v. 177, p. 75–80, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.04.009>

KOCH, G.; VARNEY, J.; THOMPSON, N.; MOGHISSI, O.; GOULD, M.; PAYER, J.

International measures of prevention, application, and economics of corrosion technologies study. Disponível em: <http://impact.nace.org/documents/Nace-International-Report.pdf>. Acesso em: 3 mar. 2017.

KOKKINOS, C. AND; ECONOMOU, A. Stripping analysis at bismuth-based electrodes. **Current Analytical Chemistry**, v. 4, n. 3, p. 183–190, 2008. <http://doi.org/10.2174/157341108784911352>

KRÖGER, S.; TURNER, A. P. F. Solvent-resistant carbon electrodes screen printed onto plastic for use in biosensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 347, n. 1–2, p. 9–18, 1997. [http://doi.org/10.1016/S0003-2670\(96\)00634-4](http://doi.org/10.1016/S0003-2670(96)00634-4)

KUPPER, H.; GOTZ, B.; MIJOVILOVICH, A.; KUPPER, F. C.; MEYER-KLAUCKE, W. Complexation and toxicity of copper in higher plants. I. Characterization of copper accumulation, speciation, and toxicity in *Crassula helmsii* as a new copper accumulator. **PLANT PHYSIOLOGY**, v. 151, n. 2, p. 702–714, 2009. <http://doi.org/10.1104/pp.109.139717>

LAMBERT, D. F.; TUROCZY, N. J. Comparison of digestion methods for the determination of selenium in fish tissue by cathodic stripping voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 408, n. 1–2, p. 97–102, 2000. [http://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00795-3](http://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00795-3)

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. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2005.05.028>

LEPRI, F. G.; CHAVES, E. S.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CURTIUS, A. J.; DE OLIVEIRA, L. C. C.; DE CAMPOS, R. C. Determination of trace elements in vegetable oils and biodiesel by atomic spectrometric techniques - A review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 46, n. 3, p. 175–206, 2011. <http://doi.org/10.1080/05704928.2010.529628>

LI, M.; LI, D. W.; XIU, G.; LONG, Y. T. Applications of screen-printed electrodes in current environmental analysis. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 3, n. 1, p. 137–143, 2017. <http://doi.org/10.1016/j.coelec.2017.08.016>

LI, M.; LI, Y. T.; LI, D. W.; LONG, Y. T. Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays-A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 734, p. 31–44, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.018>

LIMA, A. F.; DA COSTA, M. C.; FERREIRA, D. C.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Fast ultrasound-assisted treatment of inorganic fertilizers for mercury determination by atomic absorption spectrometry and microwave-induced plasma spectrometry with the aid of the cold-vapor technique. **Microchemical Journal**, v. 118, p. 40–44, 2015. <http://doi.org/10.1016/j.microc.2014.07.012>

LIN, H. W.; CHANG, C. P.; HWU, W. H.; GER, M. DER. The rheological behaviors of screen-printing pastes. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 197, n. 1–3, p. 284–291, 2008. <http://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2007.06.067>

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: Considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318–1325, 2006. <http://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600029>

MARTINIANO, L. C.; ABRANTES, V. R.; NETO, S. Y.; MARQUES, E. P.; FONSECA, T. C. O.; PAIM, L. L.; SOUZA, A. G.; STRADIOTTO, N. R.; AUCÉLIO, R. Q.; CAVALCANTE, G. H. R.; MARQUES, A. L. B. 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. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.07.002>

MATTHEWS, D. R.; BOWN, E.; WATSON, A.; HOLMAN, R. R.; STEEMSON, J.; HUGHES, S.; SCOTT, D. Pen-Sized digital 30-Second blood glucose meter. **The Lancet**, v. 329, n. 8536, p. 778–779, 1987. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(87\)92802-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(87)92802-9)

MATYSIAK, J.; MALINSKI, Z. 2-(2,4-dihydroxyphenyl)-1,3,4-thiadiazole analogues: Antifungal activity in vitro against Candida species. **Russian journal of bioorganic chemistry**, v. 33, n. 6, p. 640–647, 2007. <http://doi.org/10.1134/S1068162007060106>

