



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

NÉLIO INÁCIO GRAVATA INOQUE

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROANALÍTICOS UTILIZANDO
SENSOR ELETROQUÍMICO FABRICADO POR IMPRESSÃO 3D PARA A
DETERMINAÇÃO DE ANTIOXIDANTES EM BIOCOMBUSTÍVEIS**

UBERLÂNDIA

2022

NÉLIO INÁCIO GRAVATA INOQUE

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROANALÍTICOS UTILIZANDO
SENSOR ELETROQUÍMICO FABRICADO POR IMPRESSÃO 3D PARA A
DETERMINAÇÃO DE ANTIOXIDANTES EM BIOCOMBUSTÍVEIS**

Dissertação de Mestrado defendida no Programa de Pós-Graduação em Química, no Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Eletroquímica Aplicada

Orientador: Prof. Doutor Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Coorientador: Dr. Lucas Vinícius de Faria

UBERLÂNDIA

2022

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

I58 Inoque, Nélio Inácio Gravata, 1989-
2022 Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos
utilizando sensor eletroquímico fabricado por
impressão 3D para a determinação de
antioxidantes em biocombustíveis [recurso
eletrônico] / Nélio Inácio Gravata Inoque. -
2022.

Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz.

Coorientador: Lucas Vinícius de Faria.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.301>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Química. I. Muñoz, Rodrigo Alejandro
Abarza ,1980-, (Orient.). II. Faria, Lucas Vinícius
de,1991-, (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
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 343, PPGQUI				
Data:	Quinze de junho de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	9:00	Hora de encerramento:	11:05
Matrícula do Discente:	12112QMI026				
Nome do Discente:	Nélio Inácio Gravata Inoque				
Título do Trabalho:	Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos utilizando sensor eletroquímico fabricado por impressão 3D para a determinação de antioxidantes em biocombustíveis				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Eletroquímica Aplicada				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Desenvolvimento e fabricação de dispositivos eletroquímicos usando impressão 3D				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Google Meet, link <https://meet.google.com/ejf-zhwa-gsc>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Iranaldo Santos Silva, da Universidade Federal do Maranhão; Rafael Machado Dornellas, da Universidade Federal Fluminense e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, 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.

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

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 15/06/2022, às 11:00, 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 **Rafael Machado Dornellas, Usuário Externo**, em 15/06/2022, às 11:16, 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 **Iranaldo Santos da Silva, Usuário Externo**, em 15/06/2022, às 11:16, 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 **3616352** e o código CRC **B57D2E23**.

*“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos ignoramos alguma coisa. **Por isso aprendemos sempre.**”*

Paulo Freire

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação à minha filha, Nelmira Nélio Gravata e à minha esposa, Palmira Massaite.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus pela vida, proteção e ajuda de enfrentar os desafios da vida.

Ao governo de Moçambique, em particular ao setor de Educação em Sussundenga, por ter me concedido uma oportunidade de continuação de estudo no estrangeiro (Brasil).

Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia pelo espaço concedido para uma aprendizagem.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz pelos conhecimentos e experiências transmitidos e pela paciência e vontade que teve em fornecer bases científicas durante o meu percurso acadêmico.

Ao meu coorientador, Dr. Lucas Vinícius de Faria pelos ensinamentos, disposição na construção do conhecimento e todo apoio prestado.

Aos professores do IQ-UFU, Eduardo Mathias Richter, André Luís dos Santos, Sidnei Gonçalves da Silva, Regina Massako Takeuchi, Waldomiro Borges Neto, Rodrigo Amorim Bezerra da Silva e João Flávio Petrucci pelos ensinamentos e experiências transmitidos que contribuíram para o meu crescimento científico e profissional.

À Mayta, secretária do Programa de Pós-graduação em Química pela colaboração e facultações de informações relevantes.

À direção da Escola Secundária de Sussundenga pelo apoio e constantes incentivos.

Ao colega Afonso Filipe João pelas experiências transmitidas e apoio prestado nos momentos iniciais do meu mestrado, o que contribuiu bastante na minha rápida adaptação no grupo NUPE.

Aos demais colegas do NUPE, Sílvia, Raquel, Jian, Michele, David, Tiago Matias, Mayane, Gilvana, Waleska, Anastácio Boane e Marina pelas valiosas contribuições, pela dedicação e pelo encorajamento para fazer este trabalho.

A toda minha família pelo amor e paciência de suportar a minha ausência durante o mestrado.

Aos conterrâneos Carlos Alface, Alegre Cadeado, Baltazar Vasco Siteo, Elina Langa e Olavo Alberto Deniase pelo encorajamento e apoio moral.

RESUMO

A baixa estabilidade oxidativa é uma das desvantagens de biodiesel e bioquerosene, que pode ser superada pelo uso de antioxidantes. Estes antioxidantes (compostos fenólicos) podem ser combinados devido aos efeitos sinérgicos. Esta dissertação demonstra que os dispositivos eletroquímicos impressos em 3D podem ser aplicados para eletroanálise de biocombustíveis, incluindo o monitoramento da estabilidade oxidativa dos biocombustíveis (um dos parâmetros de controle de qualidade), por meio da quantificação de antioxidantes em biocombustíveis. Foram fabricados eletrodos de trabalho usando a impressora 3D (eletrodo planar) e a caneta 3D (eletrodo cilíndrico), ambos produzidos com filamento polimérico contendo negro de fumo e ácido polilático (CB-PLA). A caneta 3D foi usada para imprimir a parte condutiva do eletrodo de trabalho cilíndrico usando o filamento condutor CB-PLA no corpo cilíndrico impresso, previamente munido do fio de cobre. O eletrodo cilíndrico foi usado em experimentos voltamétricos e o planar foi usado em experimentos amperométricos. Fez-se a investigação do comportamento eletroquímico de várias espécies antioxidantes, terc-butil-hidroquinona (TBHQ), butil hidróxi-anisol (BHA), 2,6-di-terc-butil fenol (2,6-DTBP), pirogalol (PY), catecol, hidroquinona, propil galato, octil galato, dopamina e ácido gálico em eletrodo CB-PLA impresso em 3D. Experimentos por voltametria cíclica demonstraram que o tratamento eletroquímico da superfície do eletrodo em solução aquosa de NaOH ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) é uma importante estratégia para melhorar a atividade eletroquímica para oxidação dos antioxidantes. Os antioxidantes TBHQ, BHA, PY e 2,6-DTBP foram selecionados para avaliar o desempenho analítico do sensor impresso em 3D. A determinação simultânea de TBHQ e BHA em biodiesel, por voltametria de pulso diferencial (DPV), resultou numa faixa linear de 0,5 a $175 \mu\text{mol L}^{-1}$ com limites de detecção de 0,21 e $0,19 \mu\text{mol L}^{-1}$ para TBHQ e BHA, respectivamente. Além disso, foi desenvolvido um método simples e rápido utilizando a análise por injeção em batelada com detecção amperométrica para determinar o PY, onde obteve-se uma detectabilidade adequada ($LD = 0,20 \mu\text{mol L}^{-1}$) e ampla faixa linear ($0,5 - 300 \mu\text{mol L}^{-1}$). A determinação de 2,6-DTBP em bioquerosene foi realizada por voltametria cíclica. Todos os desvios padrão relativos (inter-eletrodos e inter-dias) foram menores que 6,0 % indicando precisão adequada dos métodos propostos. Os valores de recuperação para as aplicações em amostras de biodiesel e bioquerosene variaram de 82 a 119%, atestando ausência de efeito de matriz e exatidão boa. De maneira geral, os métodos propostos são rápidos, de custo baixo e com portabilidade adequada visando aplicações em campo no controle de qualidade de biocombustíveis.

Palavras-chave: Impressão 3D; negro de fumo/ácido polilático; biodiesel; bioquerosene; antioxidantes; voltametria de pulso diferencial; análise por injeção em batelada.

ABSTRACT

Low oxidation stability is the main drawback of biodiesels and biokerosenes that is overcome by using antioxidants. These antioxidants (phenolic compounds) can be combined due to synergistic effects. This dissertation presents the potential demonstration that 3D printed electrochemical devices can be applied for electroanalysis of biofuels, including the monitoring of oxidation stability (one of the quality control parameters) by quantifying the antioxidant in biofuels. Working electrodes were manufactured using a 3D printer (a planar electrode) and a 3D pen (a cylindrical electrode), both manufactured with polymeric filament containing carbon black and acid polylactic (CB-PLA). The 3D pen was used to print the conductive part of the cylindrical electrode using the CB-PLA conductive filament on the printed cylindrical body, previously equipped with the copper wire. The cylindrical electrode was used in voltammetric experiments and the planar design was used in amperometric experiments. The electrochemical behavior of several antioxidant species was investigated, including tert-butyl-hydroquinone (TBHQ), butyl hydroxyanisole (BHA), 2,6-di-tert-butyl phenol (2,6-DTBP), pyrogallol (PY), catechol, hydroquinone, propyl gallate, octyl gallate, dopamine and galic acid on 3D printed CB-PLA electrode. Cyclic voltammetry experiments demonstrated that electrochemical treatment of the electrode surface in aqueous solution NaOH (0.5 mol L^{-1}) is an important strategy to improve the electrochemical activity for oxidation of antioxidants. TBHQ, BHA, 2,6-DTBP and PY were selected for evaluation of the 3D printed sensor analytical performance. The simultaneous voltammetric determination of TBHQ and BHA in biodiesel by differential-pulse voltammetry resulted in linear responses in the range of 0.5 and $175 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ with limits of detection of 0.21 and $0.19 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ for TBHQ and BHA, respectively. In addition, a fast and simple method using batch-injection analysis with amperometric detection (BIA-AD) for PY determination has been developed, which showed adequate detectability ($\text{LOD} = 0.20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) and wide linear range ($0.5 \text{ to } 300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$). The determination of 2,6-DTBP in biokerosene was achieved by cyclic voltammetry. All relative standard deviations (inter-electrode and inter-day) were lower than 6.0 %, indicating adequate precision. The recovery values for applications in biodiesel and biokerosene samples range from 82 to 119 %, testing to absence of matrix effect and good accuracy. In general, the proposed methods are easy, fast and with adequate portability aiming at field applications in the quality control of biofuels.

Keywords: 3D printing; antioxidants; carbon black/polylactic acid; biodiesel; biokerosene, differential pulse voltammetry; batch-injection analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo de produção de biodiesel: Reação de transesterificação do triacilglicerol com metanol, onde R1, R2 e R3 são cadeias carbônicas de ácidos graxos.	24
Figura 2 - Evolução do percentual do teor de biodiesel presente no diesel fóssil no Brasil. ...	25
Figura 3 - Mecanismo de auto-oxidação. RH - ácido graxo insaturado; R' - radical livre; ROO' - radical peróxido e ROOH – hidroperóxido.	26
Figura 4 - Mecanismo de ação dos antioxidantes.....	27
Figura 5 - Fórmulas estruturais de alguns compostos fenólicos (antioxidantes).....	27
Figura 6 - (A) Aparelho Rancimat da Metrohm e (B) Esquema do teste Rancimat.....	28
Figura 7 - Processo de obtenção de bioquerosene.....	30
Figura 8 - Mecanismo de oxidação eletroquímica de TBHQ, formando terc-butil quinona (TBQ).....	34
Figura 9 - Mecanismo de oxidação eletroquímica de BHA, formando terc-butil quinona (TBQ).	35
Figura 10 - Oxidação eletroquímica do PY formando 3-hidroxi-1, 2-benzoquinona.	36
Figura 11 - (A) Configuração de um sistema envolvendo três eletrodos: eletrodo de trabalho (WE), eletrodo de referência (RE) e contra-eletrodo (CE) e (B) Sistema potenciostático com três eletrodos.....	37
Figura 12 - Aplicação do potencial para a voltametria cíclica: (A) potencial com varredura linear; (B) potencial do tipo escada e (C) voltamograma obtido para um sistema reversível. .	38
Figura 13 - (A) Sinais de excitação para voltametria de pulso diferencial e (B) Forma característica de um voltamograma (DPV).	39
Figura 14 - Célula eletroquímica para utilização do sistema BIA.....	41

Figura 15 - Ilustração do processo de injeção do analito pelo sistema BIA mostrando as fases de variação de corrente em relação à presença de amostra na superfície do eletrodo.....42

Figura 16 - Descrição do equipamento básico usado nas medidas analíticas: (A) Sistema BIA; (B) Célula eletroquímica usada em experimentos voltamétricos; (C) Eletrodos usados; (a) micropipeta eletrônica Eppendorf; (b) potenciostato / galvanostato μ -AUTOLAB tipo III; (c) computador e software; (d) agitador; (e) célula eletroquímica (BIA); (f) eletrodo de trabalho (planar); (g) eletrodo de trabalho (cilíndrico); (h) eletrodo de referência e (i) eletrodo auxiliar.47

Figura 17 - Componentes da caneta 3D e seu uso na produção de eletrodo.50

Figura 18 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície do eletrodo CB-PLA antes (A) e depois (B) do tratamento eletroquímico usando NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ($+1,4 \text{ V} / 200 \text{ s}$ e $-1,0 \text{ V} / 200 \text{ s}$); (C) Gráfico de Nyquist de impedância para eletrodo não tratado (linha vermelha) e tratado (linha azul) adquirido na presença do par redox $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$); (D) Voltamogramas cíclicos para $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. 54

Figura 19 - Registros voltamétricos cíclicos obtidos para $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no eletrodo CB-PLA não tratado (A) e tratado (C) em diferentes velocidades de varredura ($0,01$ a $0,1 \text{ V s}^{-1}$). (B e D) Relação entre as correntes de pico anódica e catódica em função de raiz quadrada da velocidade de varredura. Condições: incremento de potencial: 5 mV56

Figura 20 - Registros voltamétricos cíclicos para 1 mmol L^{-1} de cada antioxidante (A) TBHQ, (B) BHA, (C) 2,6-DTBP, (D) CT (E) HQ, (F) PG, (G) PY, (H) GA (I) DP e (J) OG em HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10% (v/v) etanol, antes (linha sólida vermelha) e depois (linha sólida azul) do tratamento químico/eletroquímico do eletrodo. As linhas tracejadas correspondem aos seus respectivos brancos. Condições: taxa de varredura: 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV57

Figura 21 - Registros voltamétricos cíclicos para 1 mmol L^{-1} de cada antioxidante (TBHQ, BHA e 2,6-DTBP) no eletrólito de suporte HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10% (v/v) etanol antes (linha sólida vermelha) e depois (linha sólida azul) do tratamento químico/eletroquímico da superfície do eletrodo. As linhas tracejadas correspondem aos seus respectivos brancos. Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV59

Figura 22 - Registros voltamétricos cíclicos para 1 mmol L⁻¹ de cada antioxidante, TBHQ, BHA e 2,6-DTBP em: (A) HClO₄ 0,1 mol L⁻¹; (B) HCl 0,1 mol L⁻¹; (C) HNO₃ 0,1 mol L⁻¹; (D) CH₃-COOH 0,1 mol L⁻¹ e (E) H₂SO₄ 0,05 mol L⁻¹; todos preparados em 10% (v/v) etanol. Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹ e incremento de potencial: 5 mV..... 60

Figura 23 – (A) Registros de voltamogramas com linha de base corrigida da variação da corrente com o aumento do incremento de potencial (ΔE_s) para 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA em solução de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 10% de etanol. (B) Intensidades de corrente, obtidas a partir de correntes de pico, em função do potencial aplicado. Condições da DPV: amplitude: 60 mV; tempo de modulação: 0,04 s e tempo de intervalo: 0,5 s..... 61

Figura 24 - (A) Registros de voltamogramas com linha de base corrigida da variação da corrente com o aumento de amplitude para 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA em solução de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 10% de etanol. (B) Intensidades de corrente em função das amplitudes avaliadas. Condições DPV: incremento de potencial: 5 mV; tempo de modulação: 0,04 s e tempo de intervalo: 0,5 s. 62

Figura 25 - (A) Registros de voltamogramas com linha de base corrigida da variação da corrente com o aumento do tempo de modulação para 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA em solução de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 10% de etanol. (B) Intensidades de corrente, obtidas a partir de correntes de pico, em função do tempo de modulação. Condições DPV: incremento de potencial: 5 mV; amplitude: 60 mV e tempo de intervalo: 0,5 s..... 63

Figura 26 - (A) Registros de voltamogramas com linha de base corrigida da variação da corrente com o aumento do tempo de intervalo para 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA em solução de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 10% de etanol. (B) Intensidades de corrente, obtidas a partir de correntes de pico, em função do tempo de intervalo. Condições DPV: incremento de potencial: 5 mV; amplitude: 60 mV e tempo de modulação: 0,04 s. 64

Figura 27 - Registros voltamétricos obtidos para 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada antioxidante (TBHQ e BHA) em solução de HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 10% de etanol usando SWV (linha sólida preta) e DPV (linha sólida vermelha) com linha de base corrigida. Condições instrumentais de SWV e DPV estão descritas na Tabela 4..... 65

Figura 28 - (A) Respostas da DPV (n=3) para TBHQ e BHA na faixa de concentração de 0,5 a 175 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) Respectivas curvas de calibração. Condições otimizadas na Tabela 3. ... 66

Figura 29 - Varreduras de DPV com linha de base corrigida obtidas para 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada antioxidante (TBHQ e BHA) e a mistura contendo a mesma concentração dos dois antioxidantes e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de (A) Mn^{2+} , (B) Fe^{3+} , (C) Cd^{2+} , (D) Pb^{2+} , (E) Cu^{2+} e (F) Zn^{2+} sob as condições otimizadas (Tabela 3). 68

Figura 30 - Registros de DPV ($n = 3$) para determinação de TBHQ e BHA em amostras de biodiesel comercial (A), (B) e (C) fortificadas com soluções padrão resultando em concentrações finais na célula de (A) 10, (B) 30 e (C) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seguidas por três adições de soluções padrão. As respectivas curvas de adição padrão estão ao lado do seu conjunto de voltamogramas. As primeiras varreduras (tracejado) mostram o branco (eletrólito suporte); 2ª varredura: amostras fortificadas; 3ª, 4ª e 5ª varreduras: adição das soluções padrão do TBHQ e BHA. Condições otimizadas estão na Tabela 3. 70

Figura 31 - Registros de DPV ($n = 3$) para determinação de TBHQ e BHA em amostras de biodiesel de soja (D), (E) e (F) fortificadas com soluções padrão resultando em concentrações finais na célula de (D) 10, (E) 30 e (F) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seguidas por três adições de soluções padrão. As respectivas curvas de adição padrão estão ao lado do seu conjunto de voltamogramas. As primeiras varreduras (tracejado) mostram o branco (eletrólito suporte); 2ª varredura: amostras fortificadas; 3ª, 4ª e 5ª varreduras: adição das soluções padrão do TBHQ e BHA (os valores podem ser visualizados nas respectivas curvas). Condições otimizadas estão na Tabela 3. 71

Figura 32 - (A) Respostas da voltametria cíclica para concentrações crescentes de 2,6-DTBP (0,18 – 2,0 mmol L^{-1}); eletrólito de suporte: mistura de etanol (80% v/v) e HClO_4 0,1 mol L^{-1} (20% v/v) e (B) Respetiva curva de calibração. Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV. 75

Figura 33 - (A) Registros voltamétricos cíclicos ($n = 3$) para determinação de 2,6-DTBP em amostra de bioquerosene fortificada com solução padrão de 2,6-DTBP resultando em concentrações finais na célula, de (A) 0,38 e (B) 0,475 mmol L^{-1} , seguidas por três adições de soluções padrão. As respectivas curvas de adição padrão estão ao lado do seu conjunto de voltamogramas. As primeiras varreduras (tracejado) mostram o branco (eletrólito suporte); 2ª varredura: amostras fortificadas; 3ª, 4ª e 5ª varreduras: adição das soluções padrão do 2,6-DTBP (os valores podem ser visualizados nas respectivas curvas). Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV. 76

Figura 34 - (A) Voltamogramas cíclicos de uma solução de PY (1 mmol L⁻¹) em meio de tampão BR 0,12 mol L⁻¹, com valores de pH na faixa de 2,0 a 8,0; (B) Relação entre o pH e potencial de pico (E_p) e (C) Relação entre o pH e corrente de pico (I_p). Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹ e incremento de potencial: 5 mV. 78

Figura 35 - (A) Registros de BIA-AD obtidos a partir de 3 injeções sucessivas de 100 μmol L⁻¹ PY e (B) Voltamograma hidrodinâmico obtido a partir de valores de correntes do pico (média das 3 injeções) em função do potencial aplicado correspondente. Eletrólito de suporte: solução tampão BR (0,12 mol L⁻¹, pH 6,0) Condições instrumentais: volume injetado: 100 μL e velocidade de injeção: 200 μL s⁻¹. 79

Figura 36 – (A) Registros de BIA-AD obtidos a partir de 3 injeções sucessivas de 100 μmol L⁻¹ PY em função da velocidade de injeção: (a) 16,9; (b) 34,5; (c) 50,0; (d) 83,3; (e) 166; (f) 200 e (g) 227. (B) Influência da velocidade de injeção sobre a corrente do pico (I_p) do PY. Condições instrumentais: volume injetado: 100 μL e potencial de trabalho: 0,4 V. 80