MEI, N.; LAI, B.; LIU, J.; MAO, X.; CHEN, G. Speciation of trace mercury impurities in fish oil supplements. **Food Control**, v. 84, p. 221–225, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.001>

METTERS, J. P.; KADARA, R. O.; BANKS, C. E. New directions in screen printed electroanalytical sensors: an overview of recent developments. **The Analyst**, v. 136, n. 6, p. 1067–1076, 2011. <http://doi.org/10.1039/c0an00894j>

MOHAMED, H. M. Screen-printed disposable electrodes: Pharmaceutical applications and recent developments. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 82, p. 1–11, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2016.02.010>

MORALES, D. M.; ARTEAGA, C. C. Determination of the corrosion resistance of SS-304 in synthetic seawater at two temperatures using electrochemical noise and polarization curves. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 11, n. 10, p. 8683–8696, 2016. <http://doi.org/10.20964/2016.10.28>

MORTIER, R. M.; FOX, M. F.; ORSZULIK, S. T. Chemistry and technology of lubricants. In: 3. ed. Dordrecht: Springer, 2010. p. 560. Disponível em: <https://www.springer.com/gp/book/9781402086618>. Acesso em: 18, jul. 2019. <http://doi.org/10.1007/978-1-4020-8662-5>

MUNOZ, R. 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. <http://doi.org/10.1016/j.microc.2004.02.010>

MUNOZ, R. A. A.; CORREIA, P. R. M.; NASCIMENTO, A. N.; SILVA, C. S.; OLIVEIRA, P. V.; ANGNES, L. Electroanalysis of crude oil and petroleum-based fuel for trace metals: Evaluation of different microwave-assisted sample decompositions and stripping techniques. **Energy and Fuels**, v. 21, n. 1, p. 295–302, 2007. <http://doi.org/10.1021/ef0603941>

MUNOZ, R. A. A.; OLIVEIRA, P. V.; ANGNES, L. Combination of ultrasonic extraction and stripping analysis: An effective and reliable way for the determination of Cu and Pb in lubricating oils. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 850–856, 2006. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.06.016>

MUNOZ, R. A. A.; SILVA, C. S.; CORREIA, P. R. M.; OLIVEIRA, P. V.; ANGNES, L. Potentiometric stripping analysis for simultaneous determination of copper and lead in lubricating oils after total digestion in a focused microwave-assisted oven. **Microchimica Acta**, v. 149, n. 3–4, p. 199–204, 2005. <http://doi.org/10.1007/s00604-005-0324-9>

NASCIMENTO, V. B.; ANGNES, L. Eletrodos fabricados por “silk-screen”. **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 614–629, 1998. <http://doi.org/10.1590/S0100-40421998000500014>

NOBRE, A. L. DA R.; MAZO, L. H. Análise potenciométrica de redissolução com ultramicroeletrodos: fundamentos e aplicações na determinação de metais traços. **Química Nova**, v. 20, n. 4, 1997. <http://doi.org/10.1590/S0100-40421997000400012>

NUPE IQ-UFU. **BIASPE Cell - A Portable Electrochemical System for On-site Analysis.** - **YouTube.** Disponível em:

https://www.youtube.com/watch?v=oe0G2RA_t4o. Acesso em: 25 out. 2018a.

NUPE IQ-UFU. **BIASPE Cell - A Portable Electrochemical System for On-site Analysis.** - **YouTube.** Disponível em:

https://www.youtube.com/watch?v=j2XqLr_CyXk. Acesso em: 25 out. 2018b.

OLIVARES-XOMETL, O.; LIKHANOVA, N. V; NAVA, N.; PRIETO, A. C.; LIJANOVA, I. V; ESCOBEDO-MORALES, A.; LÓPEZ-AGUILAR, C. Thiadiazoles as corrosion inhibitors for carbon steel in H₂SO₄ solutions. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 8, n. 1, p. 735–752, 2013.