Figura 37 – (A) Registros de BIA-AD obtidos a partir 3 injeções sucessivas de 100 μmol L⁻¹ PY em função do volume injetado: (a) 50; (b) 100; (c) 150; (d) 200; (e) 250 e 300 μL e (B) Influência do volume injetado na corrente de pico (I_p) do PY. Condições instrumentais: velocidade de injeção: 200 μL s⁻¹ e potencial de trabalho: 0,4 V. 81

Figura 38 - (A) Respostas de BIA-AD para injeções em triplicata de (a) 0,5; (b) 1,0; (c) 5,0; (d) 10; (e) 20; (f) 40; (g) 50; (h) 75; (i) 100; (j) 150 e (k) 300 μmol L⁻¹ da solução padrão de PY em meio tampão BR (0,12 mol L⁻¹, pH 6,0) e (B) Respectivas curvas de calibração: concentrações crescentes e decrescentes do PY. Condições otimizadas na Tabela 11. 82

Figura 39 - Dados de repetibilidade obtidos a partir das injeções sucessivas (n = 10) da solução contendo: (A) 5; (B) 20 e (C) 50 μmol L⁻¹ PY. Condições de análise: potencial de trabalho: +0,4 V, velocidade de injeção: 200 μL s⁻¹; volume injetado: 100 μL, eletrólito de suporte: tampão BR (0,12 mol L⁻¹, pH 6,0). 83

Figura 40 - (A) Registros de BIA-AD obtidos para (a) 50 μmol L⁻¹ de PY e a mistura contendo a mesma concentração deste antioxidante e 1 mg L⁻¹ de (b) Cu²⁺, (c) Zn²⁺, (d) Cd²⁺, (e) Mn²⁺, (f) Fe³⁺ e (g) Pb²⁺ sob condições otimizadas (Tabela 11) e (B) Percentagem da interferência de cada metal na resposta do PY. 85

Figura 41 - (A) Amperograma obtido para determinação do PY por BIA-AD em biodiesel de soja (C), biodiesel de soja fortificado (C1, C2 e C3), biodiesel comercial (D) e biodiesel comercial fortificado (D1, D2 e D3). Curva analítica: (a) 5,0; (b) 10; (c) 20; (d) 50; (e) 75; (f) 100 e (g) 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) Respetiva curva de calibração. Condições de análise: Potencial de trabalho: +0,4 V, Velocidade de injeção: 200 $\mu\text{L s}^{-1}$, Volume injetado: 100 μL , Eletrólito: tampão BR (0,12 mol L^{-1} , pH 6,0).....87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Métodos eletroquímicos reportados na literatura usando o sistema BIA para determinação de antioxidantes e metais em biocombustíveis.	43
Tabela 2 - Especificações dos reagentes utilizados no preparo de soluções e amostras para a realização dos experimentos.	48
Tabela 3 - Seleção dos parâmetros de DPV para a determinação simultânea de TBHQ e BHA.	64
Tabela 4 – Parâmetros instrumentais otimizados por DPV e SWV para determinação de TBHQ e BHA.	65
Tabela 5 - Parâmetros analíticos obtidos pelo método proposto para determinação de TBHQ e BHA por DPV.	67
Tabela 6 - Variação da intensidade da corrente da resposta voltamétrica de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TBHQ e BHA na presença de espécies interferentes metálicas nas concentrações de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ cada.	69
Tabela 7 - Resultados obtidos nos estudos de recuperação com amostras de biodiesel fortificadas com TBHQ e BHA ($n = 3$). Valores de concentrações correspondente às quantidades de TBHQ e BHA na célula.	72
Tabela 8 - Visão geral da literatura científica sobre a determinação de TBHQ e BHA em biodiesel.	73
Tabela 9 - Parâmetros analíticos obtidos pelo método proposto para determinação de 2,6-DTBP por voltametria cíclica.	75
Tabela 10 - Resultados obtidos com amostra de bioquerosene fortificada com 2,6-DTBP ($n = 3$); valores de concentrações correspondentes de 2,6-DTBP na célula.	77
Tabela 11 - Seleção dos parâmetros de BIA-AD para determinação de PY.	81
Tabela 12 - Parâmetros analíticos obtidos do método proposto para determinação de PY.	84

Tabela 13 - Variação da intensidade de corrente em resposta voltamétrica para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PY na presença de espécies interferentes metálicas em concentrações de 1 mg L^{-1} cada..... 85

Tabela 14- Resultados obtidos em experimentos de recuperação com amostras de biodiesel enriquecidas com PY ($n = 3$); valores de concentrações correspondente as quantidades de PY na célula..... 86

Tabela 15 - Visão geral da literatura relatada para a determinação de PY em biodiesel por várias técnicas eletroanalíticas. 88

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

2,6- DTBP	2,6-di-terc-butil fenol (do inglês, <i>2,6-ditertbutylphenol</i>)
ASTM	Sociedade Americana de Testes e Materiais (do inglês, <i>American Society for Testing and Materials</i>)
BHA	Butil-hidróxi-anisol (do inglês, <i>butyl hydroxyanisole</i>)
BHT	Butil-hidróxi-tolueno (do inglês, <i>butyl hidroxytolueno</i>)
BIA	Análise por injeção em batelada (do inglês, <i>batch injection analysis</i>)
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis
BIA-AD	Análise por injeção em batelada com detecção amperométrica (do inglês, <i>batch injection analysis with amperometric detection</i>)
BR	Solução tampão Britton–Robinson
EN	Normas europeias (do inglês, <i>European Norms</i>)
CB-PLA	Negro de fumo/ ácido polilático (do inglês, <i>carbon black/Polylactic acid</i>)
CBPE	Eletrodo de pasta de negro de fumo (do inglês, <i>carbon-black paste electrode</i>)
CE	Contra eletrodo (do inglês, <i>counter electrode</i>)
CT	Catecol
DP	Dopamina
DPR	Desvio padrão relativo
DPV	Voltametria de pulso diferencial (do inglês, <i>differential pulse voltammetry</i>)
<i>E</i>	Potencial
FDM	Modelagem por deposição fundida (do inglês, <i>Fused Deposition Modeling</i>)
GA	Ácido gálico (do inglês, <i>gallic acid</i>)
GCE	Eletrodo de carbono vítreo (do inglês, <i>Glassy carbon electrode</i>)
HQ	Hidroquinona
<i>I</i>	Intensidade da corrente
<i>I_a</i>	Corrente do pico anódico
<i>I_c</i>	Corrente do pico catódico
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
NUPE	Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica
OG	Octil galato
PG	Propil galato

PY	Pirogalol (do inglês, <i>pyrogallol</i>)
r	Coefficiente de correlação linear
R	Resistividade
RE	Eletrodo de referência (do inglês, <i>reference electrode</i>)
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês, <i>Relative Standard Deviation</i>)
s	Coefficiente Angular (inclinação) da curva analítica
SD	Desvio padrão (do inglês, <i>Standard Deviation</i>)
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
ms	Milissegundos
s	Segundos
SPE	Eletrodo impresso (do inglês, <i>Screen-Printed Electrode</i>)
SPGE	Eletrodos impressos de ouro (do inglês, <i>Screen-printed Gold Electrodes</i>)
IUPAC	União Internacional da Química Pura e Aplicada (do inglês, <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
SWV	Voltametria de onda quadrada (do inglês, <i>Square Wave Voltammetry</i>).
TBHQ	Terc-butil-hidroquinona (do inglês, <i>tert-butylhydroquinone</i>)
UV-vis	Ultravioleta-visível
V	Volt
WE	Eletrodo de trabalho (do inglês, <i>working electrode</i>)
μA	Microampères

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO.....	21
1.1. Considerações iniciais	22
1.2. Biodiesel	23
1.2.1. Estabilidade oxidativa e antioxidantes	25
1.2.2. Método do Rancimat	27
1.3. Bioquerosene	29
1.4. Determinação de antioxidantes por técnicas analíticas	31
1.5. Impressão 3D	32
1.6. Espécies analíticas estudadas.....	34
1.6.1. TBHQ	34
1.6.2. BHA	34
1.6.3. PY.....	35
1.6.4. 2,6-DTBP.....	36
1.7. Técnicas eletroanalíticas.....	36
1.7.1. Voltametria cíclica	38
1.7.2. Voltametria de pulso diferencial	39
1.7.3. Análise por injeção em batelada com detecção amperométrica.....	40
1.8. Objetivos.....	44
1.8.1. Objetivo geral.....	44
1.8.2. Objetivos específicos:	44
CAPÍTULO II: PARTE EXPERIMENTAL	45
2.1. Instrumentação, célula eletroquímicas e eletrodos	46
2.2. Reagentes, soluções e amostras	48
2.3. Produção e tratamento eletroquímico dos eletrodos CB-PLA impressos em 3D.....	49
2.4. Medidas eletroquímicas	51
2.5. Preparo de amostras de biodiesel e bioquerosene	52
CAPÍTULO III: RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
3.1. Caracterização microscópica e eletroquímica do eletrodo CB-PLA impresso em 3D..	54

3.2. Estudos dos antioxidantes por voltametria cíclica usando eletrodo CB-PLA impresso em 3D	56
3.3. Estudo do eletrólito de suporte para determinação voltamétrica de TBHQ, BHA e 2,6-DTBP	60
3.4. Determinação simultânea de TBHQ e BHA em biodiesel	61
3.4.1. Otimização dos parâmetros DPV para determinação simultânea de TBHQ e BHA em biodiesel.....	61
3.4.2. Comparação de DPV e SWV em relação à resposta eletroquímica da mistura equimolar de TBHQ e BHA.....	64
3.4.3. Figuras de mérito obtidas para determinação simultânea de TBHQ e BHA	66
3.4.4. Estudos de interferentes para TBHQ e BHA	67
3.4.5. Aplicação do método por DPV para análise de amostras de biodiesel	69
3.4.6. Comparação do desempenho analítico do método desenvolvido para determinação simultânea de BHA e TBHQ com outros métodos eletroanalíticos reportados na literatura	72
3.5. Determinação voltamétrica de 2,6-DTBP em bioquerosene.....	74
3.5.1. Figuras de mérito obtidas para 2,6-DTBP.....	74
3.5.2. Aplicação do método para determinação de 2,6-DTBP em amostra de bioquerosene	75
3.6. Determinação do antioxidante PY em biodiesel por meio da análise por injeção em batelada com detecção amperométrica	77
3.6.1. Estudo do efeito de pH sobre a resposta eletroquímica do PY por CV	77
3.6.2. Otimização dos parâmetros do BIA-AD para determinação de PY.....	78
3.6.3. Figuras de mérito obtidas para o PY	81
3.6.4. Estudo de interferentes na detecção eletroquímica de PY	84
3.6.5. Aplicação do método por BIA-AD para determinação de PY em amostra de biodiesel	86
3.6.6. Comparação do desempenho analítico do método desenvolvido com outros métodos eletroanalíticos reportados na literatura para determinação de PY	87
CAPÍTULO IV: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	89

4.1. Conclusões.....	90
4.2. Perspectivas	90
CAPÍTULO V: ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O MESTRADO	91
5.1. Publicações em revistas científicas durante o mestrado.....	92
CAPÍTULO VI: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
6.1. Referências bibliográficas	94

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO

1.1. Considerações iniciais

Os meios de transporte são muito importantes para a circulação de pessoas e transporte de diversos produtos e bens. Existem meios de transporte que apresentam motores movidos a combustível, como carros, ônibus, aviões, etc. A combustão dos combustíveis fósseis é responsável por enormes emissões de CO₂ (gás carbônico) na atmosfera, o qual retém grande parte do calor que deveria ser emitido para o espaço, aumentando a temperatura do planeta (SANTOS *et al.*, 2020). Outros poluentes também são emitidos durante a combustão dos derivados de petróleo, como o dióxido de enxofre (SO₂), precursor do trióxido de enxofre (SO₃) e do H₂SO₄, causadores da chuva ácida; do monóxido de carbono (CO) e dos óxidos de nitrogênio (NO_x), que são gases tóxicos e que formam o chamado “smog fotoquímico” (SANTOS *et al.*, 2020).

Nesse contexto, os biocombustíveis surgem como uma alternativa promissora, visando sanar problemas relacionados aos combustíveis fósseis, tais como a instabilidade dos preços, emissão de poluentes e a necessidade de diversificar as matrizes energéticas (CARDOSO *et al.*, 2019). Os combustíveis fósseis, querosene e diesel, podem ser substituídos por bioquerosene e biodiesel, respectivamente; que são uma alternativa mais sustentável, pois são obtidos a partir de biomassa, com propriedades físicas, químicas e eficiência energética semelhantes às de combustíveis de origem fóssil (DABDOUB; BRONZE; RAMPIN, 2009; NEULING; KALTSCHMITT, 2015).

Como o biodiesel é um derivado de óleo vegetal ou gordura animal e em sua produção há a necessidade de um período de armazenamento, o uso de antioxidantes para minimizar a deterioração oxidativa, devido à estabilidade oxidativa baixa é imprescindível (DOMINGOS *et al.*, 2007). Outros biocombustíveis, como por exemplo o bioquerosene, requerem também a adição de antioxidantes (ALMEIDA *et al.*, 2016).

A estabilidade oxidativa é um dos parâmetros usados para avaliar a qualidade dos biocombustíveis. A norma europeia (EN14112) recomenda o uso do método de Rancimat como método oficial para avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel, investigando assim a eficácia dos antioxidantes (CARAMIT *et al.*, 2013). Um dos grandes inconvenientes na determinação da estabilidade oxidativa por meio desta técnica é o tempo longo de análise (12 horas – período de indução) (SOUZA *et al.*, 2021).

A estabilidade oxidativa do biodiesel pode ser prevista pela determinação da concentração de antioxidantes no biocombustível. Neste sentido, diferentes técnicas são utilizadas para quantificação de antioxidantes em biodiesel, como por exemplo, cromatografia

líquida de alta eficiência (HPLC) (CASAGRANDE *et al.*, 2019), cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa (GC-MS) (CACHO *et al.*, 2016) e técnicas eletroanalíticas (DE ARAUJO *et al.*, 2011; NUNES ANGELIS *et al.*, 2020). Algumas vantagens da eletroanalítica que podem ser destacadas são: a sensibilidade elevada, custo moderado quando comparado aos métodos cromatográficos, operação fácil dos equipamentos, preparo mínimo de amostra, seletividade adequada e rapidez nas análises. Além disso, há a possibilidade de miniaturizar o sistema permitindo assim análises portáteis e de acesso fácil (DE RESENDE; DA SILVA; PEREIRA, 2020).

A tecnologia de impressão 3D é uma ferramenta poderosa que vem contribuindo na química analítica (exemplo, a eletroquímica), no que diz respeito a fabricação de células eletroquímicas, eletrodos e outros dispositivos (JOÃO *et al.*, 2021a; SILVA *et al.*, 2021; WHITTINGHAM *et al.*, 2021). Atualmente, além das impressoras 3D, a caneta 3D também se mostra viável para a fabricação de sensores eletroquímicos eficientes (CARDOSO *et al.*, 2020a; CASTRO *et al.*, 2021; DE OLIVEIRA; DE MELO; DA SILVA, 2020). Os dispositivos fabricados através desta tecnologia apresentam custos inferiores quando comparados aos convencionais disponíveis no mercado, tal como carbono vítreo e diamante dopado com boro.

Neste contexto, surge a necessidade de desenvolver métodos analíticos simples, rápidos, de custo baixo, precisos e exatos para o controle de qualidade de biocombustíveis usando materiais obtidos por impressão 3D.

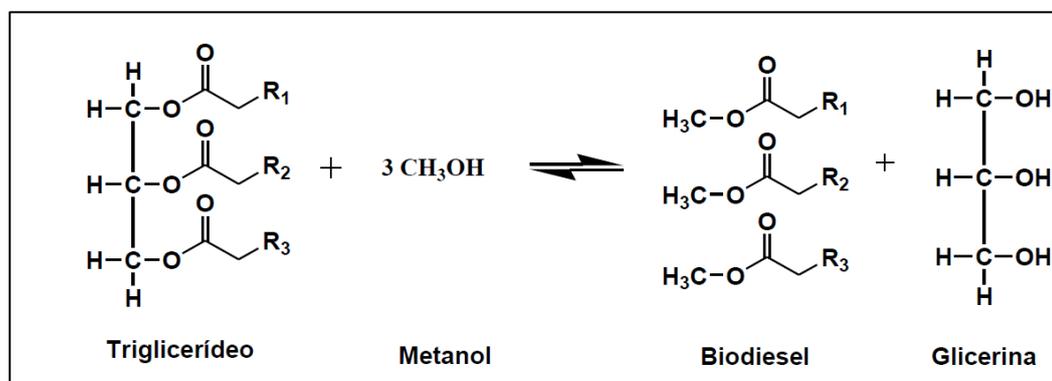
1.2. Biodiesel

Uma vez que o biodiesel é uma fonte de energia renovável e biodegradável, o mesmo se torna um potencial substituto do diesel derivado do petróleo (REZENDE *et al.*, 2021). Quimicamente, o biodiesel é definido na resolução número 42 da ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) como alquil-éster de ácidos graxos, obtido pela transesterificação de óleos ou gorduras, de plantas ou animais, com álcoois de cadeia curta, como metanol e etanol; conseqüentemente, a glicerina é o subproduto na produção de biodiesel (Figura 1) (DOMINGOS *et al.*, 2007; PINTO *et al.*, 2005). Transesterificação é o processo de transformação de um éster carboxílico em outro, através da troca do grupo RO⁻ presente no éster original, por outro grupo semelhante proveniente de um álcool na presença de um catalisador ou não (condições supercríticas), para dar origem à glicerina e a mono-alquil ésteres (biodiesel) (DABDOUB; BRONZE; RAMPIN, 2009). O biocombustível obtido é isento de

enxofre e compostos aromáticos e apresenta nível baixo de emissão de partículas (CO e CO₂) do que diesel (GOULART *et al.*, 2014).

Em geral, matérias-primas vegetais e animais ricas em óleos e gorduras podem ser usados para produzir biodiesel (REZENDE *et al.*, 2021). A fonte de produção de biodiesel é escolhida de acordo com a sua disponibilidade em cada região ou país (PINTO *et al.*, 2005). Um exemplo típico é o uso de óleos de *Jatropha* para produção de biodiesel em países africanos e na Índia, porque a planta *Jatropha* cresce em regiões semiáridas e tem sido aclamada pela sua suposta capacidade de resistir às pragas (REZENDE *et al.*, 2021). Em Moçambique (país de origem do autor deste trabalho), foi feita a avaliação do potencial dos biocombustíveis, tendo em conta a sua sustentabilidade como matéria-prima, bem assim a avaliação dos seus rendimentos, custos de produção, impacto socioeconômico e ambientais. O pinhão manso (*Jatropha curcas*) e o coco foram apurados como matéria-prima adequada para produção de biodiesel (ALVES, 2014). Por outro lado, as principais matérias-primas para produção de biodiesel no Brasil são soja e sebo (PINTO *et al.*, 2005; REZENDE *et al.*, 2021).

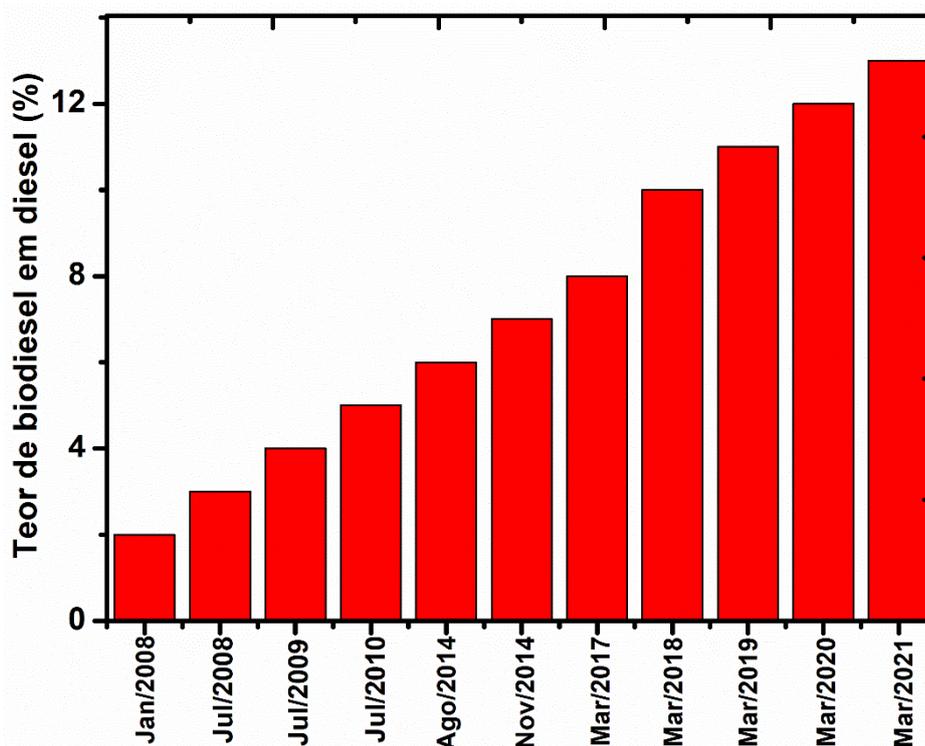
Figura 1 - Processo de produção de biodiesel: Reação de transesterificação do triacilglicerol com metanol, onde R1, R2 e R3 são cadeias carbônicas de ácidos graxos.



Fonte: Adaptado de (MACHADO, 2014).

Com relação ao biodiesel, o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), que prevê a adição do biodiesel ao diesel mineral, tem elevado o consumo desse biocombustível no Brasil, de 2017 para 2018 o aumento foi de mais de 25% (EPE, 2019). A Figura 2 mostra a evolução do percentual do teor de biodiesel presente no diesel fóssil no Brasil, partindo do ano 2008 (2%) até 2021 (13%) (ANP, 2021). O Conselho Nacional de Política Energética já estabeleceu um cronograma para um aumento gradual, chegando em 15% até 2023 (SANTOS *et al.*, 2020).

Figura 2 - Evolução do percentual do teor de biodiesel presente no diesel fóssil no Brasil.



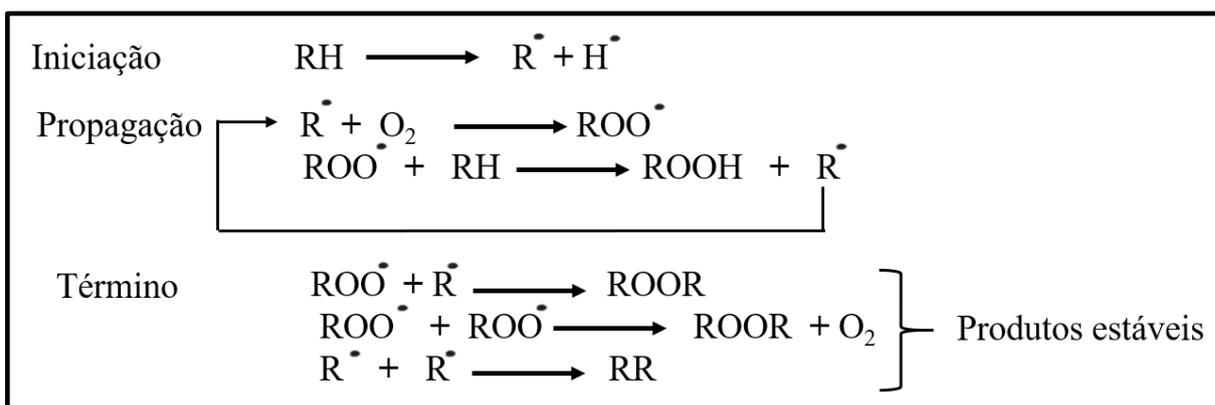
Fonte: Próprio autor (2022).

1.2.1. Estabilidade oxidativa e antioxidantes

A estabilidade oxidativa de um combustível líquido é definida pela sua resistência relativa a mudanças físicas e químicas ocorridas devido à interação com o meio ambiente (FERRARI; DE SOUZA, 2009). O biodiesel tem certas desvantagens, como por exemplo, estabilidade baixa à oxidação e biodegradação. O biodiesel é mais suscetível à auto-oxidação do que combustíveis fósseis (KUMAR, 2017), devido à presença de níveis altos de ácidos graxos insaturados, oriundos de matérias-primas tipicamente utilizadas para obtenção de biocombustível (SQUISSATO *et al.*, 2018). A exposição ao calor, luz, oxigênio e contaminantes metálicos podem acelerar os processos de oxidação que podem desempenhar um papel importante na formação de compostos indesejados (GOULART *et al.*, 2014). O processo de oxidação é tradicionalmente descrito como uma reação em cadeia constituída por três fases distintas: iniciação, propagação e término (Figura 3). Na etapa de iniciação, ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor. Em seguida, na propagação, os radicais livres são convertidos em outros radicais, apresentando os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos). Os radicais livres formados nesta fase atuam como propagadores da

reação, resultando em um processo autocatalítico. Por fim, há o término, em que dois radicais livres se combinam, com a formação de produtos estáveis (JEMIMA ROMOLA *et al.*, 2021). A Figura 3 ilustra o mecanismo de auto-oxidação do ácido graxo.

Figura 3 - Mecanismo de auto-oxidação. RH - ácido graxo insaturado; R[•] - radical livre; ROO[•] - radical peróxido e ROOH – hidroperóxido.

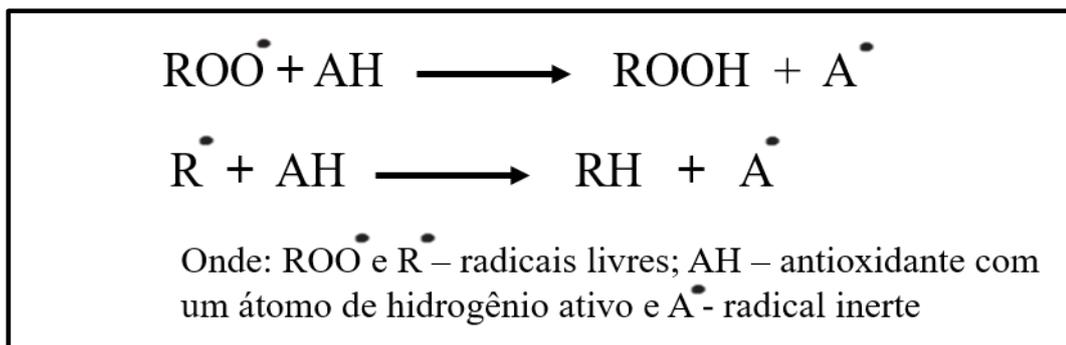


Fonte: Adaptado de (CONCEIÇÃO, 2017).

A estabilidade oxidativa é parcialmente mantida através da adição de antioxidantes sintéticos originalmente desenvolvidos para produtos alimentícios (REZENDE *et al.*, 2021). Antioxidantes são substâncias adicionadas ao biocombustível para melhorar as propriedades; as quais agem prevenindo ou retardando a degradação do biodiesel, pela doação do elétron ou hidrogênio aos radicais livres para neutralizar a reação de oxidação (Figura 4) (REZENDE *et al.*, 2021; VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018). Em geral, dosagens mínimas de 200-1000 ppm destes aditivos são necessárias para alcançar uma melhoria significativa de estabilidade de oxidação do biocombustível (GARCÍA *et al.*, 2017). A Figura 5 mostra as estruturas dos compostos fenólicos (antioxidantes) que são responsáveis pela sua atividade antioxidante, através da doação de prótons aos radicais livres, evitando o processo oxidativo (NUNES ANGELIS *et al.*, 2020).

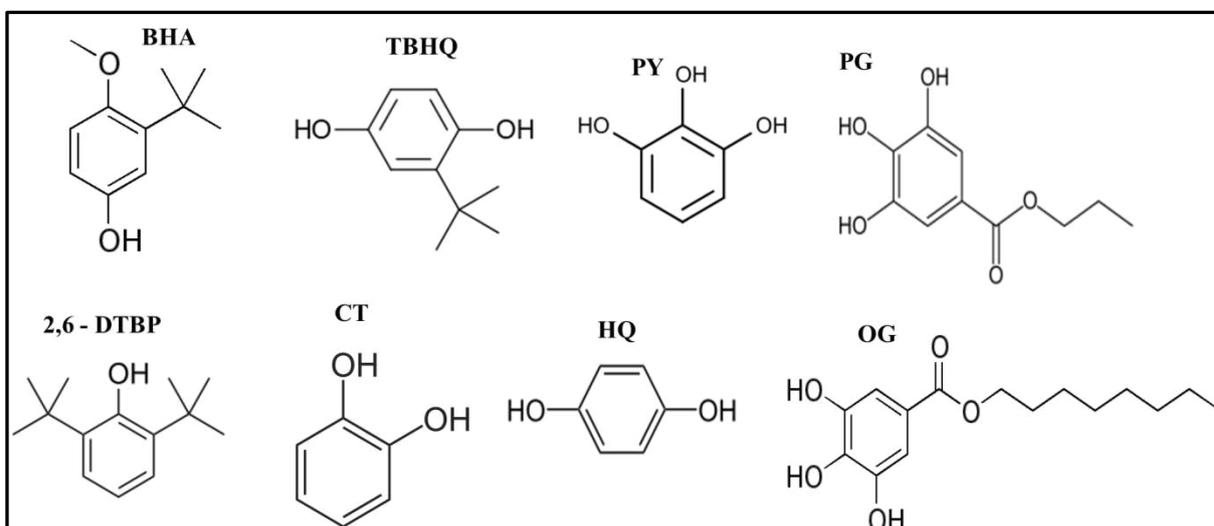
Os antioxidantes comumente usados em biocombustíveis são terc-butil-hidroquinona (TBHQ), butil hidróxi-anisol (BHA), butil hidróxi-tolueno (BHT), pirogalol (PY) e propil galato (PG) (TOMÁŠKOVÁ *et al.*, 2017). O TBHQ exibe uma sinergia boa com BHA ou BHT (NUNES ANGELIS *et al.*, 2020; VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018).

Figura 4 - Mecanismo de ação dos antioxidantes.



Fonte: Adaptado de (MACHADO, 2014).

Figura 5 - Fórmulas estruturais de alguns compostos fenólicos (antioxidantes).



Fonte: Adaptado de (SCHAUMLÖFFEL *et al.*, 2019; VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018).

1.2.2. Método do Rancimat

A estabilidade oxidativa é um critério para avaliação da qualidade dos biocombustíveis (ZHOU; XIONG; LIU, 2017). A qualidade de biodiesel é regida por várias normas como por exemplo, EN- 14214 (europeia), ASTM D – 6751 (americana) (KNOTHE; RAZON, 2017) e a resolução número 45/2014 da ANP brasileira (SQUISSATO *et al.*, 2018).

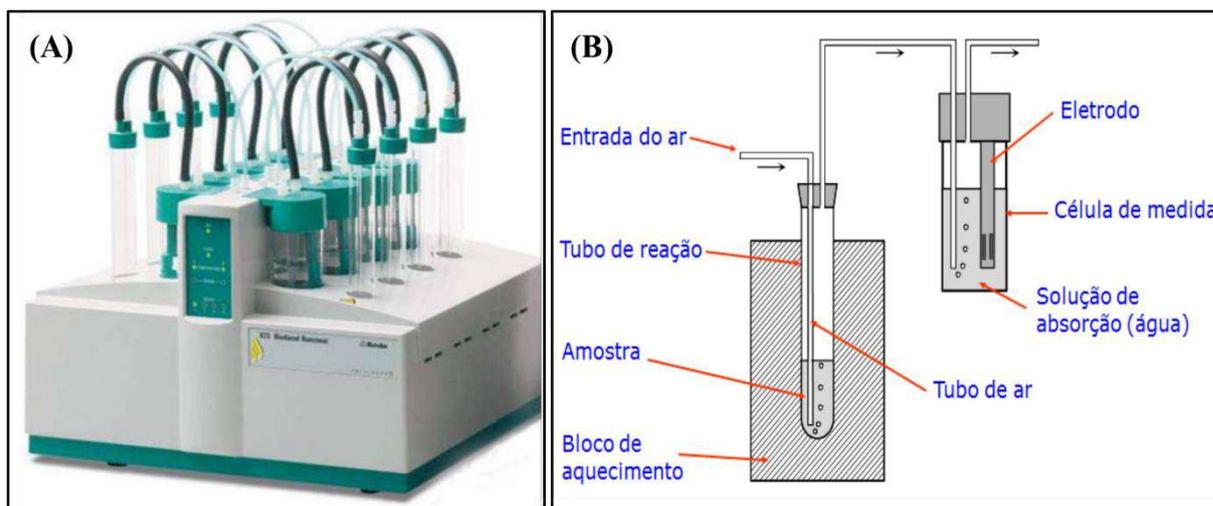
Para avaliar a eficiência de um antioxidante na estabilidade oxidativa do biodiesel ou bioquerosene, métodos de oxidação acelerada são frequentemente empregados, como por exemplo, o método Rancimat, que se baseia na determinação indireta de produtos de oxidação (ZHOU; XIONG; LIU, 2017). Neste método, a amostra (biocombustível) é aquecida a uma temperatura específica (geralmente 110° C) com ar fluindo através do tubo da amostra (Figura

6); e os compostos voláteis formados (por exemplo, ácido fórmico e ácido acético) são varridos pelo fluxo de ar para o vaso que contém a água deionizada, cuja condutividade é constantemente medida (a condutividade aumenta à medida que os produtos de oxidação atingem o detector) (KNOTHE; STEIDLEY, 2018). O período de indução do Rancimat é determinado pelo aumento repentino da condutividade da água que dissolve os produtos de oxidação (ácidos orgânicos voláteis gerados durante a oxidação acelerada).

A norma europeia EN- 14214 recomenda o período de indução do Rancimat como método oficial para determinar a estabilidade oxidativa (REZENDE *et al.*, 2021). Normalmente, quanto mais longo for o período de indução, melhor será a estabilidade oxidativa (KNOTHE; STEIDLEY, 2018). Atualmente, as agências reguladoras brasileiras, americanas e europeias estabelecem 12 h de período de indução (SOUZA *et al.*, 2021), o que requer centenas de partes por milhão de antioxidantes para atingir este valor. Estudos têm demonstrado que o efeito sinérgico de uma formulação combinada contendo TBHQ e BHA (500 mg L⁻¹ para cada antioxidante) proporciona maior estabilidade oxidativa de biodiesel atingindo 12 h de período de indução (CARAMIT *et al.*, 2013; VAN DER WESTHUIZEN; FOCKE, 2018).

O teste do Rancimat é um dos métodos mais utilizados para estabelecer prognósticos sobre a estabilidade oxidativa de óleos e de biodiesel, porém necessita de quantidades maiores de amostras, de ar e requer tempos maiores para a realização de análises (CONCEIÇÃO, 2017).

Figura 6 - (A) Aparelho Rancimat da Metrohm e (B) Esquema do teste Rancimat.



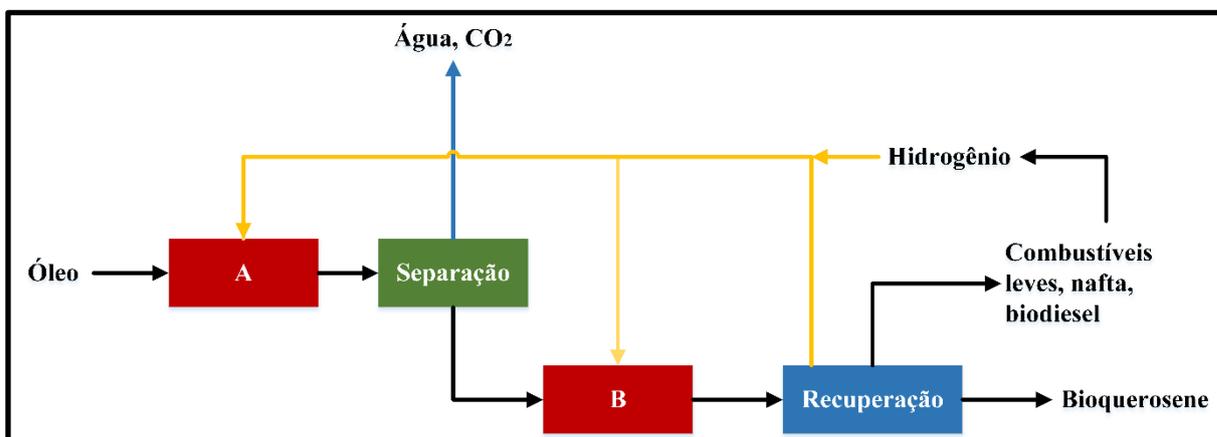
Fonte: Adaptado de (CONCEIÇÃO, 2017; “Metrohm”, [s.d.]).

1.3. Bioquerosene

O querosene, obtido do fracionamento do petróleo, tem como utilização principal o setor de transporte aéreo, como combustível na aviação civil e militar. O bioquerosene se mostra um substituto importante para o querosene, uma vez que apresenta o mesmo desempenho como combustível e as suas emissões são compensadas durante a sua produção (SANTOS *et al.*, 2020). Bioquerosene é definido como combustível de aviação derivado de fontes alternativas, como biomassa, gases residuais, resíduos sólidos, carvão e gás natural (DELFINO *et al.*, 2020). Algumas das plantas aptas a serem utilizadas são a cana-de-açúcar, soja, eucalipto, pinhão manso, babaçu e mamona. Com o processo produtivo a matéria-prima resulta em hidrocarbonetos semelhantes aos contidos no combustível fóssil (SANTOS *et al.*, 2020). Dentre as inúmeras vantagens da utilização do bioquerosene, uma das principais é que este é menos poluente em relação aos de origem fóssil. Apesar de sua combustão também produzir dióxido de carbono, um dos gases do efeito estufa, os biocombustíveis acabam reduzindo esse dano ambiental em seu ciclo produtivo. Isso porque vêm de plantas que absorvem CO₂ e, portanto, compensam o carbono que os seus combustíveis liberarão na atmosfera (BETIOLO; ROCHA; MACHADO, 2015).

Os processos produtivos mais utilizados para o bioquerosene são os processos químicos, através de transesterificação de oleaginosas vegetais e gorduras animais; bioquímicos, com a utilização de leveduras ou bactérias modificadas que metabolizam açúcares produzindo hidrocarbonetos; e termoquímicos, através de craqueamento catalítico ou gaseificação e síntese catalítica (BONASSA *et al.*, 2014). O processo químico consiste num processo de transesterificação, onde os triglicerídeos são convertidos em biodiesel (ésteres metílicos ou etílicos) e glicerina através de uma reação na presença de álcool (metanol ou etanol) e catalisador como bases fortes, ácidos ou enzimas. Para a produção de combustíveis aeronáuticos, considerando as especificações exigidas, é necessário que haja uma etapa posterior de separação e purificação dos ésteres (Figura 7), obtendo as frações mais adequadas para a utilização em turbinas (SANTOS *et al.*, 2020).

Figura 7 - Processo de obtenção de bioquerosene.



Fonte: Adaptado de (BONASSA *et al.*, 2014).

Na etapa identificada na Figura 7 como A, ocorre a remoção de oxigênio através da adição de hidrogênio (descarbonilação). Em seguida, durante a etapa B, o hidrocarboneto proveniente da etapa A é isomerado e quebrado para que o seu número de carbonos seja reduzido (hidrogenação), ficando com uma estrutura semelhante ao JET-A1 (querosene fóssil) em relação a propriedades de ponto de congelamento e centelha (BONASSA *et al.*, 2014).

Os processos bioquímicos consistem na utilização de matérias-primas constituídas por carboidratos (açúcares), onde há a conversão desses em hidrocarbonetos através do uso de leveduras *saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificadas. Os microrganismos consomem o açúcar do meio e produzem isoprenóides, como farneseno ($C_{15}H_{24}$) e pineno ($C_{10}H_{16}$), ao invés de etanol. Finalmente, o produto dessa conversão passa por um processo de hidrogenação, obtendo-se o bioquerosene (SANTOS *et al.*, 2020).

Nos processos termoquímicos, o bioquerosene pode ser produzido a partir de craqueamento catalítico ou gaseificação e síntese catalítica. No craqueamento catalítico, processo de decomposição térmica do óleo vegetal na presença de hidrogênio e catalisador, elimina-se os produtos oxigenados obtendo-se uma mistura de hidrocarbonetos, que passa por uma destilação, gerando frações semelhantes ao querosene de aviação (SANTOS *et al.*, 2020). Já na gaseificação e síntese catalítica, ocorre a gaseificação da biomassa sólida usando temperaturas elevadas (aproximadamente 1000 °C), convertendo-a quase completamente em uma mistura de gases como: CO_2 , CO , H_2 e vapor de água. Após a purificação desses gases, estes podem ser utilizados para a síntese de hidrocarbonetos líquidos pelo processo Fischer-Tropsch, na presença de catalisadores como cobalto e ferro. Conforme a concepção adotada e

os fluxos processos, é possível que se obtenha hidrocarbonetos similares ao querosene de aviação (BONASSA *et al.*, 2014).

Para o bioquerosene ser certificado como combustível comercial para finalidades aeronáuticas, algumas especificações devem ser seguidas, por exemplo, regulamentos americanos (ASTMD7566) que estabelece os padrões de qualidade de bioquerosene. A estabilidade baixa de biocombustíveis, causada pela exposição ao ar, umidade, metais, luz, calor e tempo de armazenamento, tem uma influência direta sobre as suas propriedades físico-químicas. A adição de antioxidantes (por exemplo, 2,6-di-terc-butil fenol, 2,6-DTBP) em bioquerosene é indispensável porque fornece ao biocombustível maior resistência à oxidação, e conseqüentemente tempo mais longo de armazenamento e estabilidade térmica (DELFINO *et al.*, 2020).

1.4. Determinação de antioxidantes por técnicas analíticas

Conforme discutido nos tópicos anteriores, a adição de antioxidantes em concentrações adequadas protege o produto (biocombustível) das reações de oxidação indesejáveis durante o armazenamento (JOÃO *et al.*, 2021b). Portanto, a estabilidade oxidativa do biodiesel pode ser prevista pela determinação da concentração dos antioxidantes nos biocombustíveis.

Diferentes técnicas analíticas têm sido reportadas pela literatura científica para determinação sensível e precisa de antioxidantes, tais como, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (CASAGRANDE *et al.*, 2019), cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa (GC-MS) (CACHO *et al.*, 2016) e técnicas eletroanalíticas (GOULART *et al.*, 2014; NUNES ANGELIS *et al.*, 2020).