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. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.064>

OMANOVIĆ, D.; GARNIER, C.; LOUIS, Y.; LENOBLE, V.; MOUNIER, S.; PIŽETA, I. Significance of data treatment and experimental setup on the determination of copper complexing parameters by anodic stripping voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 664, n. 2, p. 136–143, 2010. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2010.02.008>

PACHECO, B. D.; VALÉRIO, J.; ANGNES, L.; PEDROTTI, J. J. Fast batch injection analysis of H₂O₂ using an array of Pt-modified gold microelectrodes obtained from split electronic chips. **Analytica Chimica Acta**, v. 696, n. 1–2, p. 53–58, 2011.
<http://doi.org/10.1016/j.aca.2011.04.004>

PÉREZ-RÀFOLS, C.; SERRANO, N.; DÍAZ-CRUZ, J. M.; ARIÑO, C.; ESTEBAN, M. A screen-printed voltammetric electronic tongue for the analysis of complex mixtures of metal ions. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 250, p. 393–401, 2017a.
<http://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.165>

PÉREZ-RÀFOLS, C.; TRECHERA, P.; SERRANO, N.; DÍAZ-CRUZ, J. M.; ARIÑO, C.; ESTEBAN, M. Determination of Pd(II) using an antimony film coated on a screen-printed electrode by adsorptive stripping voltammetry. **Talanta**, v. 167, p. 1–7, 2017b.
<http://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.01.084>

PICART, S. Electrochemical study of 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole in acetonitrile. **Journal of electroanalytical chemistry**, v. 408, n. 1–2, p. 53–60, maio 1996.
[http://doi.org/10.1016/0022-0728\(95\)04460-4](http://doi.org/10.1016/0022-0728(95)04460-4)

PILLAY, A. E.; ELKADI, M.; FOK, S. C.; STEPHEN, S.; MANUEL, J.; KHAN, M. Z.; UNNITHAN, S. A comparison of trace metal profiles of neem biodiesel and commercial biofuels using high performance ICP-MS. **Fuel**, v. 97, p. 385–389, jul. 2012.
<http://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.02.040>

PINILLA GIL, E.; OSTAPCZUK, P. Potentiometric stripping determination of mercury(II), selenium(IV), copper(II) and lead(II) at a gold film electrode in water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 293, n. 1–2, p. 55–65, 1994. [http://doi.org/10.1016/0003-2670\(94\)00075-1](http://doi.org/10.1016/0003-2670(94)00075-1)

PINTO, L.; LEMOS, S. G. Multivariate optimization of the voltammetric determination of Cd, Cu, Pb and Zn at bismuth film. Application to analysis of biodiesel. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 417–424, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.microc.2013.05.012>

PONTES, F. V. M.; CARNEIRO, M. C.; VAITSMAN, D. S.; MONTEIRO, M. I. C.; NETO, A. A.; TRISTÃO, M. L. B.; GUERRANTE, M. DE F. Comparative study of sample decomposition methods for the determination of total Hg in crude oil and related products. **Fuel Processing Technology**, v. 106, p. 122–126, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.fuproc.2012.07.011>

PRIVETT, B. J.; SHIN, J. H.; SCHOENFISCH, M. H. Electrochemical Sensors. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 12, p. 4499–4517, 2008. <http://doi.org/10.1021/ac8007219>

QIN, T. T.; LI, J.; LUO, H. Q.; LI, M.; LI, N. B. Corrosion inhibition of copper by 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole monolayer in acidic solution. **Corrosion Science**, v. 53, n. 3, p. 1072–1078, 2011. <http://doi.org/10.1016/j.corsci.2010.12.002>

QUADROS, D. P. C.; RAU, M.; IDREES, M.; CHAVES, E. S.; CURTIUS, A. J.; BORGES, D. L. G. 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. <http://doi.org/10.1016/j.sab.2011.04.002>

QUINTINO, M. S. M.; ANGNES, L. Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool. **Electroanalysis**, v. 16, n. 7, p. 513–523, 2004. <http://doi.org/10.1002/elan.200302878>

QUINTINO, M. S. M.; ARAKI, K.; TOMA, H. E.; ANGNES, L. Batch injection analysis utilizing modified electrodes with tetra-ruthenated porphyrin films for acetaminophen quantification. **Electroanalysis**, v. 14, n. 23, p. 1629–1634, dez. 2002. <http://doi.org/10.1002/elan.200290003>