As técnicas eletroanalíticas têm vantagens sobre as técnicas tradicionais devido aos seus limites de detecção baixos, geração mínima de resíduos, instrumentação de custo baixo, frequência analítica elevada e portabilidade (NUNES ANGELIS *et al.*, 2020; SCHAUMLÖFFEL *et al.*, 2019). Diferentes tipos de sensores, como por exemplo, eletrodo de diamante dopado com boro (CHÝLKOVÁ *et al.*, 2017; GOULART *et al.*, 2014), eletrodo de carbono vítreo (ZIYATDINOVA *et al.*, 2012), eletrodo gotejante de mercúrio (DE ARAUJO *et al.*, 2011), eletrodo de ouro (SQUISSATO; RICHTER; MUNOZ, 2019), ultra microeletrodo de platina (HOFFMANN DA ROCHA *et al.*, 2017) têm sido usados na determinação de antioxidantes em biocombustíveis. Alguns eletrodos e células eletroquímicas comerciais disponíveis no mercado apresentam custo relativamente alto e são difíceis de serem fabricados

em larga escala. Dentro desta proposta, a impressão 3D surge como uma ferramenta promissora para fabricação destes dispositivos.

1.5. Impressão 3D

A manufatura aditiva (também conhecida por impressão 3D) foi reconhecida como uma ferramenta emergente que permite a fabricação econômica e eficiente em direção a sustentabilidade. De fato a impressão 3D tem certas vantagens sobre os métodos de fabricação tradicional, tais como rapidez, custo baixo com geração mínima de resíduos (WANG; PUMERA, 2021). Diversas áreas do conhecimento têm sido beneficiadas por tecnologias de manufatura aditiva, por exemplo, aeroespacial, medicina, eletrônica, engenharia civil, alimentos e farmacêutica (NGO *et al.*, 2018). Tal tecnologia também vem causando um grande impacto na química, por exemplo, na síntese orgânica em condições de fluxo, química analítica, catálise e eletroquímica (BROWNE; REDONDO; PUMERA, 2020; DRAGONE *et al.*, 2013; PANG *et al.*, 2020). Com relação a eletroquímica, a impressão 3D tem possibilitado a construção de células eletroquímicas (CARDOSO *et al.*, 2018), eletrodos (JOÃO *et al.*, 2021a; SILVA *et al.*, 2021) e outros dispositivos (por exemplo, grampo de suporte para 3 eletrodos, suporte pequeno impresso em 3D para tubo de centrifugação, suporte para tubos de ensaio, etc.) (WHITTINGHAM *et al.*, 2021). As impressoras 3D baseadas em extrusão e a caneta 3D têm sido aplicadas na fabricação de sensores, usando filamentos condutivos comerciais bastante difundidos a base de ácido poliláctico (PLA) contendo o negro de fumo (CB) ou grafeno (G) em sua composição (HAMZAH *et al.*, 2018; JOÃO *et al.*, 2020).

A caneta 3D permite a construção de objetos sólidos, através da extrusão de filamentos poliméricos por meio do seu bico de aquecimento (DE OLIVEIRA; DE MELO; DA SILVA, 2020). A caneta 3D faz a extrusão de um filamento termoplástico sob temperatura e velocidade controlada pelo usuário pressionando um botão na caneta (CARDOSO *et al.*, 2020a). A maioria das canetas 3D comercializadas fornece uma faixa constante ou limitada de velocidade de impressão (fluxo de filamento) e temperaturas do bico de aquecimento (60 a 220 °C), que restringem a variedade de materiais poliméricos utilizáveis (DE OLIVEIRA; DE MELO; DA SILVA, 2020). Todavia, a mesma tem sido usada por amadores, crianças e artistas para criar vários objetos usando materiais que são isolantes elétricos (CARDOSO *et al.*, 2020a). Além disso, ela tem outras aplicações, por exemplo no ensino de Química é usada para fabricação de modelos químicos; na matemática, para fazer modelos geométricos (DE OLIVEIRA; DE

MELO; DA SILVA, 2020) e na eletroquímica, para fabricação de sensores eletroquímicos (PEREIRA *et al.*, 2021).

Existem diferentes tipos de técnicas de manufatura aditiva (impressão 3D) e algumas delas têm sido aplicadas em eletroquímica, tais como, impressão a jato de tinta, à base de extrusão de filamentos poliméricos e fotopolimerização sob luz ultravioleta (SILVA *et al.*, 2021). A técnica mais acessível e empregada para a construção de dispositivos eletroquímicos é baseada na deposição de filamentos extrusados, denominado modelagem por deposição fundida (FDM) (OMAR *et al.*, 2021). Uma impressora 3D do tipo FDM é um instrumento de custo baixo (~ 250 U\$) e uma caneta 3D custa mais ou menos 25 U\$ (CARDOSO *et al.*, 2020a). Filamentos de PLA contendo partículas condutoras de grafeno, negro de fumo ou nanocarbono vem sendo aplicados para produzir sensores eletroquímicos (JAIN; TADESSE, 2019; MANZANARES PALENZUELA *et al.*, 2018). PLA é um biopolímero, obtido de fontes renováveis e biodegradáveis, que torna-se promissor para a impressão 3D de dispositivos eletroquímicos (SFRAGANO; LASCHI; PALCHETTI, 2020). Inicialmente o desempenho analítico dos eletrodos impressos em 3D usando PLA contendo grafeno (G-PLA) ou negro de fumo (CB-PLA) é inferior quando comparado com eletrodos convencionais, no entanto, após um tratamento de superfície, a resposta eletroquímica de tais dispositivos pode ser muito melhorada (ROCHA *et al.*, 2021).

Um protocolo simples para melhorar a atividade eletroquímica do eletrodo de CB-PLA impresso em 3D é o tratamento eletroquímico em NaOH, que consome a matriz de PLA e torna mais disponíveis as partículas condutoras dentro da matriz polimérica (RICHTER *et al.*, 2019; ROCHA *et al.*, 2020). O CB-PLA tem sido explorado na fabricação de eletrodos eletroquímicos, por ser um material de custo baixo com condutividade adequada, que possibilita processo cinético de transferência de elétrons, com o aumento na magnitude de sinal, permitindo que o sensor obtenha limites de detecção menores do que outros materiais (NUNES ANGELIS *et al.*, 2020).

As impressoras 3D do tipo FDM estão amplamente disponíveis em todo o mundo, elas podem ser construídas seguindo tutoriais usando peças de custo baixo que também podem ser impressas em 3D, o que certamente contribuiu para a sua grande popularidade (TULLY; MELONI, 2020). Semelhante a essas impressoras 3D, a caneta 3D disponível como um brinquedo para crianças também pode ser usada fabricar sensores eletroquímicos (CARDOSO *et al.*, 2020a).

Neste trabalho, foi possível demonstrar uma nova aplicação de eletrodos impressos em 3D usando filamento de CB-PLA que após o tratamento eletroquímico forneceu atividade

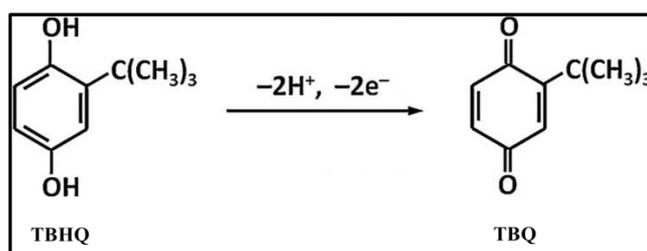
eletroquímica excelente para oxidação de diversos antioxidantes. Também se demonstrou que os eletrodos impressos em 3D podem ser aplicados para detecção e quantificação de antioxidantes, como TBHQ, BHA, 2,6-DTBP e PY em biocombustíveis (biodiesel ou bioquerosene), obtendo figuras de mérito apropriadas, tais como, ampla faixa linear, baixos limites de detecção, valores adequados de recuperação, mediante o uso de técnicas como voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial (DPV) e análise por injeção em batelada com detecção amperométrica (BIA-AD).

1.6. Espécies analíticas estudadas

1.6.1. TBHQ

É um antioxidante cuja fórmula é $C_{10}H_{14}O_2$ com massa molar de $166,22 \text{ g mol}^{-1}$; é um sólido cristalino branco moderadamente solúvel em gorduras e óleos, ligeiramente solúvel em água e solúvel em etanol, sendo considerado um dos antioxidantes mais eficazes em vários tipos de biodiesel; exibe sinergia boa com BHT ou BHA (VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018). A Figura 8 mostra o mecanismo de oxidação eletroquímica de TBHQ.

Figura 8 - Mecanismo de oxidação eletroquímica de TBHQ, formando terc-butil quinona (TBQ).



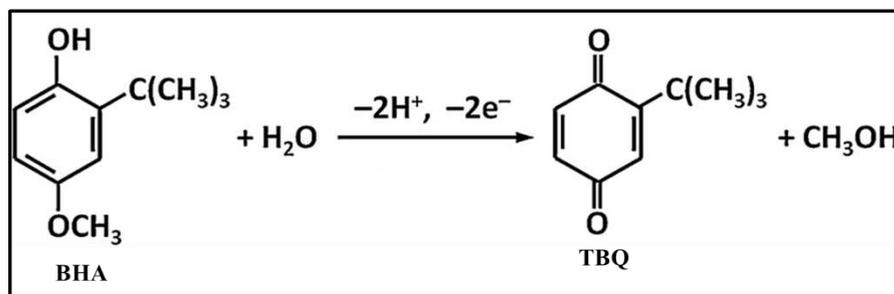
Fonte: Adaptado de (NUNES ANGELIS *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2016).

1.6.2. BHA

É um composto de fórmula molecular $C_{11}H_{16}O_2$ e massa molar de $180,24 \text{ g mol}^{-1}$ que exibe propriedades antioxidantes. É um sólido branco altamente solúvel em óleo, insolúvel em água e solúvel em etanol. Apresenta-se como uma mistura de 3-terc-butil-4-hidroxi-anisol (90%) e 2-terc-butil-4-hidroxi-anisol (10%) que inibe o crescimento de bactérias e leveduras o que pode ajudar a prevenir a contaminação microbiana em óleos. Este antioxidante pode ser

usado sozinho ou em combinação com TBHQ, butil-hidróxi-tolueno (BHT) ou propil galato (VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018). A Figura 9 ilustra o mecanismo de oxidação eletroquímica do BHA.

Figura 9 - Mecanismo de oxidação eletroquímica de BHA, formando terc-butil quinona (TBQ).



Fonte: Adaptado de (NUNES ANGELIS *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2016).

1.6.3. PY

Também é chamado de ácido pirogálico ou 1,2,3 benzenotriol com fórmula molecular C₆H₆O₃ e massa molar 126,11 g mol⁻¹. O PY foi isolado pela primeira vez por Scheele por via da destilação seca do ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidróxi-benzóico) em 1786; é solúvel em água e solventes polares, e ligeiramente insolúvel em clorofórmio e dissulfureto de carbono; sublima sem decomposição por aquecimento gradual (FIEGE *et al.*, 2012). O composto fenólico PY é usado com sucesso na prevenção da oxidação de biocombustíveis; a molécula de PY contém três grupos fenólicos OH⁻ (VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018). O PY é usado em fotografia, litografia e em tinturas de cabelo; também é usado como antioxidante e estabilizador; o seu uso nas áreas de cosméticos e de medicamentos está em declínio devido a sua toxicidade, pois, a ingestão de PY pode causar irritações severas (FIEGE *et al.*, 2012). Neste sentido, é importante monitorar o PY em amostras ambientais e aquáticas por causa da preocupação da sua toxicidade e ameaça ambiental (HUNG *et al.*, 2014). A Figura 10 mostra a formação do 3-hidroxi-1, 2-benzoquinona a partir oxidação eletroquímica do PY.

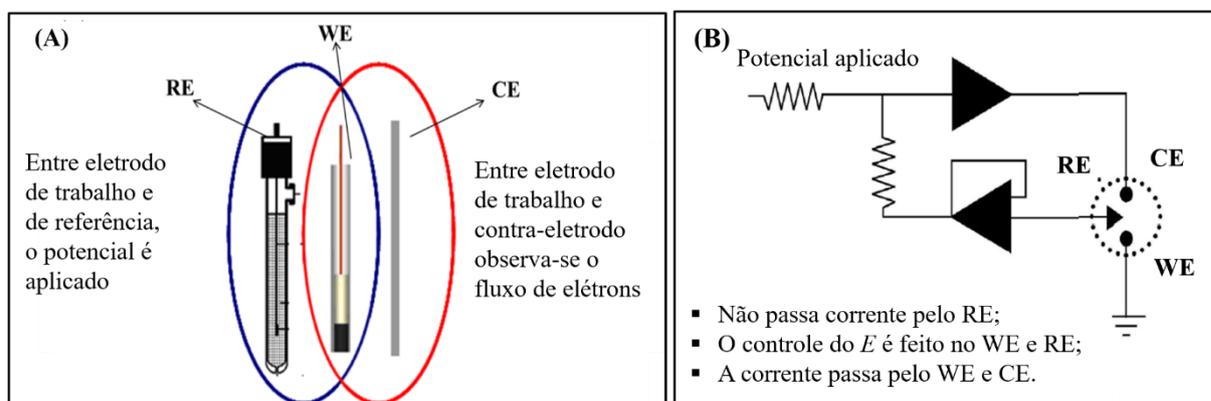
detecção e em seguida monitorado por meio de softwares (DE RESENDE; DA SILVA; PEREIRA, 2020).

A voltametria é uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, feitas durante a eletrólise dessa espécie em uma cela eletroquímica constituída de pelo menos dois eletrodos. A curva corrente versus potencial obtida é chamada de voltamograma (ALEIXO, 2003).

Os primeiros estudos sobre curvas corrente versus potencial, com aplicação na identificação e quantificação de espécies eletroativas, foram realizados pelo químico tchecoslovaco Jaroslav Heyrovský, em 1922, que empregou como eletrodo de trabalho, não polarizável, o eletrodo gotejante de mercúrio (DME, do inglês dropping mercury electrode) e denominou a técnica de polarografia (HEYROVSKÝ, 1956; RATH, 2003).

A voltametria é uma técnica eletroanalítica que se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. Essa técnica é classificada como dinâmica, pois a cela eletroquímica é operada na presença de corrente elétrica ($i > 0$) que, por sua vez, é medida em função da aplicação controlada de um potencial. Assim, nessa técnica, as informações sobre o analito são obtidas por meio da medição da magnitude da corrente elétrica que surge entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar ao se aplicar uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência (PACHECO *et al.*, 2013). As células eletroquímicas mais utilizadas são compostas por três eletrodos (Figura 11).

Figura 11 - (A) Configuração de um sistema envolvendo três eletrodos: eletrodo de trabalho (WE), eletrodo de referência (RE) e contra-eletrodo (CE) e (B) Sistema potenciostático com três eletrodos.



Fonte: Adaptado de (ALEIXO, 2003; PACHECO *et al.*, 2013).

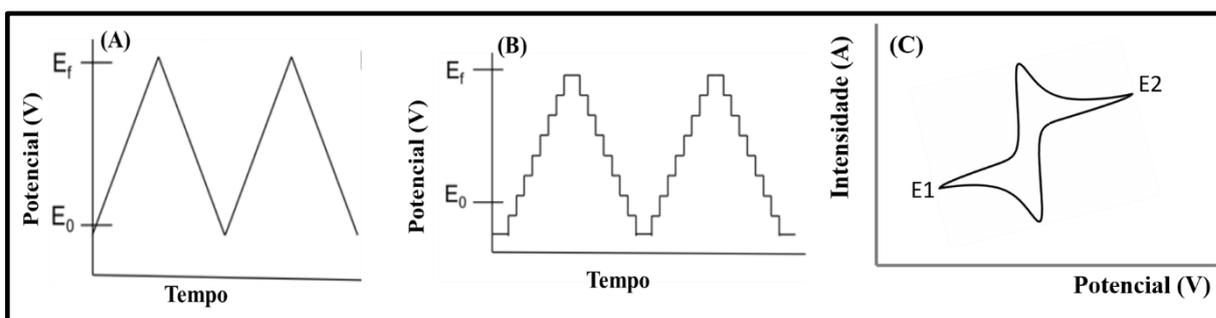
Existem três formas pela qual o transporte de massa pode ocorrer: a migração, a convecção e a difusão. Em medidas voltamétricas, as condições experimentais são ajustadas para que os transportes por migração (movimento de íons através da solução causada pela atração ou repulsão entre as espécies iônicas em solução e o eletrodo de trabalho) e convecção (movimentação das espécies causadas por perturbação mecânica do fluxo da solução) sejam minimizados. Assim, em voltametria, considera-se que o transporte de massa seja feito basicamente por difusão, ou seja movimentação espontânea da espécie química devido à formação de um gradiente de concentração das espécies eletroativas entre o seio da solução e a superfície do eletrodo de trabalho (PACHECO *et al.*, 2013).

1.7.1. Voltametria cíclica

A voltametria cíclica (CV) é a técnica mais comumente usada para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos (ELGRISHI *et al.*, 2018; PACHECO *et al.*, 2013).

A forma de aplicação do potencial na CV está representada na Figura 12, onde o potencial é varrido linearmente com o tempo no eletrodo de trabalho estacionário. Em uma solução sem agitação varia-se o potencial de forma linear alternando entre crescente e decrescente frente à referência (Figura 12A). Durante a varredura do potencial, o potenciostato registra a corrente que é gerada como função do potencial aplicado (Figura 12C). Porém, em alguns casos, o potencial é aplicado na forma de escada (*staircase*) como pode ser visto na Figura 12B, com incrementos de potenciais pequenos (da ordem de 10 mV) e tempo de duração curto (50 ms), onde a corrente é adquirida apenas no final deste intervalo (PACHECO *et al.*, 2013).

Figura 12 - Aplicação do potencial para a voltametria cíclica: (A) potencial com varredura linear; (B) potencial do tipo escada e (C) voltamograma obtido para um sistema reversível.



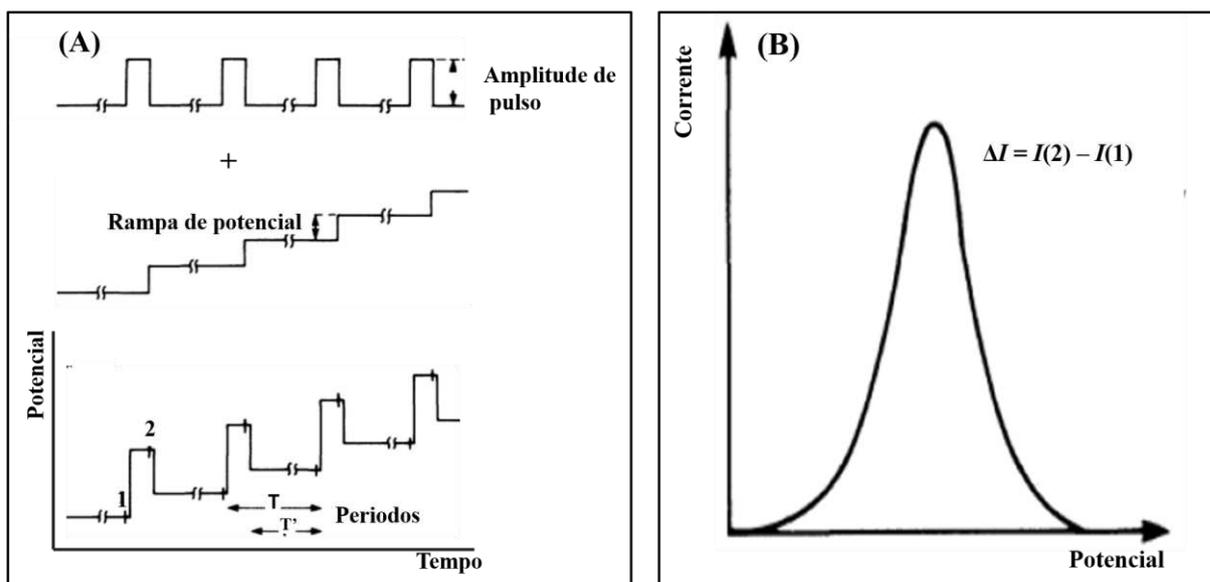
Fonte: Adaptado de (PACHECO *et al.*, 2013).

1.7.2. Voltametria de pulso diferencial

Na DPV, pulsos de amplitude fixos sobrepostos a uma rampa de potencial crescente (Figura 13A) são aplicados ao eletrodo de trabalho e a corrente é medida antes do pulso ser aplicado e no final do pulso. Estas correntes são subtraídas, já que a primeira é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradaica (ALEIXO, 2003; SOUZA *et al.*, 2003). A diferença das correntes é plotada versus o potencial aplicado (Figura 13B) (PACHECO *et al.*, 2013). O voltamograma resultante consiste de picos de corrente de forma gaussiana, cuja área deste pico é diretamente proporcional à concentração do analito, de acordo com a equação 1, sendo i_p = corrente do pico (μA); n = número de elétrons envolvido na reação redox; F = constante de Faraday (coulombs); A = área do eletrodo (cm^2); t = tempo entre o segunda e a primeira leitura de corrente (s); D = coeficiente de difusão (cm^2s^{-1}); C = concentração do analito (mmol L^{-1}); $\sigma = \exp(nF\Delta E/2RT)$; ΔE = amplitude do pulso (PACHECO *et al.*, 2013).

$$i_p = \frac{nFAD^{1/2}C}{\sqrt{\pi t}} \left(\frac{1-\sigma}{1+\sigma} \right) \quad (1)$$

Figura 13 - (A) Sinais de excitação para voltametria de pulso diferencial e (B) Forma característica de um voltamograma (DPV).



Fonte: Adaptado de (PACHECO *et al.*, 2013).

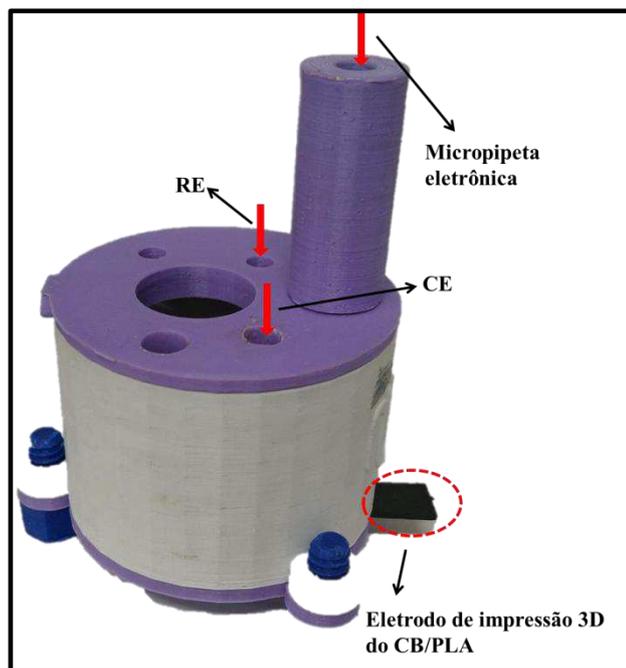
O objetivo de se fazer duas medidas da corrente e trabalhar com a diferença entre elas é a correção da corrente capacitiva. À medida que se aplica o pulso, ocorre um acréscimo da contribuição da corrente capacitiva e da corrente faradaica, mas a corrente capacitiva diminui exponencialmente, enquanto que a corrente faradaica diminui linearmente, assim, escolhendo um tempo apropriado para se fazer a segunda leitura, faz-se a medida da corrente total a um valor de corrente onde a contribuição da corrente capacitiva (não faradaica) pode ser desconsiderada. Assim, desvinculando o valor da primeira leitura de corrente da segunda, obtém-se uma minimização da contribuição da corrente de fundo. Esta correção de correntes, possibilitada pelo modo de pulso diferencial, permite obter limites de detecção da ordem de 10^{-8} mol L⁻¹ (PACHECO *et al.*, 2013).

1.7.3. Análise por injeção em batelada com detecção amperométrica

A análise por injeção em batelada, também conhecida por BIA (do inglês, *batch injection analysis*) é sistema que consiste em uma forma de injeção da amostra ou solução de analito diretamente na superfície do eletrodo, e este modo de injeção é denominado “*wall-jet*”. Foi criado em 1991 por Wang e Taha (WANG; TAHA, 1991) e proporcionou principalmente a utilização de quantidades mínimas de solução de amostra para as análises. No primeiro trabalho realizado por Wang e Taha com o sistema BIA, utilizou-se uma célula eletroquímica, associada à técnica amperometria. Nesse sistema, a amostra é injetada por meio de uma seringa ou micropipeta automática onde são gerados sinais transientes correspondentes às injeções (DE RESENDE; DA SILVA; PEREIRA, 2020).

A técnica de impressão 3D permitiu a construção de células BIA (CARDOSO *et al.*, 2018) conforme mostrada na Figura 14, contendo os eletrodos de referência e auxiliar, ambos na mesma direção de inserção da amostra e o eletrodo de trabalho (também obtido por impressão 3D em formato planar) que foi inserido na parte inferior da célula (Figura 14).

Figura 14 - Célula eletroquímica para utilização do sistema BIA.



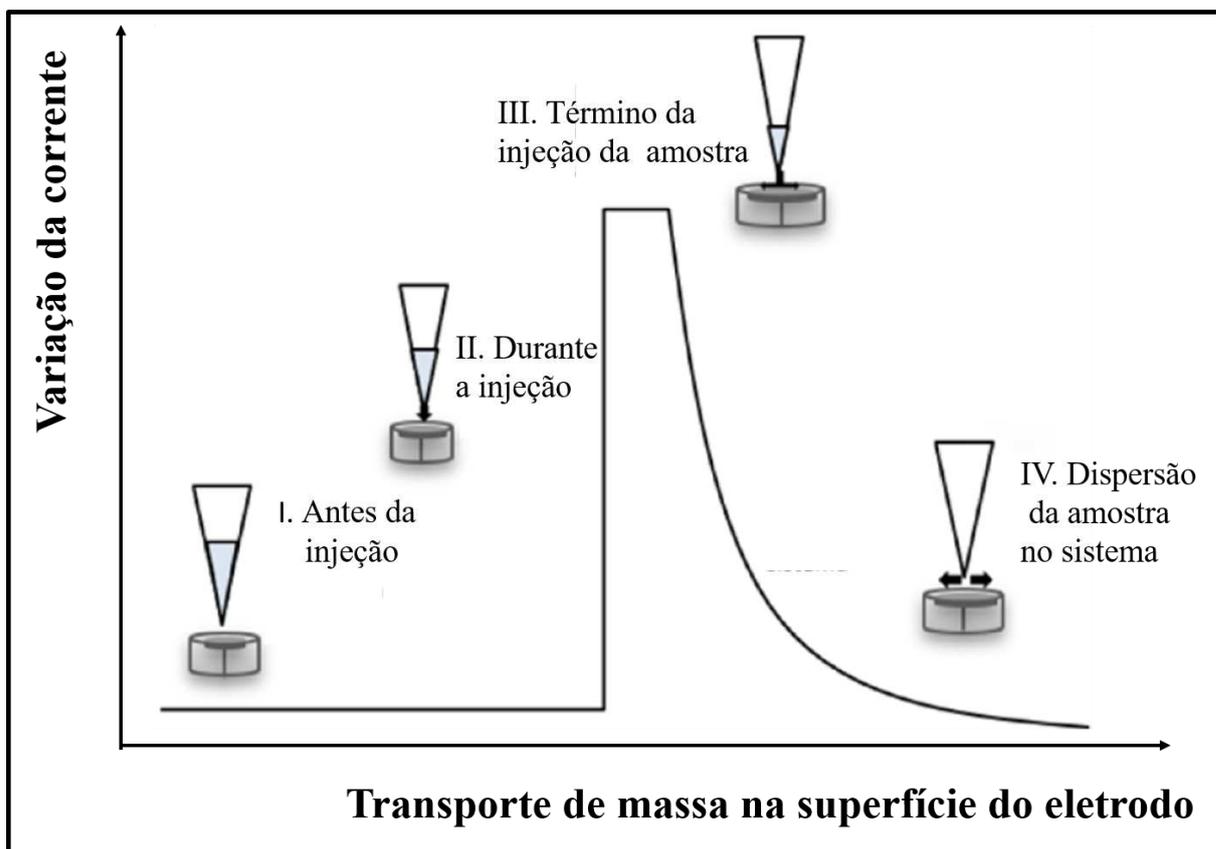
Fonte: Próprio autor (2022)

Amperometria é uma técnica eletroanalítica que envolve a aplicação de um potencial constante para que ocorra processos de redução ou oxidação na superfície do eletrodo de trabalho gerando uma corrente faradaica resultante. Tal corrente é proporcional à concentração do analito (AMINE; MOHAMMADI, 2019).

A Figura 15 ilustra as etapas na injeção de uma amostra na superfície do eletrodo usando BIA com detecção amperométrica. No primeiro momento, antes da injeção do analito, a presença do eletrólito suporte de caráter inerte apresenta resposta constante de corrente formando uma linha base, que é indicativa de que não há troca ou transferência eletrônica entre o eletrodo e a solução. Na segunda fase, durante a injeção do analito ocorre o transporte das espécies de interesse até a superfície do eletrodo e há um ganho elevado de corrente relacionado às reações redox que ocorrem no sistema; o transporte pode ser mecânico ou auxiliado por processos de convecção no sistema. Na etapa de término da injeção da amostra, ou até que todo o analito seja transferido para a superfície do eletrodo, como ilustrado em III na Figura 15, a corrente gerada por meio das reações redox é constante, enquanto acontecerem oxidação ou redução das espécies químicas. Ao fim da injeção da amostra, quando apenas os produtos da reação redox estiverem presentes na interface eletrodo/solução, estas espécies entram em um processo de transporte por difusão para o seio da solução até que o equilíbrio inicial seja

atingido e isso promove a queda brusca da corrente medida, indicado em IV na Figura 15 (DE RESENDE; DA SILVA; PEREIRA, 2020).

Figura 15 - Ilustração do processo de injeção do analito pelo sistema BIA mostrando as fases de variação de corrente em relação à presença de amostra na superfície do eletrodo.



Fonte: Adaptado de (DE RESENDE; DA SILVA; PEREIRA, 2020).

Dessa maneira, o sistema BIA com detecção amperométrica oferece algumas vantagens ao método analítico, como rapidez, precisão e aumento de sensibilidade analítica. Este sistema foi aplicado para análise de diversas amostras conforme mostram revisões de 2018 (ROCHA *et al.*, 2018) e 2022 (HAŠŠO; ŠVORC, 2022), incluindo análises de combustíveis.

Tormin e coautores mostraram que o sistema BIA com detecção amperométrica pode ser aplicado para a análise de biodiesel usando eletrodos de diamante dopado com boro (TORMIN *et al.*, 2011), carbono vítreo (TORMIN *et al.*, 2012) e ouro (TORMIN *et al.*, 2015), visando a determinação de antioxidantes e metais. Almeida *et al.* (ALMEIDA *et al.*, 2016) utilizaram o sistema BIA com detecção amperométrica para a determinação de 2,6-DTBP em amostras de biodiesel e bioquerosene utilizando eletrodo impresso de grafite, com o objetivo de desenvolver métodos analíticos com características portáteis. Cardoso e coautores

(CARDOSO *et al.*, 2017), usando BIA-AD e eletrodo modificado com nanotubos de carbono de múltiplas camadas, determinaram o antioxidante PY em amostras de biodiesel, tendo obtido resultados interessantes, como por exemplo, faixa linear ampla (0,3 - 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$), limite de detecção baixo (LD = 0,013 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e precisão boa (RSD = 3%). A Tabela 1 sumariza alguns métodos analíticos desenvolvidos usando o sistema BIA, destacando os analitos determinados, amostras, LD, eletrodo e técnicas.

Tabela 1: Métodos eletroquímicos reportados na literatura usando o sistema BIA para determinação de antioxidantes e metais em biocombustíveis.

Amostra	Técnica ¹	Eletrodo ²	Analito	LD	Referência
Biodiesel	BIA-AD	BDDE	BHA	50 nmol L ⁻¹	(TORMIN <i>et al.</i> , 2011)
Biodiesel	BIA-MPA	GCE	BHA e TBHQ	73 e 75 nmol L ⁻¹	(TORMIN <i>et al.</i> , 2012)
Bioetanol	BIA-ASV	GCE/MFE	Cd, Pb e Cu	$\leq 1 \mu\text{g L}^{-1}$	(TORMIN <i>et al.</i> , 2014)
Bioetanol	BIA-ASV	GE	Zn	5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	(TORMIN <i>et al.</i> , 2015)
Biodiesel	BIA-ASV	SPGE	Pb, Cu e Hg	1,0, 0,5 e 0,7 $\mu\text{g L}^{-1}$	(TORMIN <i>et al.</i> , 2016)
Biodiesel/ bioquerosene	BIA-AD	SPGrE	2,6-DTBP	2,9 mg L ⁻¹	(ALMEIDA <i>et al.</i> , 2016)
Biodiesel	BIA-AD	GCE/ MWCNT	PY	0,013 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(CARDOSO <i>et al.</i> , 2017)

Fonte: Próprio autor (2022).

¹BIA-AD: análise por injeção em batelada com detecção amperométrica; BIA-MPA análise por injeção em batelada com detecção amperométrica de múltiplos pulsos; BIA-ASV: Análise por Injeção em Batelada acoplada à Voltametria de redissolução anódica.

²BDDE: eletrodo de diamante dopado com boro; GCE: eletrodo de carbono vítreo; GCE/MWCNT: eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de múltiplas camadas; MFE: eletrodo de filme de mercúrio; GE: eletrodo de ouro; SPGE: eletrodo impresso de ouro; GCE/MFE: eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de mercúrio; SPGrE: eletrodo impresso de grafite.

1.8. Objetivos

1.8.1. Objetivo geral

Desenvolver métodos eletroanalíticos para a determinação de antioxidantes em biocombustíveis usando dispositivos impressos em 3D.

1.8.2. Objetivos específicos:

- a) Produzir e avaliar o desempenho dos eletrodos fabricados usando a caneta 3D e filamentos condutivos comerciais bastante difundidos a base de CB-PLA para determinação de antioxidantes em biocombustíveis;
- b) Investigar o perfil voltamétrico e ou amperométrico de CT, HQ, BHA, TBHQ, PG, OG, DP, 2,6-DTBP e PY;
- c) Desenvolver métodos voltamétricos e amperométricos para a determinação de antioxidantes em biocombustíveis;
- d) Aplicar os métodos desenvolvidos para a determinação de BHA, TBHQ, 2,6-DTBP e PY em biodiesel e bioquerosene;
- e) Comparar os resultados obtidos pelo método proposto com outros métodos eletroanalíticos reportados na literatura.

CAPÍTULO II: PARTE EXPERIMENTAL

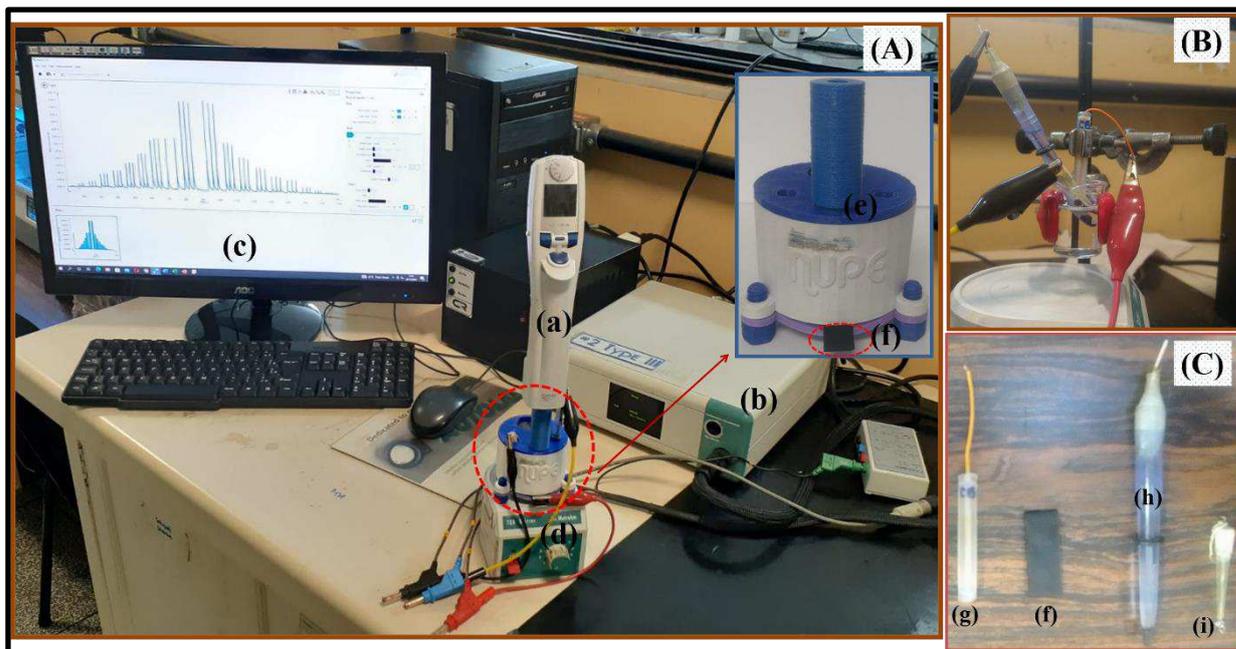
2.1. Instrumentação, célula eletroquímicas e eletrodos

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas usando um potenciostato/galvanostato μ -AUTOLAB tipo III (Metrohm Autolab BV, Utrecht, Holanda) conectado a um computador (Figura 16). Os softwares NOVA 1.11.0 e 2.1.4 para *windows* 10 foram usados para controlar o instrumento. Os dados foram tratados usando o software OriginPro8.5 (OriginLab[®], Northampton, MA, EUA). Para os experimentos envolvendo CV e DPV, um béquer de 10 mL foi usado como célula eletroquímica. Os experimentos amperométricos foram feitos em célula eletroquímica BIA impressa em 3D (volume interno de 100 mL), como prototipado por Cardoso *et al* (CARDOSO *et al.*, 2018). Neste sistema de análise (BIA), todas as injeções foram conduzidas usando uma micropipeta eletrônica Eppendorf (multipette[®] E3, Hamburgo, Alemanha), que permite injeções de 1 μ L a 1 mL, usando um combitip[®] (Hamburgo, Alemanha) de 1 mL, numa taxa de velocidade programável (de 16,9 a 298,5 μ L s⁻¹).

Os eletrodos de referência e auxiliar foram Ag|AgCl|KCl_(sat.) e fio de platina imobilizado em ponteira de micropipeta, respectivamente. Para os eletrodos de trabalho, dois protótipos diferentes foram propostos (cilíndrico e planar), ambos compostos por filamento condutor de negro de fumo/ácido polilático (CB-PLA) (Proto-Pasta[®]) adquirida da Proto Plant Inc. (Vancouver, EUA). As medidas voltamétricas foram feitas usando eletrodo cilíndrico, o qual será descrito mais adiante no texto, enquanto que o eletrodo planar foi empregado para executar os experimentos amperométricos.

Impressora de processamento digital de luz UV (DLP) Photon (impressora 3D de resina) obtida de ANYCUBIC Co. Ltd. (Shenzhen, China) com resina acrílica curável por UV (UV-LED, $\lambda = 405$ nm, resolução XY de 47 μ m, potência nominal de 40W, Software: ANYCUBIC Photon (Slicer)) foi usada para imprimir os cilindros personalizados (3,5 cm de comprimento x 3,8 mm de diâmetro). O modelo do substrato foi projetado usando o software 2.81a e o arquivo STL foi gerado por ChituboxTM (Shenzhen, China). Uma caneta 3D adquirida da Sanmersen (Shenzhen, China) foi usada para imprimir a parte condutiva deste eletrodo. A impressora 3D do tipo FDM obtida da Dreamer NX, Flash Force (Zhejiang, China) foi usada para a fabricação do eletrodo CB-PLA planar. As imagens da superfície do eletrodo CB-PLA impresso em 3D foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura usando um instrumento Vega 3-Tescan (TESCAN, Brno-Kohoutovice, República Tcheca) operando a 20 kV.

Figura 16 - Descrição do equipamento básico usado nas medidas analíticas: (A) Sistema BIA; (B) Célula eletroquímica usada em experimentos voltamétricos; (C) Eletrodos usados; (a) micropipeta eletrônica Eppendorf; (b) potenciostato / galvanostato μ -AUTOLAB tipo III; (c) computador e software; (d) agitador; (e) célula eletroquímica (BIA); (f) eletrodo de trabalho (planar); (g) eletrodo de trabalho (cilíndrico); (h) eletrodo de referência e (i) eletrodo auxiliar.



Fonte: Próprio autor (2022).

2.2. Reagentes, soluções e amostras

Os reagentes utilizados nos experimentos estão listados na Tabela 2, de acordo com sua procedência, bem como seus respectivos graus de pureza. Todas soluções foram preparadas em água deionizada ($R \geq 18 \text{ M}\Omega\text{cm}$) obtida do sistema de purificação de água Milli Q (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Tabela 2 - Especificações dos reagentes utilizados no preparo de soluções e amostras para a realização dos experimentos.

Reagentes	Teor (grau)	Empresa	Origem
Ácido perclórico concentrado	70,0% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro, Brasil
Ácido acético	99,7% (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro, Brasil
Ácido nítrico	65,0 % (m/v)	Vetec	Rio de Janeiro, Brasil
Etanol	99,8% (v/v)	Synth	São Paulo, Brasil
Ácido sulfúrico	98,0% (m/v)	Synth	São Paulo, Brasil
Ácido clorídrico concentrado	37,0% (m/v)	Synth	São Paulo, Brasil
Ácido fosfórico	85,0% (m/v)	Synth	São Paulo, Brasil
Ácido bórico	99,9% (m/m)	Acros Organics	New Jersey, EUA
Hidróxido de sódio	98,0 % (m/m)	Synth	São Paulo, Brasil
Cloreto de potássio	99,5% (m/m)	Carlo Erba	Cornaredo, Itália
Cloreto de hexaaminorutênio (III)	98,0% (m/m)	Sigma-Aldrich	St. Louis, EUA
Terc-butilhidroquinona (TBHQ)	99,0% (m/m)	Sigma-Aldrich	St. Louis, EUA
2,6 Di-terc-butil fenol (2,6-DTBP)	99,0% (m/m)	Sigma-Aldrich	St. Louis, EUA
Butil hidróxi- anisol (BHA)	98,5% (m/m)	Synth	Diadema, Brasil
Catecol (CT)	99,0% (m/m)	Acros Organics	New Jersey, EUA
Hidroquinona (HQ)	99,0% (m/m)	Vetec	Rio de Janeiro, Brasil
Octil galato (OG)	$\geq 99\%$ (m/m)	Sigma-Aldrich	St. Louis, EUA
Dopamina (DP)	98,0% (m/m)	Sigma-Aldrich	St. Louis, EUA
Ácido gálico (GA)	$\geq 97,5\%$ (m/m)	Sigma-Aldrich	St. Louis, EUA
Propil galato (PG)	$\geq 98\%$ (m/m)	Sigma-Aldrich	St. Louis, EUA
Pirogalol (PY)	$\geq 98\%$ (m/m)	Sigma-Aldrich	St. Louis, EUA

Fonte: Próprio autor (2022).