RANA, S.; MITTAL, S. K.; SINGH, N.; SINGH, J.; BANKS, C. E. Schiff base modified screen printed electrode for selective determination of aluminium(III) at trace level. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 239, p. 17–27, 2017. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2016.07.133>

RASHED, M. M.; MASJUKI, H. H.; KALAM, M. A.; ALABDULKAREM, A.; RAHMAN, M. M.; IMDADUL, H. K.; RASHEDUL, H. K. Study of the oxidation stability and exhaust emission analysis of Moringa olifera biodiesel in a multi-cylinder diesel engine with aromatic amine antioxidants. **Renewable Energy**, v. 94, p. 294–303, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.043>

RASZEWSKI, G.; JUSZCZAK, M.; LEMIESZEK, M. K.; MATYSIAK, J.; NIEWIADOMY, A.; RZESKI, W. A simple HPLC method for determining 2-(3-chlorophenylamino)-5-(2,4-dihydroxyphenyl)-1,3,4-thiadiazole in brain and plasma of animals: Application to a pharmacokinetic study. **Acta Chromatographica**, v. 26, n. 2, p. 255–266, 2014. <http://doi.org/10.1556/AChrom.26.2014.2.5>

RENEDO, O. D.; ALONSO-LOMILLO, M. A.; MARTÍNEZ, M. J. A. Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications. **Talanta**, v. 73, n. 2, p. 202–219, 15 set. 2007. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.03.050>

RICHTER, E. M.; TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; SILVA, W. P.; PÉREZ-JUNQUERA, A.; FANJUL-BOLADO, P.; HERNÁNDEZ-SANTOS, D.; MUÑOZ, R. A. A compact batch injection analysis cell for screen printed electrodes: A portable electrochemical system for on-site analysis. **Electroanalysis**, v. 28, n. 8, p. 1856–1859, 2016. <http://doi.org/10.1002/elan.201600008>

ROCHA, D. P.; CARDOSO, R. M.; TORMIN, T. F.; DE ARAUJO, W. R.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M.; ANGNES, L. Batch-injection analysis better than ever: New materials for improved electrochemical detection and on-site applications. **Electroanalysis**, v. 30, n. 7, p. 1386–1399, 2018. <http://doi.org/10.1002/elan.201800042>

RUEDA-HOLGADO, F.; BERNALTE, E.; PALOMO-MARÍN, M. R.; CALVO-BLÁZQUEZ, L.; CERECEDA-BALIC, F.; PINILLA-GIL, E. Miniaturized voltammetric stripping on screen printed gold electrodes for field determination of copper in

atmospheric deposition. **Talanta**, v. 101, p. 435–439, 2012.
<http://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.09.054>

RŮŽIČKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analysis. Part X. theory, techniques and trends. **Analytica Chimica Acta**, v. 99, n. 1, p. 37–76, 1978.
[http://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)84498-6](http://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)84498-6)

RYAN, B. M.; KIRBY, J. K.; DEGRYSE, F.; HARRIS, H.; MCLAUGHLIN, M. J.; SCHEIDERICH, K. Copper speciation and isotopic fractionation in plants: Uptake and translocation mechanisms. **New Phytologist**, v. 199, n. 2, p. 367–378, 2013.
<http://doi.org/10.1111/nph.12276>

SAJJADI, B.; RAMAN, A. A. A.; ARANDIYAN, H. A comprehensive review on properties of edible and non-edible vegetable oil-based biodiesel: Composition, specifications and prediction models. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 63, p. 62–92, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2016.05.035>

SALUJA, R. K.; KUMAR, V.; SHAM, R. Stability of biodiesel – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 62, p. 166–181, 2016.
<http://doi.org/10.1016/j.rser.2016.05.001>

SÁNCHEZ, R.; SÁNCHEZ, C.; LIENEMANN, C. P.; TODOLÍ, J. L. Metal and metalloid determination in biodiesel and bioethanol. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 30, n. 1, p. 64–101, 2015. <http://doi.org/10.1039/c4ja00202d>