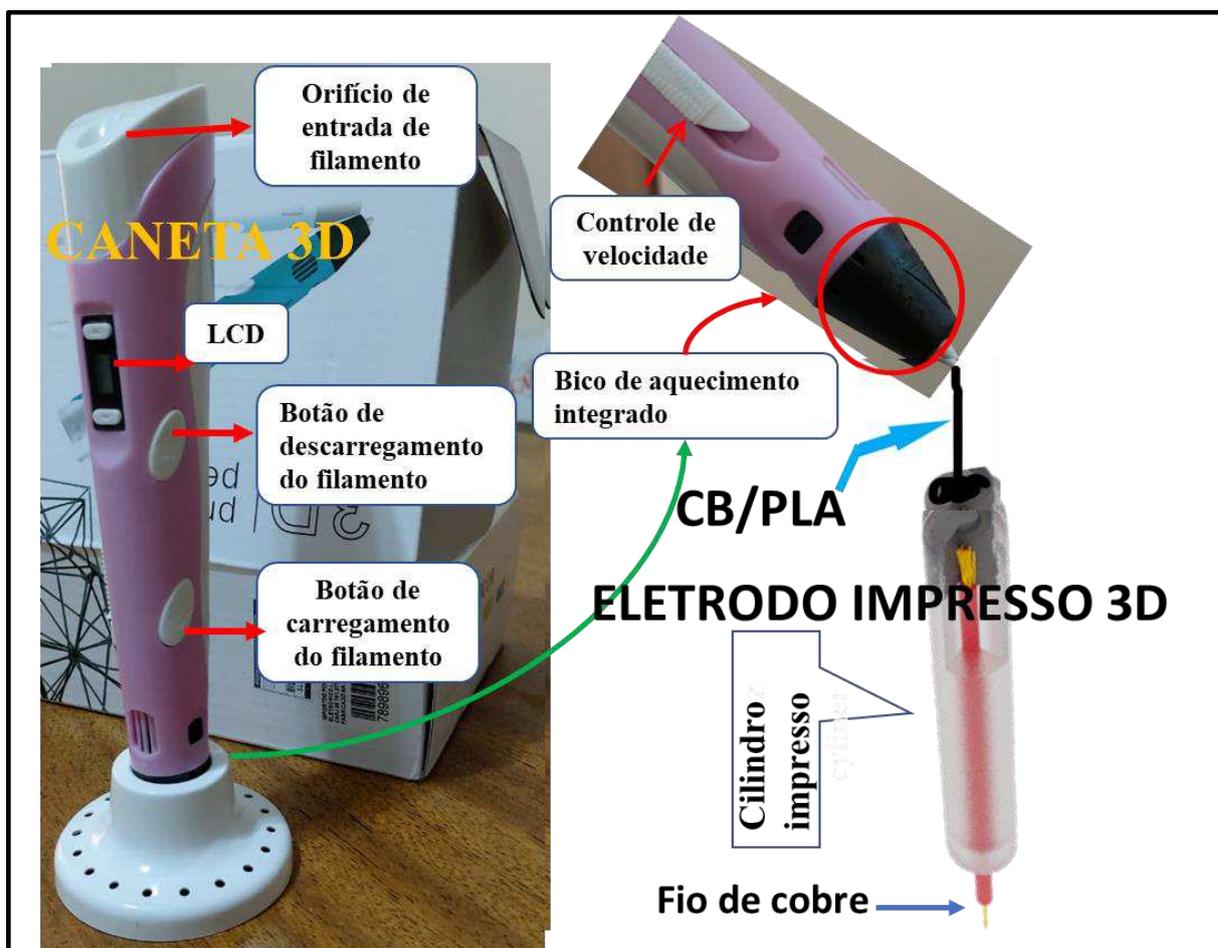
As soluções padrões de Cu (II), Fe (III), Pb (II), Mn (II), Zn (II) e Cd (II) (todas elas 1000 mg L⁻¹) foram compradas da Quimlab (Jacarei, Brasil). As soluções padrão de estoque de TBHQ, BHA, 2,6-DTBP, PY, PG, OG e GA (todas em 10 mmol L⁻¹) foram preparadas em etanol (99,8% v/v), enquanto CT, HQ e DP foram preparadas em água deionizada. A solução tampão Britton-Robinson (BR) na concentração de 0,12 mol L⁻¹ foi preparada usando soluções de ácido acético, bórico e fosfórico, todos em 0,04 mol L⁻¹. O ajuste do pH foi realizado com solução de hidróxido de sódio 1,0 mol L⁻¹.

Foram analisados dois tipos de amostras de biodiesel, um produzido a partir de óleo de soja em laboratório de acordo com os procedimentos na literatura (SERQUEIRA *et al.*, 2014) e outro obtido da usina de biodiesel (Caramuru, Itumbiara, Brasil) identificado no texto como biodiesel comercial. Estas amostras de biocombustíveis estavam isentas de antioxidantes de acordo com análises anteriores. O bioquerosene foi produzido em laboratório de acordo com protocolo anterior relatado na literatura e usado para detecção do 2,6-DTBP (LLAMAS *et al.*, 2012).

2.3. Produção e tratamento eletroquímico dos eletrodos CB-PLA impressos em 3D

Os eletrodos CB-PLA (cilíndricos) foram produzidos conforme relatado por Cardoso (CARDOSO *et al.*, 2020b). Vinte e cinco (25) cilindros personalizados (3,5 cm de comprimento x 3,8 mm de diâmetro) foram impressos em 3D em série usando resina acrílica. O substrato cilíndrico de acrílico impresso foi customizado com orifícios axiais para inserir fios de cobre para o contato elétrico. Em seguida, a caneta 3D foi usada para imprimir a parte condutiva de cada eletrodo usando o filamento condutor CB-PLA no sítio oco do corpo cilíndrico impresso, previamente munido do fio de cobre. Esta etapa foi feita manualmente e leva cerca de um minuto para cada eletrodo. A Figura 17 ilustra a caneta 3D usada neste trabalho com suas diferentes partes constituintes e processo de introdução do filamento condutor CB-PLA usando botões de carregamento e de descarregamento da caneta. A caneta 3D possui um controlador de velocidade e um bico de aquecimento integrado do qual o filamento fundido é liberado. À direita da Figura 17, mostra-se a aplicação da caneta 3D na introdução do filamento CB-PLA dentro cilindro personalizado impresso em 3D e no lado oposto do cilindro, mostra-se a introdução concêntrica do fio de cobre para contato elétrico com potenciostato.

Figura 17 - Componentes da caneta 3D e seu uso na produção de eletrodo.



Fonte: Próprio autor (2021).

A fabricação do eletrodo CB-PLA planar usando a impressora 3D do tipo FDM foi feita baseando-se nos trabalhos anteriores (CARDOSO *et al.*, 2018; ROCHA *et al.*, 2020). Resumidamente, 4 eletrodos (40 mm de comprimento x 15 mm de largura x 1,8 mm de altura) foram impressos usando filamento condutor de CB-PLA. A altura da camada foi fixada em 0,25 mm, com 2 perímetros e 100 % de densidade de preenchimento. O eletrodo impresso foi acoplado a célula eletroquímica BIA impressa em 3D para medidas amperométricas. A área geométrica deste eletrodo de trabalho foi limitada pelo diâmetro interno (0,54 cm) de um anel de vedação (*O-ring*) (área = 0,229 cm²).

Depois dos processos de fabricação, a superfície do eletrodo de trabalho CB-PLA impresso em 3D (cilíndrico e planar), foi polida em uma lixa (600 *grit* e depois de 1200 *grit*) umedecida com água ultrapura até a obtenção de uma superfície homogênea. Em seguida, o tratamento eletroquímico dos eletrodos CB-PLA impressos em 3D foi feito antes dos experimentos subsequentes, por amperometria, usando NaOH 0,5 mol L⁻¹ como eletrólito

suporte, aplicando o potencial de +1,4 V (vs. Ag|AgCl|KCl_{sat.}) por 200 s, seguido por -1,0 V (vs. Ag|AgCl| KCl_{sat.}) pelo mesmo tempo. Este protocolo foi adaptado de um trabalho anterior que mostrou grande exposição de partículas condutoras de negro de fumo (CB) (RICHTER *et al.*, 2019).

2.4. Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram executadas sem a remoção do oxigênio dissolvido e em temperatura ambiente do laboratório (em torno de 25° C). O processo de polimento e ativação eletroquímica, empregando NaOH 0,5 mol L⁻¹, foram realizados sequencialmente no início de cada dia de trabalho conforme o descrito na secção 2.3.

Para os experimentos voltamétricos, o eletrólito de suporte foi avaliado usando a CV na presença de 1 mmol L⁻¹ de cada antioxidante (TBHQ, BHA e 2,6-DTBP) em: H₂SO₄ 0,05 mol L⁻¹; HCl 0,1 mol L⁻¹; HClO₄ 0,1 mol L⁻¹; HNO₃ 0,1 mol L⁻¹ e CH₃COOH 0,1 mol L⁻¹; todos preparados em 10% (v/v) etanol. A CV também foi usada para a otimização do pH do eletrólito de suporte (tampão BR) e o estudo da velocidade de varredura usando [Ru(NH₃)₆]³⁺ 5 mmol L⁻¹ para o cálculo de constante de carga heterogênea (K⁰) e de área eletroquímica efetiva do eletrodo CB-PLA impresso em 3D antes e após o tratamento eletroquímico. Além disso, o comportamento eletroquímico de 10 espécies antioxidantes (TBHQ, BHA, 2,6-DTBP, PY, CT, HQ, PG, GA, DP e OG) foi realizado usando eletrodo não tratado e tratado, por meio da CV.

Para determinação simultânea de TBHQ e BHA foi realizada a otimização dos parâmetros de DPV (incremento de potencial, amplitude, tempo de modulação e tempo de intervalo) baseada nos experimentos univariados usando 50 µmol L⁻¹ de cada antioxidante em HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 10% de etanol como eletrólito suporte. Por outro lado, para determinação de PY, os parâmetros do BIA-AD (potencial de trabalho, velocidade de injeção e volume injetado) foram avaliados usando a solução padrão de PY 100 µmol L⁻¹ com medidas em triplicata, afim de fornecer boa seletividade, aumento na resposta analítica, menor consumo de reagente e maior frequência analítica.

O método por adição padrão foi utilizado para a quantificação dos antioxidantes TBHQ e BHA usando a técnica DPV e 2,6-DTBP por CV. Por outro lado, curvas de calibração externa foram utilizados para a quantificação de PY em todas as amostras de biodiesel usando o sistema BIA-AD.

2.5. Preparo de amostras de biodiesel e bioquerosene

Para as análises por DPV e CV, as amostras de biodiesel (comercial e de soja) e de bioquerosene de coco foram preparadas separadamente em uma razão de diluição correspondente a 1:10 biocombustível/etanol (v/v). Posteriormente, uma alíquota de 20 μL (0,0018 g) de biocombustível diluído foi adicionada a HClO_4 0,1 mol L^{-1} (10 mL). Para a determinação direta de TBHQ e BHA em biodiesel e 2,6-DTBP em bioquerosene, o método de adição padrão foi aplicado.

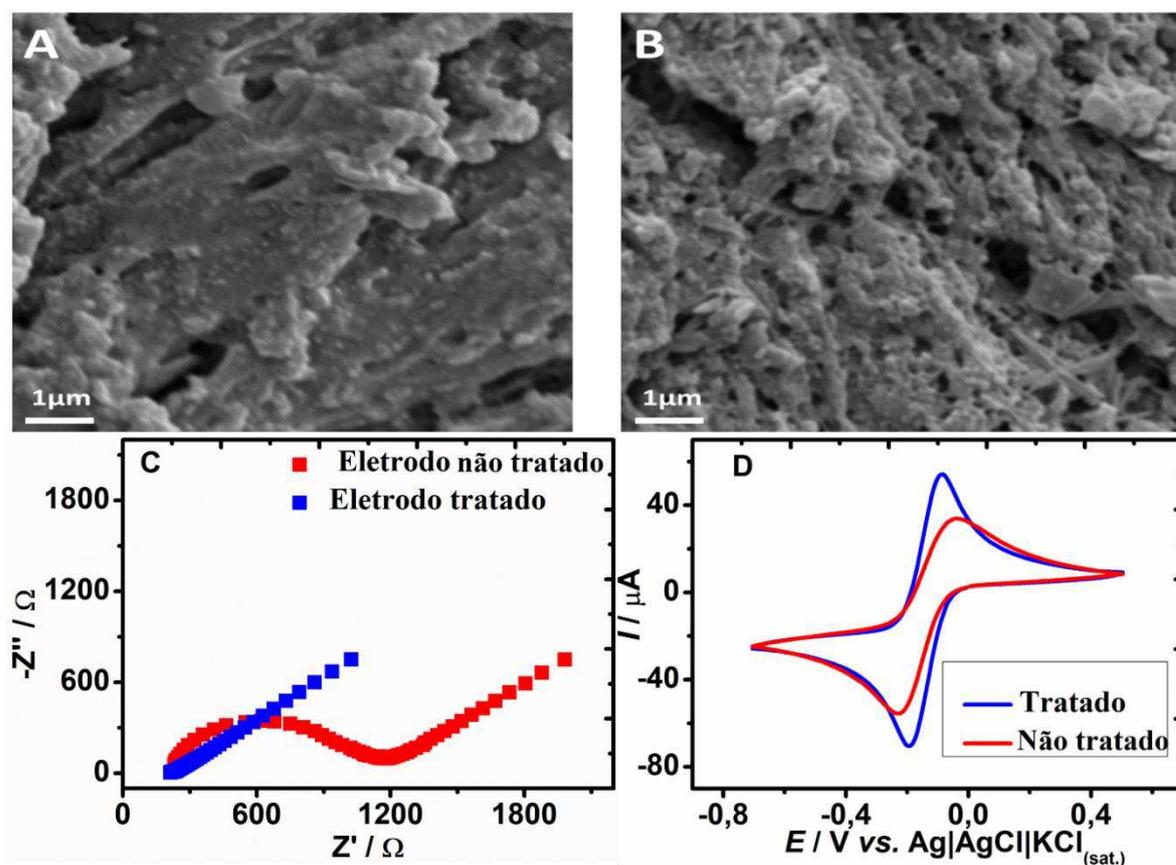
Para os experimentos amperométricos, as amostras de biodiesel (comercial e de soja) foram diluídas 40 vezes em etanol, e em seguida, uma alíquota de 1 mL (0,09 g) desta solução foi adicionada a um frasco volumétrico de 10 mL e o menisco ajustado com tampão BR (0,12 mol L^{-1} , pH 6,0). As amostras foram injetadas no sistema BIA-AD em eletrodo CB-PLA impresso em 3D aplicando +0,4 V sob condições otimizadas.

CAPÍTULO III: RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização microscópica e eletroquímica do eletrodo CB-PLA impresso em 3D

As morfologias das superfícies não tratada e tratada eletroquimicamente foram estudadas inicialmente por microscopia eletrônica de varredura (MEV), conforme mostrada nas Figuras 18A e 18B. Após o processo de tratamento de superfície é possível observar o aumento da porosidade na superfície, visto que a solução de NaOH consome o material termoplástico (PLA) via reação de saponificação (WIRTH *et al.*, 2019), resultando numa maior disposição de sítios condutores (maior exposição de partículas condutoras de CB). Registros voltamétricos cíclicos (Figura 18D) usando o par redox $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, bem como medidas por impedância eletroquímica (gráficos de Nyquist, Figura 18 C) confirmam esta observação, uma vez que a resistência a transferência de carga diminuiu de 1,2 k Ω para 0,19 k Ω após o tratamento eletroquímica de superfície, o que possibilitou uma transferência de elétrons mais rápida.

Figura 18 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície do eletrodo CB-PLA antes (A) e depois (B) do tratamento eletroquímico usando NaOH 0,5 mol L⁻¹ (+1,4 V / 200 s e -1,0 V / 200 s); (C) Gráfico de Nyquist de impedância para eletrodo não tratado (linha vermelha) e tratado (linha azul) adquirido na presença do par redox $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ (5,0 mmol L⁻¹); (D) Voltamogramas cíclicos para $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 5,0 mmol L⁻¹.

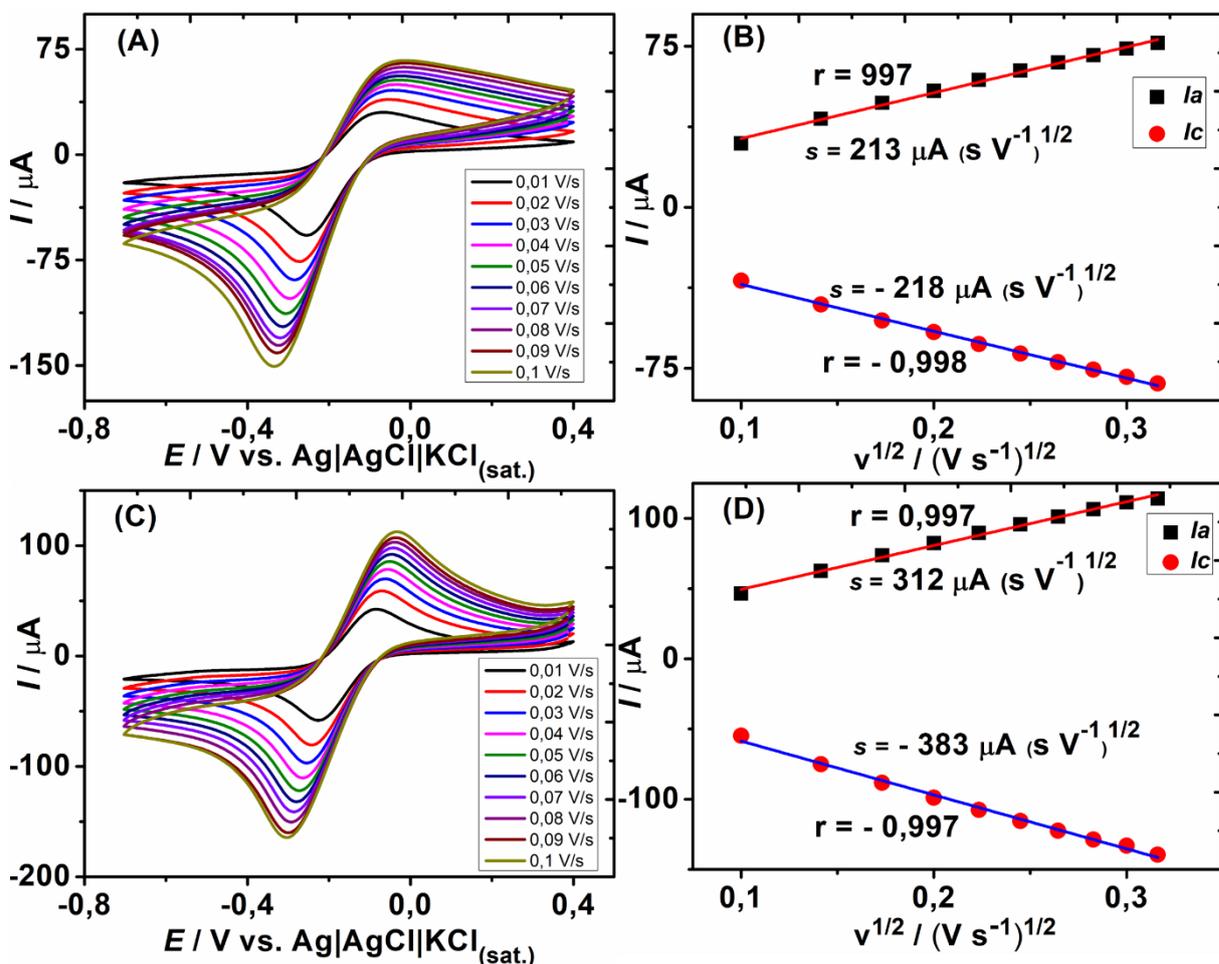


Fonte: Próprio autor (2021).

A Figura 19 mostra o estudo de velocidade de varredura por voltametria cíclica usando 5 mmol L^{-1} de $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ obtido para calcular a área eletroquímica efetiva do eletrodo CB-PLA impresso em 3D antes e após o tratamento de superfície, usando a equação de Randles-Sevcik (PAIXÃO, 2020). As áreas eletroquímicas efetivas foram estimadas em $0,057$ e $0,10 \text{ cm}^2$ para a superfície sem e com tratamento eletroquímico, respectivamente. Neste sentido, o ganho de corrente observado na Figura 19 está relacionado com o aumento sítios eletroativos (cerca de duas vezes) do eletrodo CB-PLA após ativação eletroquímica. Tal comportamento está de acordo com outros estudos reportados na literatura científica (RICHTER *et al.*, 2019; ROCHA *et al.*, 2020).

Fez-se o cálculo da constante de carga heterogénea (K^0) usando o método de Nicholson (NICHOLSON, 1965) e foi observado um aumento ligeiro de K^0 (cerca de 4×10^{-7}) após o tratamento eletroquímico da superfície do eletrodo. Os valores de K^0 obtidos antes e depois do tratamento eletroquímico foram $0,0039126 \text{ cm s}^{-1}$ e $0,0039130 \text{ cm s}^{-1}$, respectivamente. A similaridade entre os valores de K^0 pode ser explicada pelo uso de uma sonda de esfera externa ($[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$) que é insensível a razão de grupos C-O presentes na superfície do eletrodo (RICHTER *et al.*, 2019).

Figura 19 - Registros voltamétricos cíclicos obtidos para $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no eletrodo CB-PLA não tratado (A) e tratado (C) em diferentes velocidades de varredura ($0,01$ a $0,1 \text{ V s}^{-1}$). (B e D) Relação entre as correntes de pico anódica e catódica em função de raiz quadrada da velocidade de varredura. Condições: incremento de potencial: 5 mV .



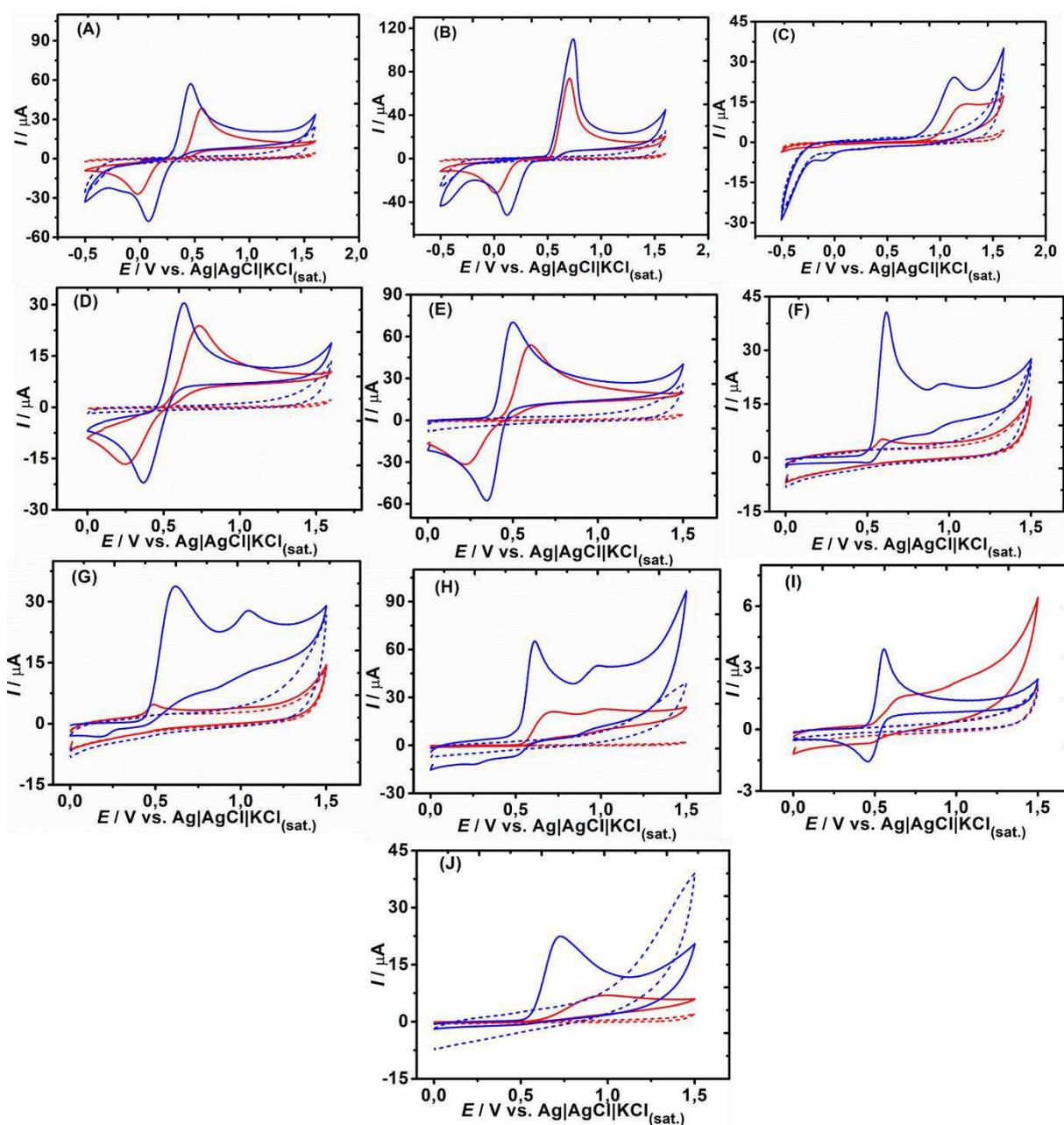
Fonte: Próprio autor (2022).

3.2. Estudos dos antioxidantes por voltametria cíclica usando eletrodo CB-PLA impresso em 3D

Os perfis eletroquímicos dos dez antioxidantes foram investigados usando o eletrodo CB-PLA impresso em 3D. A Figura 20 mostra os voltamogramas de TBHQ, BHA, 2,6-DTBP, CT, HQ, PG, PY, GA, DP e OG em HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ antes (linhas vermelhas) e após o tratamento eletroquímico de superfície (linhas azuis), com seus respectivos brancos (linhas tracejadas). A escolha do HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10% de etanol como eletrólito suporte baseou-se em estudos prévios do próprio grupo de pesquisa que reportaram melhor sinal analítico nesta condição (CARDOSO *et al.*, 2017; TORMIN *et al.*, 2012). Pode-se observar que

o tratamento eletroquímico da superfície do eletrodo CB-PLA de impresso em 3D melhorou consideravelmente a atividade eletroquímica (ganho de corrente), e em alguns casos providenciou a antecipação dos processos de oxidação.

Figura 20 - Registros voltamétricos cíclicos para 1 mmol L⁻¹ de cada antioxidante (A) TBHQ, (B) BHA, (C) 2,6-DTBP, (D) CT (E) HQ, (F) PG, (G) PY, (H) GA (I) DP e (J) OG em HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 10% (v/v) etanol, antes (linha sólida vermelha) e depois (linha sólida azul) do tratamento químico/eletroquímico do eletrodo. As linhas tracejadas correspondem aos seus respectivos brancos. Condições: taxa de varredura: 50 mV s⁻¹ e incremento de potencial: 5 mV.



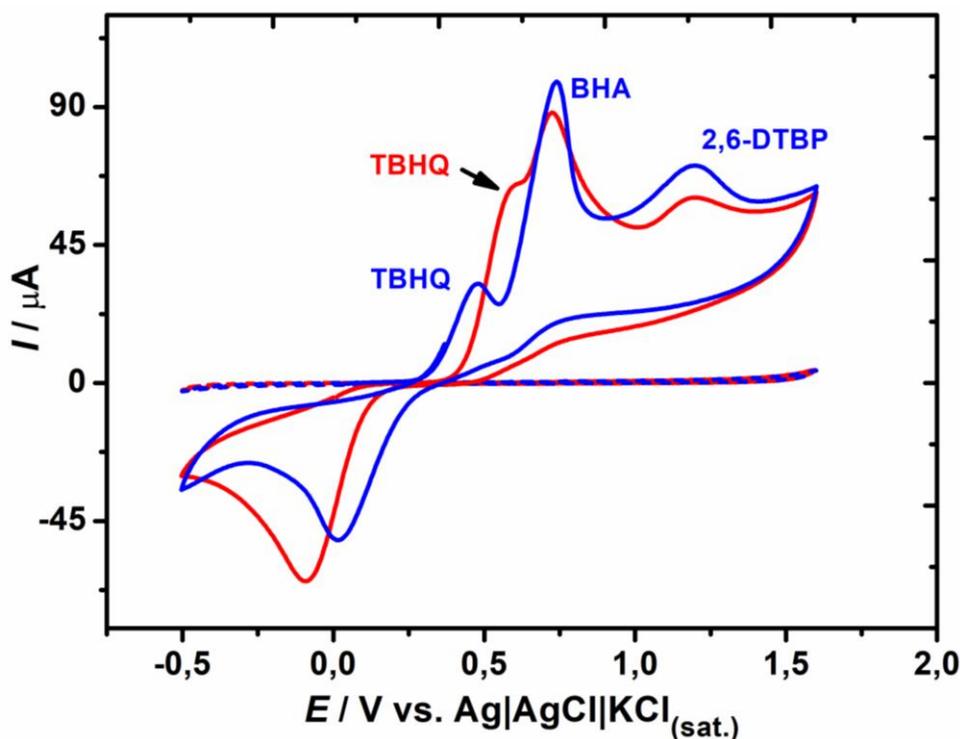
Fonte: Próprio autor (2021).

De fato a Figura 20 mostra que a oxidação eletroquímica dos dez antioxidantes é melhorada em eletrodo CB-PLA impresso em 3D (tratado) com picos de oxidação em +0,45 V para TBHQ, +0,75 V para BHA, +1,25 V para 2,6-DTBP, +0,55 V para CT, +0,48 V para HQ, +0,62 V para PG, +0,60 V para PY, +0,59 V para GA, +0,55 V para DP e +0,78 V para OG. Os antioxidantes TBHQ, BHA, 2,6-DTBP e PY foram selecionados para os estudos posteriores, uma vez que são os mais empregados em biocombustíveis. Já os antioxidantes HQ, CT, GA e DP são de interesse farmacêutico e biológico e foram avaliados apenas para confirmar a mesma tendência observada para os demais antioxidantes.

As oxidações eletroquímicas de TBHQ e BHA ocorrem através da formação dos derivados da quinona (CARAMIT *et al.*, 2013; TORMIN *et al.*, 2012) que explicam os processos de oxidação facilitados em comparação com 2,6-DTBP cujo o processo de oxidação ocorre através da formação de radical (ALMEIDA *et al.*, 2016). De acordo com a literatura, todos os processos são dependentes do pH e envolvem a transferência de dois elétrons (ALMEIDA *et al.*, 2016; CARAMIT *et al.*, 2013; TORMIN *et al.*, 2012). Curiosamente, todos os processos de oxidação eletroquímica foram facilitados no eletrodo CB-PLA impresso em 3D após tratamento (linhas azuis) provavelmente pela formação de espécies oxigenadas e exposição maior de partículas de CB como já reportado na literatura (ROCHA *et al.*, 2020).

As oxidações de TBHQ e 2,6-DTBP foram antecipadas em 200 mV e foi possível verificar maior reversibilidade eletroquímica e maiores correntes, além do surgimento do processo de redução na varredura reversa para 2,6-DTBP que não era evidente no eletrodo não tratado. Ressalta-se também que o tratamento eletroquímico da superfície do eletrodo proporcionou uma separação maior entre os picos de oxidação de TBHQ e BHA devido ao deslocamento do potencial ocorrido para TBHQ, que contribuiu para a determinação simultânea de TBHQ e BHA. Para confirmar esta afirmação, a Figura 21 mostra os voltamogramas cíclicos dos três antioxidantes na mesma varredura (mistura equimolar de TBHQ, BHA e 2,6-DTBP) no eletrodo CB-PLA impresso em 3D, antes e depois do tratamento eletroquímico da superfície.

Figura 21 - Registros voltamétricos cíclicos para 1 mmol L⁻¹ de cada antioxidante (TBHQ, BHA e 2,6-DTBP) no eletrólito de suporte HClO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo 10% (v/v) etanol antes (linha sólida vermelha) e depois (linha sólida azul) do tratamento químico/eletroquímico da superfície do eletrodo. As linhas tracejadas correspondem aos seus respectivos brancos. Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹ e incremento de potencial: 5 mV.



Fonte: Próprio autor (2021).

O voltamograma cíclico para os três antioxidantes no eletrodo de CB-PLA impresso em 3D, não tratado, apresenta na mesma varredura respostas sobrepostas para TBHQ e BHA, enquanto o terceiro pode ser discriminado. Por outro lado, o mesmo registro voltamétrico obtido no eletrodo CB-PLA tratado eletroquimicamente proporcionou separação maior entre os picos de oxidação de TBHQ e BHA, o que é necessário para determinação simultânea dos dois antioxidantes que podem ser encontrados juntos no biodiesel.

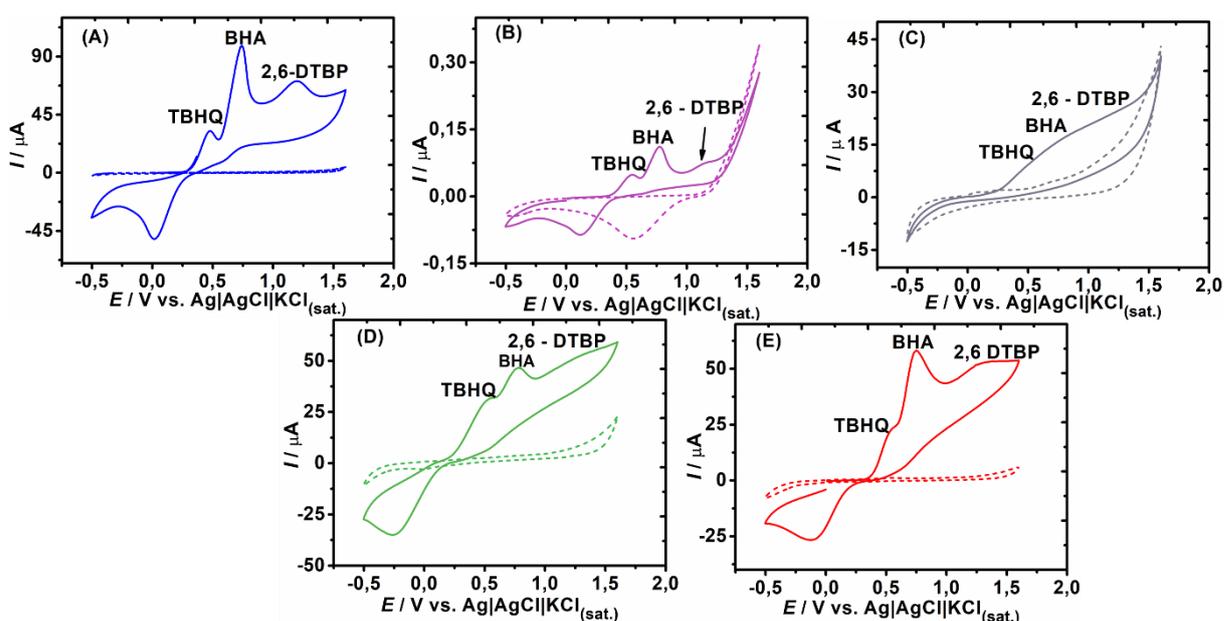
O efeito de tratamento eletroquímico da superfície deslocou o pico de oxidação de TBHQ, que pode estar relacionado a uma interação superficial entre os grupos oxigenados gerados no eletrodo CB-PLA e este antioxidante. Ataíde e coautores avaliaram em detalhes as mudanças de superfície do eletrodo CB-PLA de impresso em 3D após o tratamento eletroquímico em solução NaOH usando espectroscopia de Raios-X (ATAÍDE *et al.*, 2021) e os autores revelaram que o aumento nos grupos C-C que indicavam a formação de grupos grafíticos após o tratamento provavelmente devido ao consumo de PLA que expôs mais as

partículas CB. Tal modificação de superfície contribuiu para a oxidação eletroquímica aprimorada dos antioxidantes; no entanto, uma investigação mais aprofundada é necessária para compreender e provar esta hipótese.

3.3. Estudo do eletrólito de suporte para determinação voltamétrica de TBHQ, BHA e 2,6-DTBP

A voltametria cíclica dos três antioxidantes (TBHQ, BHA e 2,6-DTBP) foi investigada nas diferentes soluções ácidas, HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{CH}_3\text{-COOH}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ usadas como eletrólito de suporte, conforme é mostrada na Figura 22. Picos bem definidos para TBHQ, BHA e 2,6-DTBP e correntes maiores foram observados em HClO_4 contendo 10% (v/v) etanol; e por este motivo esta solução foi selecionada nos experimentos subsequentes. TBHQ e BHA podem ser encontrados concomitantemente no biodiesel devido ao efeito sinérgico dos antioxidantes na estabilidade da oxidação, enquanto 2,6-DTBP é adicionado no bioquerosene usado como combustível de aviação. Assim, na próxima seção, a determinação simultânea de TBHQ e BHA no biodiesel será focada.

Figura 22 - Registros voltamétricos cíclicos para 1 mmol L^{-1} de cada antioxidante, TBHQ, BHA e 2,6-DTBP em: (A) HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (B) HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (C) HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (D) $\text{CH}_3\text{-COOH}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e (E) H_2SO_4 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$; todos preparados em 10% (v/v) etanol. Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV .



Fonte: Próprio autor (2021).

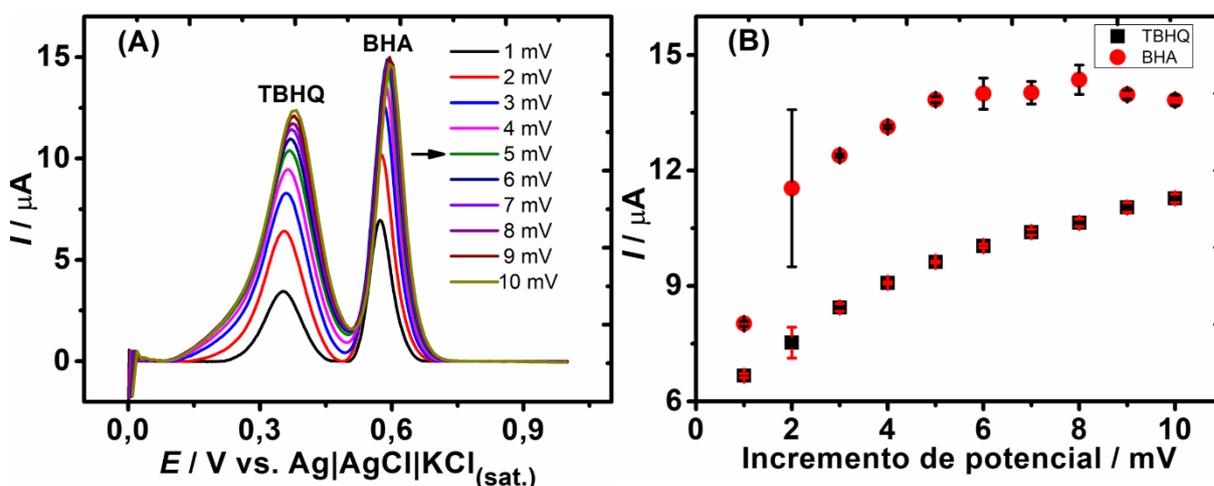
3.4. Determinação simultânea de TBHQ e BHA em biodiesel

3.4.1. Otimização dos parâmetros DPV para determinação simultânea de TBHQ e BHA em biodiesel

Os parâmetros instrumentais relacionados a DPV (incremento de potencial, amplitude, tempo de modulação e tempo de intervalo) foram avaliados em HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10% (v/v) de etanol para uma concentração constante de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA, com medidas efetuadas em triplicata ($n = 3$). A seleção foi feita considerando, a maior resposta de corrente, precisão adequada (repetibilidade das medições em triplicata) e a resolução/separação dos picos de TBHQ e BHA após o tratamento da linha de base, conforme é mostrado nas Figuras 23, 24, 25 e 26 apresentadas a seguir.

Primeiramente, o incremento de potencial foi investigado na faixa de 1 a 10 mV. Foi observado uma relação linear crescente entre o sinal analítico e o incremento de potencial até 5 mV (Figura 23B), a partir do qual, houve a perda da linearidade. Neste sentido, o valor de 5 mV foi fixado para as demais otimizações.

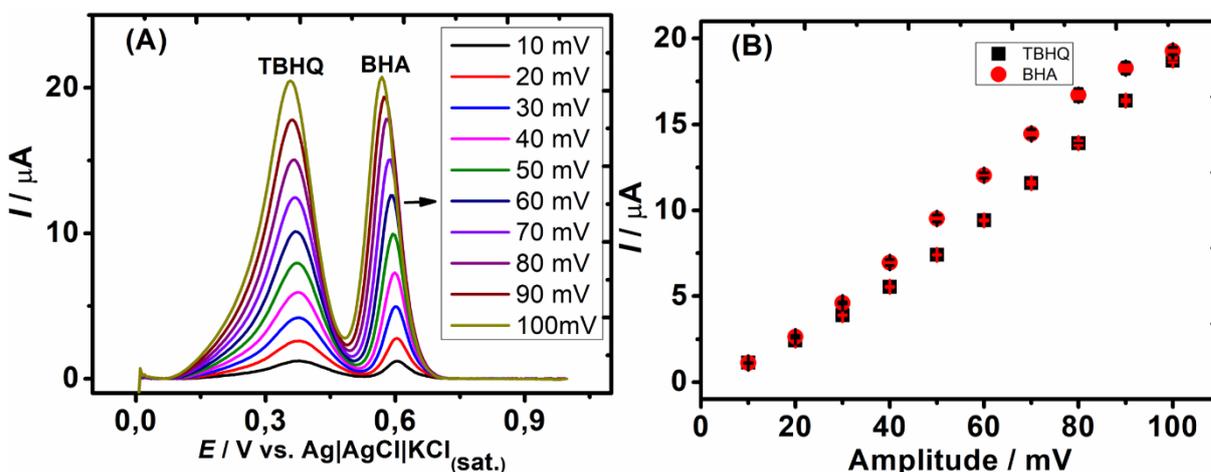
Figura 23 – (A) Registros de voltamogramas com linha de base corrigida da variação da corrente com o aumento do incremento de potencial (ΔE_s) para $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA em solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10% de etanol. (B) Intensidades de corrente, obtidas a partir de correntes de pico, em função do potencial aplicado. Condições da DPV: amplitude: 60 mV; tempo de modulação: 0,04 s e tempo de intervalo: 0,5 s.