SÁNCHEZ URÍA, J. E.; SANZ-MEDEL, A. Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples. **Talanta**, v. 47, n. 3, p. 509–524, 1998. [http://doi.org/10.1016/S0039-9140\(98\)00116-7](http://doi.org/10.1016/S0039-9140(98)00116-7)

SANTOS, A. L.; TAKEUCHI, R. M.; MUÑOZ, R. A. A.; ANGNES, L.; STRADIOTTO, N. R. Electrochemical determination of organic compounds in automotive fuels. **Electroanalysis**, v. 26, n. 2, p. 233–242, 2014. <http://doi.org/10.1002/elan.201300535>

SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SARIN, R.; MALHOTRA, R. K.; SHARMA, M.; KHAN, A. A. Synergistic effect of metal deactivator and antioxidant on oxidation stability of metal contaminated Jatropha biodiesel. **Energy**, v. 35, n. 5, p. 2333–2337, 2010a. <http://doi.org/10.1016/j.energy.2010.02.032>

SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SARIN, R.; SHARMA, M.; MALHOTRA, R. K. Effect of metal contaminants and antioxidants on the oxidation stability of the methyl ester of pongamia. **JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, n. 5, p. 567–572, 2010b. <http://doi.org/10.1007/s11746-009-1530-0>

SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SHARMA, M.; MALHOTRA, R. K. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. **Energy**, v. 34, n. 9, p. 1271–1275, 2009. <http://doi.org/10.1016/j.energy.2009.05.018>

SAZZAD, B. S.; FAZAL, M. A.; HASEEB, A. S. M. A.; MASJUKI, H. H. Retardation of oxidation and material degradation in biodiesel: a review. **RSC Advances**, v. 6, n. 65, p. 60244–60263, 2016. <http://doi.org/10.1039/C6RA10016C>

SERRANO, N.; ALBERICH, A.; DÍAZ-CRUZ, J. M.; ARIÑO, C.; ESTEBAN, M. Coating methods, modifiers and applications of bismuth screen-printed electrodes. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 46, p. 15–29, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2013.01.012>

SHARMA, S.; SINGH, N.; TOMAR, V.; CHANDRA, R. A review on electrochemical detection of serotonin based on surface modified electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 107, p. 76–93, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.bios.2018.02.013>

SHOUJI, E.; YOKOYAMA, Y.; POPE, J. M.; OYAMA, N.; BUTTRY, D. A. Electrochemical and spectroscopic investigation of the influence of acid-base chemistry on the redox Properties of 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 101, n. 15, p. 2861–2866, 1997. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1021/jp962704u>

SHU, D.; ZHANG, J.; HE, C.; MENG, Y.; CHEN, H.; ZHANG, Y.; ZHENG, M. Improved electrochemical redox performance of 2,5-dimercapto-1,3,4- thiadiazole by poly(3-methoxythiophene). **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 36, n. 12, p. 1427–1431, 2006. <http://doi.org/10.1007/s10800-006-9246-4>

SILVA, R. A. B.; MONTES, R. H. O.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection. **Food Chemistry**, v. 133, n. 1, p. 200–204, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.003>

SQUISSATO, A. L.; ALMEIDA, E. S.; SILVA, S. G.; RICHTER, E. M.; BATISTA, A. D.; MUNOZ, R. A. A. Screen-printed electrodes for quality control of liquid (Bio)fuels. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 108, p. 210–220, 2018a. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.024>

SQUISSATO, A. L.; LIMA, A. F.; ALMEIDA, E. S.; PASQUINI, D.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Eucalyptus pulp as an adsorbent for metal removal from biodiesel. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 1–5, 2017. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.004>

SQUISSATO, A. L.; NERI, T. S.; COELHO, N. M. M.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. In situ electrochemical determination of free Cu(II) ions in biodiesel using screen-printed electrodes: Direct correlation with oxidation stability. **Fuel**, v. 234, p. 1452–1458, dez. 2018b. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.08.027>

STEFANO, J. S.; CORDEIRO, D. S.; MARRA, M. C.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Batch-injection versus Flow-injection analysis using screen-printed electrodes: Determination of Ciprofloxacin in pharmaceutical formulations. **Electroanalysis**, v. 28, n. 2, p. 350–357, 2016. <http://doi.org/10.1002/elan.201500325>

STEFANO, J. S.; PAULA DE LIMA, A.; MONTES, R. H. O.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A. Fast determination of naproxen in pharmaceutical formulations by batch injection analysis with pulsed amperometric detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 10, p. 1834–1838, 2012. <http://doi.org/10.1590/S0103-50532012005000055>

STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Review Electrochemical Sensors : A Powerful Tool in Analytical Chemistry. **J.Braz.Chem.Aoc.**, v. 14, n. 2, p. 159–173, 2003. <http://doi.org/doi: 10.1590/S0103-50532003000200003>

TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L.; MEDEIROS, M. J.; STRADIOTTO, N. R. 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. <http://doi.org/10.1007/s00604-008-0039-9>

TALEAT, Z.; KHOSHROO, A.; MAZLOUM-ARDAKANI, M. Screen-printed electrodes for biosensing: a review (2008–2013). **Microchimica Acta**, v. 181, n. 9–10, p. 865–891, 2014. <http://doi.org/10.1007/s00604-014-1181-1>

TALEBIAN-KIAKALAIEH, A.; AMIN, N. A. S.; MAZAHERI, H. A review on novel processes of biodiesel production from waste cooking oil. **Applied Energy**, v. 104, p. 683–710, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.11.061>

TAYLOR, D. B.; SYNOVEC, R. E. Chromatographic determination of copper speciation in jet fuel. **Talanta**, v. 40, n. 4, p. 495–501, 1993. [http://doi.org/10.1016/0039-9140\(93\)80006-D](http://doi.org/10.1016/0039-9140(93)80006-D)

THIYAGARAJAN, N.; CHANG, J.-L.; SENTHILKUMAR, K.; ZEN, J.-M. Disposable electrochemical sensors: A mini review. **Electrochemistry Communications**, v. 38, p. 86–90, 2014. <http://doi.org/10.1016/j.elecom.2013.11.016>

TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; DA 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. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2014.04.096>

TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amperometric detection. **Talanta**, v. 99, p. 527–531, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.06.024>

TORMIN, T. F.; GIMENES, D. T.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection. **Talanta**, v. 85, n. 3, p. 1274–1278, set. 2011. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.06.008>

TORMIN, T. F.; GIMENES, D. T.; SILVA, L. G.; RUGGIERO, R.; RICHTER, E. M.; FERREIRA, V. S.; MUÑOZ, R. A. A. Direct amperometric determination of tert-butylhydroquinone in biodiesel. **Talanta**, v. 82, n. 4, p. 1599–1603, 2010. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.07.011>

TORMIN, T. F.; OLIVEIRA, G. K. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Voltammetric determination of Pb, Cu and Hg in biodiesel using gold screen-printed electrode: Comparison of batch-injection analysis with conventional electrochemical systems. **Electroanalysis**, v. 28, n. 5, p. 940–946, 2016. <http://doi.org/10.1002/elan.201501012>

TRACHIOTI, M. G.; HRBAC, J.; PRODRUMIDIS, M. I. Determination of Cd and Zn with “green” screen-printed electrodes modified with instantly prepared sparked tin nanoparticles. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 260, p. 1076–1083, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2017.10.039>

TROJANOWICZ, M. Recent developments in electrochemical flow detections-A review Part II. Liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 688, n. 1, p. 8–35, 2011. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2010.12.024>

TROJANOWICZ, M. Impact of nanotechnology on design of advanced screen-printed electrodes for different analytical applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 84, p. 22–47, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2016.03.027>

UGO, P.; ZAMPIERI, S.; MORETTO, L. M.; PAOLUCCI, D. Determination of mercury in process and lagoon waters by inductively coupled plasma-mass spectrometric analysis after electrochemical preconcentration: comparison with anodic stripping at gold and polymer coated electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 434, p. 291–300, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)00838-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)00838-8)

VAN DER WESTHUIZEN, I.; FOCKE, W. W. Stabilizing sunflower biodiesel with synthetic antioxidant blends. **Fuel**, v. 219, p. 126–131, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.01.086>

VARATHARAJAN, K.; PUSHPARANI, D. S. 1Screening of antioxidant additives for biodiesel fuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2017–2028, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2017.07.020>

VENKATA KRISHNA RAO, R.; VENKATA ABHINAV, K.; KARTHIK, P. S.; SINGH, S. P. Conductive silver inks and their applications in printed and flexible electronics. **RSC Advances**, v. 5, n. 95, p. 77760–77790, 2015. <http://doi.org/10.1080/19012276.2016.1198271>

VUILLEMIN, R.; LE ROUX, D.; DORVAL, P.; BUCAS, K.; SUDREAU, J. P.; HAMON, M.; LE GALL, C.; SARRADIN, P. M. CHEMINI: A new in situ CHEmical MINiaturized analyzer. **Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, v. 56, n. 8, p. 1391–1399, 2009. <http://doi.org/10.1016/j.dsr.2009.02.002>

WAN, H.; SUN, Q.; LI, H.; SUN, F.; HU, N.; WANG, P. Screen-printed gold electrode with gold nanoparticles modification for simultaneous electrochemical determination of lead and copper. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 209, p. 336–342, 2015. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.127>

WANG, J. Portable electrochemical systems. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 226–232, 2002. [http://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00402-8](http://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00402-8)

WANG, J. Stripping analysis at bismuth electrodes: A review. **Electroanalysis**, v. 17, n. 15–16, p. 1341–1346, 2005. <http://doi.org/10.1002/elan.200403270>

WANG, J. Stripping Analysis. In: **Encyclopedia of Electrochemistry**. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007. p. 125–133.
<https://doi.org/10.1002/9783527610426.bard030203>

WANG, J.; CHEN, L.; ANGNES, L.; TIAN, B. Computerized pipettes with programmable dispensation. **Analytica Chimica Acta**, v. 267, n. 1, p. 171–177, 1992.
[http://doi.org/10.1016/0003-2670\(92\)85020-7](http://doi.org/10.1016/0003-2670(92)85020-7)

WANG, J.; MUSAMEH, M. Carbon nanotube screen-printed electrochemical sensors. **Analyst**, v. 129, n. 1, p. 1–2, 2004. <http://doi.org/10.1039/b313431h>

WANG, J.; TAHA, Z. Batch injection analysis. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 10, p. 1053–1056, 1991a. <http://doi.org/10.1021/ac00010a025>

WANG, J.; TAHA, Z. Batch injection with potentiometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 252, n. 1–2, p. 215–221, 1991b. [http://doi.org/10.1016/0003-2670\(91\)87218-V](http://doi.org/10.1016/0003-2670(91)87218-V)

WANG, J.; TAHA, Z. Batch injection analysis with thermistor sensing devices. **Analytical Letters**, v. 24, n. 8, p. 1389–1400, 1991c.
<http://doi.org/10.1080/00032719108052979>

WANG, J.; TIAN, B. Screen-printed stripping voltammetric/potentiometric electrodes for decentralized testing of trace lead. **Analytical Chemistry**, v. 64, n. 15, p. 1706–1709, 1992. <http://doi.org/10.1021/ac00039a015>

WANG, J.; TIAN, B.; NASCIMENTO, V. B.; ANGNES, L. Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks. **Electrochimica Acta**, v. 43, n. 23, p. 3459–3465, 1998. [http://doi.org/10.1016/S0013-4686\(98\)00092-9](http://doi.org/10.1016/S0013-4686(98)00092-9)

WANG, J.; TIAN, B.; WANG, J.; LU, J.; OLSEN, C.; YARNITZKY, C.; OLSEN, K.; HAMMERSTROM, D.; BENNETT, W. Stripping analysis into the 21st century: Faster, smaller, cheaper, simpler and better. **Analytica Chimica Acta**, v. 385, n. 1–3, p. 429–435, 1999. [http://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00664-3](http://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00664-3)

WANG, J.; WANG, J.; ADENIYI, W. K.; KOUNAVES, S. P. Adsorptive stripping analysis of trace nickel at iridium-based ultramicroelectrode arrays. **Electroanalysis**, v. 12, n. 1, p. 44–47, 2000. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(20000101\)12:1<44::AID-ELAN44>3.0.CO;2-4](http://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(20000101)12:1<44::AID-ELAN44>3.0.CO;2-4)

WANG, J.; WANG, J.; LI, C.; ZHAO, G.; WANG, X. A study of 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole derivatives as multifunctional additives in water-based hydraulic fluid. **Industrial Lubrication and Tribology**, v. 66, n. 3, p. 402–410, 2014. <http://doi.org/10.1108/ilt-11-2011-0094>

WARD JONES, S. E.; CHEVALLIER, F. G.; PADDON, C. A.; COMPTON, R. G. General theory of cathodic and anodic stripping voltammetry at solid electrodes: Mathematical modeling and numerical simulations. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 11, p. 4110–4119, 2007. <http://doi.org/10.1021/ac070046b>

WINDMILLER, J. R.; WANG, J. Wearable Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review. **Electroanalysis**, v. 25, n. 1, p. 29–46, 2013. <http://doi.org/10.1002/elan.201200349>

WRING, S. A.; HART, J. P. Chemically modified, screen-printed carbon electrodes. **The Analyst**, v. 117, n. 8, p. 1281–1286, 1992. <http://doi.org/10.1039/an9921701281>

XIN, J.; IMAHARA, H.; SAKA, S. Kinetics on the oxidation of biodiesel stabilized with antioxidant. **Fuel**, v. 88, n. 2, p. 282–286, 2009. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2008.08.018>

XUE, W.; XU, X.; MA, W.; LI, T.; ZHOU, X.; WANG, P. Synthesis and properties of thiadiazole lubricant additives. **Industrial Lubrication and Tribology**, v. 69, n. 6, p. 891–896, 2017. <http://doi.org/10.1108/ILT-04-2016-0082>

YAAKOB, Z.; NARAYANAN, B. N.; PADIKKAPARAMBIL, S.; UNNI K., S.; AKBAR P., M. A review on the oxidation stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 136–153, 2014. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.055>

YADAV, M.; SHARMA, D. Inhibition of corrosion of copper by 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole in 3.5% NaCl solution. **Indian Journal of Chemical Technology**, v. 17, n. 2, p. 95–101, 2010.

YAO, C. H.; JIANG, S. J.; SAHAYAM, A. C.; HUANG, Y. L. Speciation of mercury in fish oils using liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 556–560, 2017. <http://doi.org/10.1016/j.microc.2017.04.034>

YAO, Y.; WU, H.; PING, J. Simultaneous determination of Cd(II) and Pb(II) ions in honey and milk samples using a single-walled carbon nanohorns modified screen-printed electrochemical sensor. **Food Chemistry**, v. 274, p. 8–15, 2019. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.110>

YE, S.; BELANGER, D. Electrochemical and in situ spectroelectrochemical study on polypyrrole/disulfide composite electrode. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 141, n. 4, p. L49, 1994. <http://doi.org/10.1149/1.2054876>

YUAN, X.; LENG, L.; HUANG, H.; CHEN, X.; WANG, H.; XIAO, Z.; ZHAI, Y.; CHEN, H.; ZENG, G. Speciation and environmental risk assessment of heavy metal in bio-oil from liquefaction/pyrolysis of sewage sludge. **Chemosphere**, v. 120, p. 645–652, 2015. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.010>

ZAIB, M.; ATHAR, M. M.; SAEED, A.; FAROOQ, U. Electrochemical determination of inorganic mercury and arsenic-A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 74, p. 895–908, 2015. <http://doi.org/10.1016/j.bios.2015.07.058>

ZULETA, E. C.; BAENA, L.; RIOS, L. A.; CALDERÓN, J. A. The oxidative stability of biodiesel and its impact on the deterioration of metallic and polymeric materials: A

review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 12, p. 2159–2175, 2012.

<http://doi.org/10.1590/S0103-50532012001200004>