Fonte: Próprio autor (2021).

Em seguida, a amplitude de pulso foi investigada no intervalo de 10 a 100 mV, onde se observou o aumento da corrente do pico em função do aumento de valores de amplitude de pulso (Figura 24). Em 60 mV houve registro de boa repetibilidade das medições em triplicata e boa resolução/separação dos picos de TBHQ e BHA, portanto, este valor foi escolhido e fixado para as duas últimas otimizações.

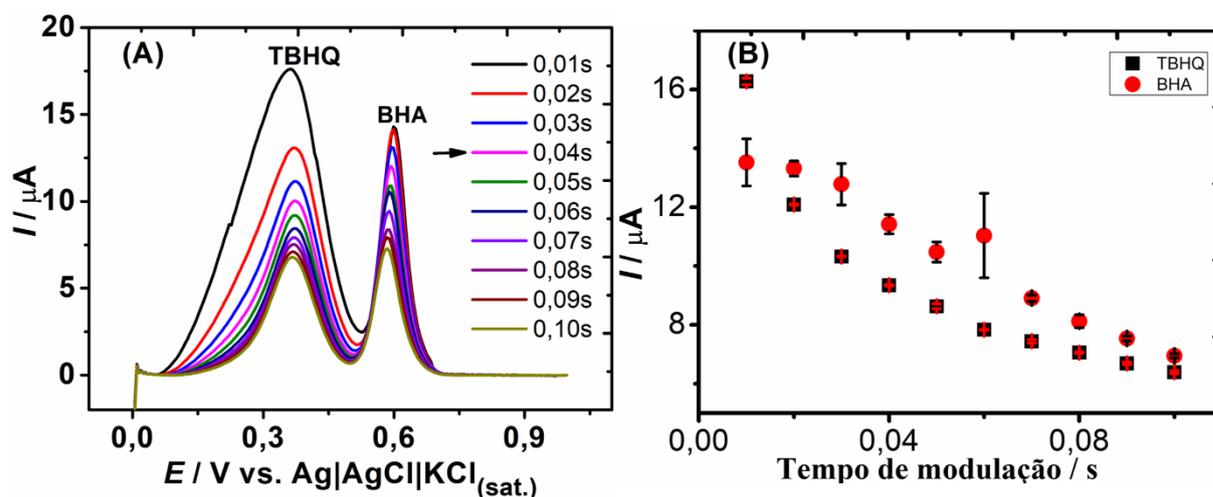
Figura 24 - (A) Registros de voltamogramas com linha de base corrigida da variação da corrente com o aumento de amplitude para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA em solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10% de etanol. (B) Intensidades de corrente em função das amplitudes avaliadas. Condições DPV: incremento de potencial: 5 mV; tempo de modulação: 0,04 s e tempo de intervalo: 0,5 s.



Fonte: Próprio autor (2021).

Como discutido na introdução (seção 1.7.2), a amostragem da corrente na DPV é efetuada antes da aplicação do pulso e ao final do pulso, de modo a minimizar o efeito capacitivo. Deste modo, o tempo de modulação do pulso deve ser selecionado cuidadosamente com intuito de diminuir a contribuição capacitiva. A investigação da influência do tempo de modulação do pulso foi feita num intervalo de 10 a 100 ms, onde observou-se boa estabilidade do sinal para os dois antioxidantes em 40 ms (Figura 25B), o qual certamente foi eficiente para uma discriminação do processo faradaico frente a descarga capacitiva.

Figura 25 - (A) Registros de voltamogramas com linha de base corrigida da variação da corrente com o aumento do tempo de modulação para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA em solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10% de etanol. (B) Intensidades de corrente, obtidas a partir de correntes de pico, em função do tempo de modulação. Condições DPV: incremento de potencial: 5 mV; amplitude: 60 mV e tempo de intervalo: 0,5 s.

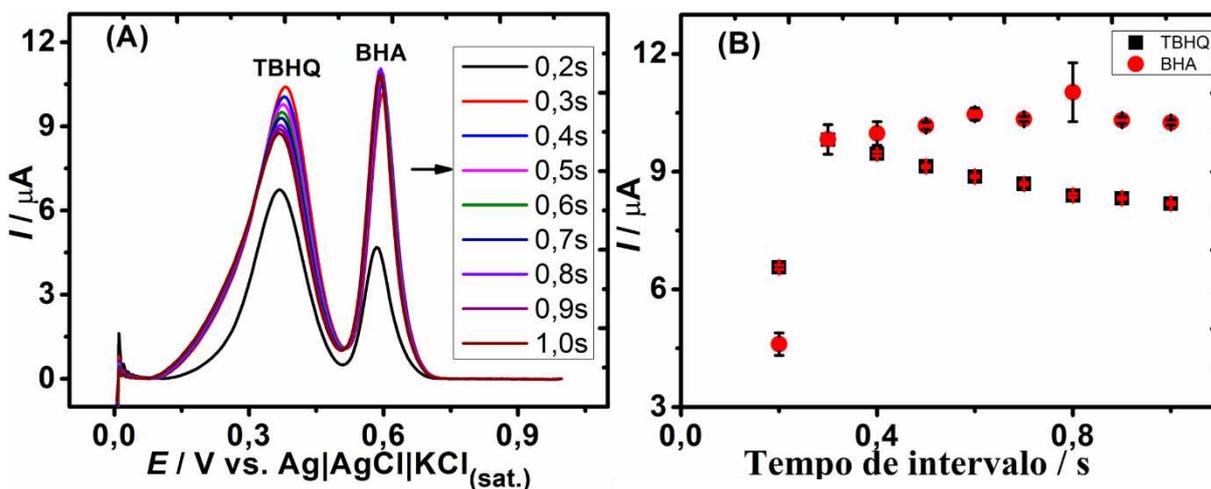


Fonte: Próprio autor (2021)

Finalmente, fez-se o estudo do tempo de intervalo numa faixa de 0,2 a 1,0 s, onde notou-se boa estabilidade do sinal e valores de corrente altos em 0,5 s (Figura 26).

A Tabela 3 resume os parâmetros de DPV avaliados, faixa de estudo e os valores selecionados para a determinação de ambos os antioxidantes.

Figura 26 - (A) Registros de voltamogramas com linha de base corrigida da variação da corrente com o aumento do tempo de intervalo para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA em solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 10% de etanol. (B) Intensidades de corrente, obtidas a partir de correntes de pico, em função do tempo de intervalo. Condições DPV: incremento de potencial: 5 mV; amplitude: 60 mV e tempo de modulação: 0,04 s.



Fonte: Próprio autor (2021).

Tabela 3 - Seleção dos parâmetros de DPV para a determinação simultânea de TBHQ e BHA.

Parâmetros	Espécies ou faixas de estudo	Condição/valor selecionado
Eletrólito de suporte	HCl, HNO_3 , HClO_4 , H_2SO_4 e CH_3COOH	HClO_4
Incremento de potencial	1 – 10 mV	5 mV
Amplitude	10 – 100 mV	60 mV
Tempo de Modulação	0,01 – 0,10 s	0,04 s
Tempo de intervalo	0,2 – 1,0 s	0,5 s

Fonte: Próprio autor (2021).

3.4.2. Comparação de DPV e SWV em relação à resposta eletroquímica da mistura equimolar de TBHQ e BHA

Experimentos preliminares usando DPV e voltametria de onda quadrada (SWV) foram realizados para comparar as duas técnicas em relação à resposta analítica, precisão (medidas repetitivas) e resolução/separação entre os picos de oxidação de TBHQ e BHA. Sob as condições otimizadas (Tabela 4), foi efetuada a comparação das duas técnicas eletroanalíticas (Figura 27). A técnica DPV foi mais precisa (respostas de corrente mais repetitivas) do que

SWV. Além disso, foi possível obter valores de corrente altos e resolução/separação boa dos picos de TBHQ e BHA usando a técnica DPV e, portanto, esta foi selecionada para experimentos posteriores.

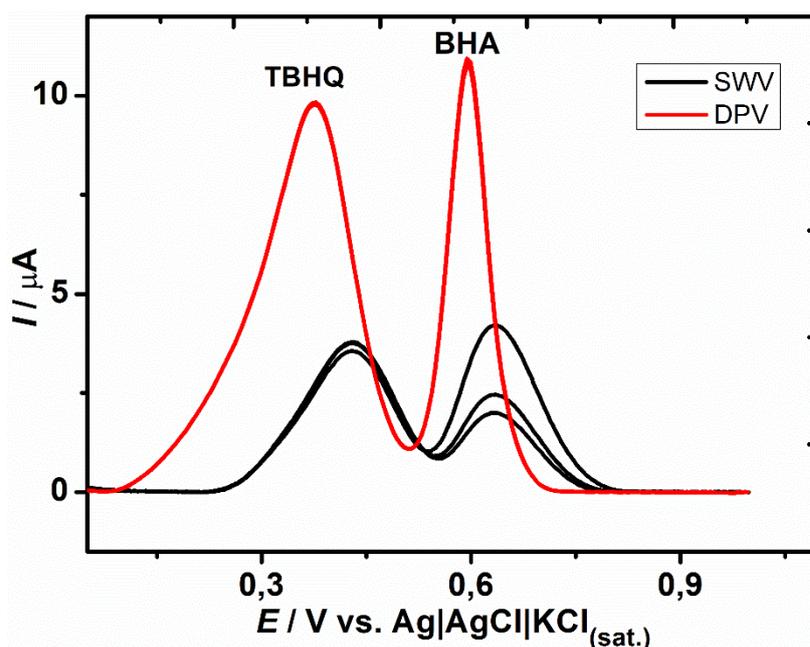
Tabela 4 – Parâmetros instrumentais otimizados por DPV e SWV para determinação de TBHQ e BHA.

Parâmetros	DPV	SWV
Incremento de potencial	5 mV	4 mV
Amplitude	60 mV	40 mV
Tempo de Modulação	40 ms	n.a
Tempo de intervalo	0,5 s	n.a
Frequência	n.a	20 Hz
Velocidade de varredura em condições otimizadas	10 mV/s	79,3 mV/s

Fonte: Próprio autor (2021).

n.a – não avaliado

Figura 27 - Registros voltamétricos obtidos para 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada antioxidante (TBHQ e BHA) em solução de HClO_4 0,1 mol L^{-1} contendo 10% de etanol usando SWV (linha sólida preta) e DPV (linha sólida vermelha) com linha de base corrigida. Condições instrumentais de SWV e DPV estão descritas na Tabela 4.

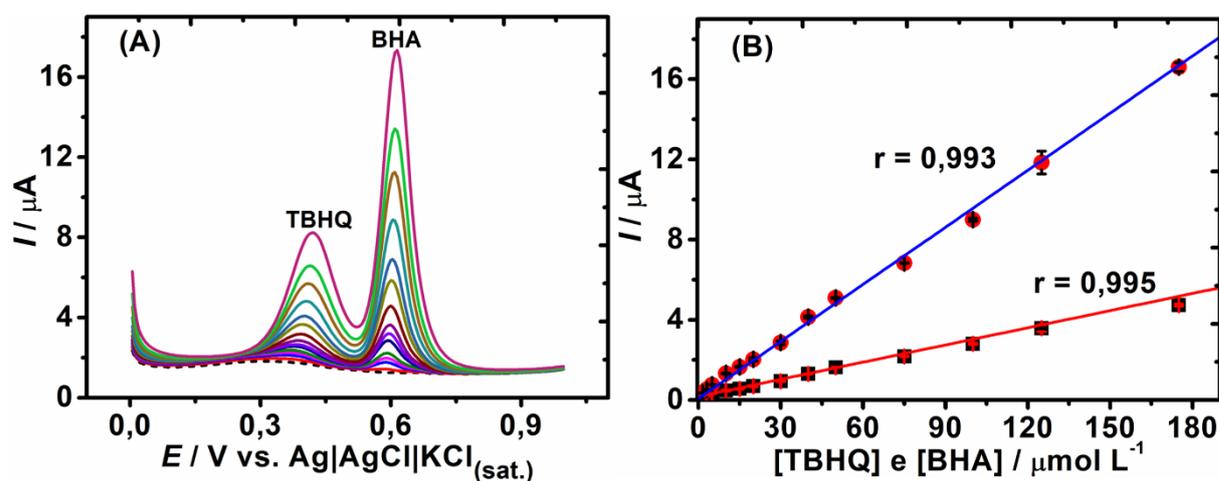


Fonte: Próprio autor (2021).

3.4.3. Figuras de mérito obtidas para determinação simultânea de TBHQ e BHA

Sob os parâmetros selecionados da DPV (ver Tabela 3), o sensor proposto foi avaliado para a determinação simultânea de TBHQ e BHA. As curvas analíticas com concentrações crescentes na faixa de 0,5 a 175 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram construídas para verificar a relação linear entre a corrente do pico e concentração. Coeficientes de correlação para TBHQ e BHA, $r = 0,995$ e $r = 0,993$ foram obtidos respectivamente, o que atestou a linearidade do método desenvolvido (Figura 28). As equações lineares foram: $I_{\text{pa}} (\mu\text{A}) = (0,0285 \pm 0,0008) [\text{TBHQ}] (\mu\text{M}) + 0,17 \pm 0,04$ e $I_{\text{pa}} (\mu\text{A}) = (0,095 \pm 0,003) [\text{BHA}] (\mu\text{M}) + 0,08 \pm 0,03$.

Figura 28 - (A) Respostas da DPV ($n=3$) para TBHQ e BHA na faixa de concentração de 0,5 a 175 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e (B) Respectivas curvas de calibração. Condições otimizadas na Tabela 3.



Fonte: Próprio autor (2021).

A partir dessas curvas, foram estimados os valores de limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) desses antioxidantes e a sensibilidade (coeficiente angular), os quais estão apresentados na Tabela 5. Os valores de LD e LQ foram calculados de acordo com a definição IUPAC (MOCAK *et al.*, 1997) da seguinte forma: $\text{LD} = 3 \sigma/s$ e $\text{LQ} = 10 \sigma/s$, em que σ indica o desvio padrão do ruído da linha de base ($n = 10$) e s corresponde a sensibilidade da curva de calibração.

Tabela 5 - Parâmetros analíticos obtidos pelo método proposto para determinação de TBHQ e BHA por DPV.

Parâmetro Analítico	Valores obtidos	
	TBHQ	BHA
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,5-175	0,5-175
Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	$0,0285 \pm 0,0008$	$0,095 \pm 0,003$
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,21	0,19
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,50	0,50
r	0,995	0,993
Repetibilidade para $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $n=10$ (%)	6,07	3,42
Repetibilidade para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $n=10$ (%)	3,82	4,44
Repetibilidade para $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $n=10$ (%)	2,23	3,42
Inter-eletrodo para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $n=3$ (%)	1,95	2,03
Inter-dia mesmo eletrodo ($n=2$) (%)	0,48	1,35

Fonte: Próprio autor (2021).

Uma série de determinações eletroquímicas repetitivas foram realizadas para avaliar a precisão do método proposto. O estudo da repetibilidade foi conduzido com três níveis diferentes de concentração de TBHQ e BHA (10 , 50 e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$) usando o mesmo eletrodo impresso em 3D. Os resultados obtidos foram satisfatórios, pois, todos os valores de desvio padrão relativo (RSD) foram menores que $6,07\%$ indicando precisão boa do método. A reprodutibilidade da fabricação dos eletrodos foi avaliada pela variação inter-eletrodos, onde valores de RSD de $1,95\%$ para TBHQ e $2,03\%$ para BHA comprovaram a reprodutibilidade alta do processo de construção usando caneta 3D. Adicionalmente foi feito o estudo da variação inter-dia (precisão intermediária), e os valores de RSD obtidos para os dois antioxidantes foram menores que $1,35\%$. Os valores da variação inter-dia foram calculados a partir dos valores de coeficientes angulares de duas curvas analíticas obtidas em dois dias.

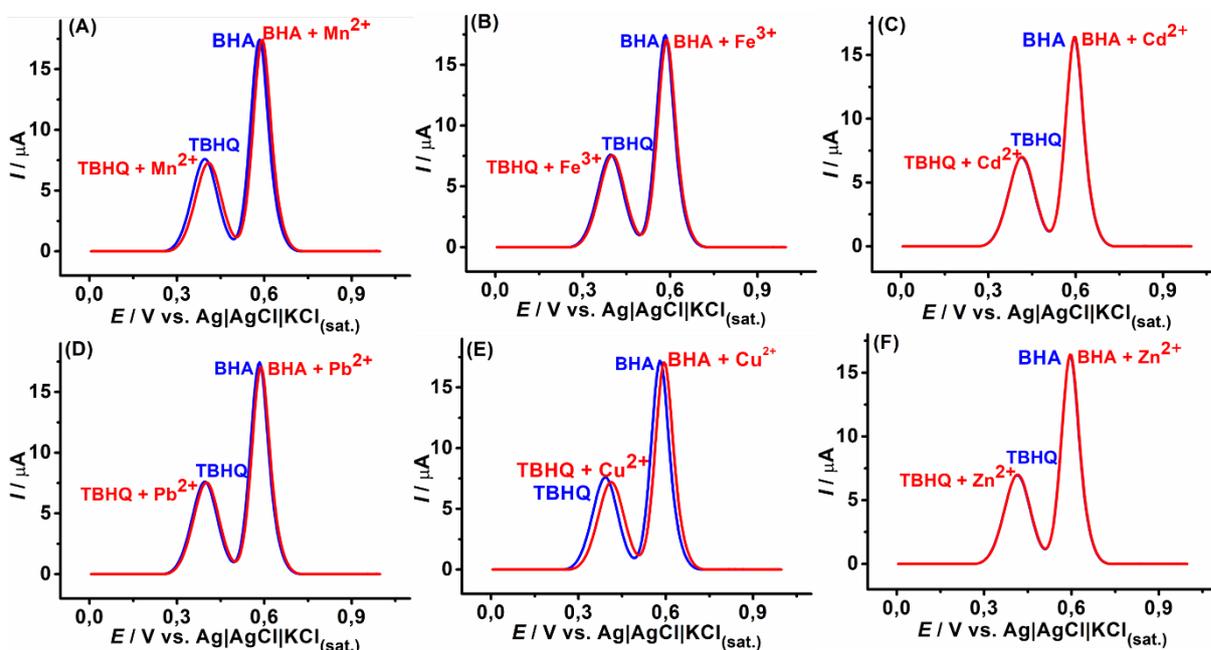
3.4.4. Estudos de interferentes para TBHQ e BHA

Os íons metálicos, como ferro, manganês, cobre e níquel, afetam a estabilidade oxidativa do biodiesel, pois as espécies metálicas atuam como catalisadores dos processos de oxidação, levando a degradação do biodiesel (FERNANDES *et al.*, 2019; KNOTHE; STEIDLEY, 2018). Considerando esses efeitos negativos, os limites máximos para alguns

contaminantes, incluindo água, metanol, sulfato, cloreto e ferro, são estabelecidos por agências regulatórias em todo o mundo (exemplo na Europa, EUA e Brasil). A agência brasileira, ANP, apresenta a resolução (número 842, 14 de Maio, 2021) e define um limite superior restrito ($1,0 \text{ mg kg}^{-1}$) para alguns íons metálicos (Fe^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} e Cr^{2+}) no biocombustível. Essas grandes quantidades de metais no biodiesel podem ocorrer devido à corrosão de peças metálicas (motores e tanques) no contato com biocombustível (DOMINGOS *et al.*, 2007; SQUISSATO *et al.*, 2018; SQUISSATO; RICHTER; MUNOZ, 2019).

A seletividade do sensor CB-PLA proposto foi avaliada na presença de espécies metálicas (Fe^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+}) usando $200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie interferente (correspondente a Fe^{3+} 3,6; Cu^{2+} 3,2; Mn^{2+} 3,7; Cd^{2+} 1,8; Zn^{2+} 3,1; Pb^{2+} 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e $200 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada antioxidante (TBHQ e BHA). Todas as medidas foram feitas em triplicata. Os registros de DPV para esses experimentos estão apresentados na Figura 29.

Figura 29 - Varreduras de DPV com linha de base corrigida obtidas para $200 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada antioxidante (TBHQ e BHA) e a mistura contendo a mesma concentração dos dois antioxidantes e $200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de (A) Mn^{2+} , (B) Fe^{3+} , (C) Cd^{2+} , (D) Pb^{2+} , (E) Cu^{2+} e (F) Zn^{2+} sob as condições otimizadas (Tabela 3).



Fonte: Próprio autor (2021).

Os valores de recuperação obtidos para os dois antioxidantes (TBHQ e BHA), após a adição de cada interferente, estiveram entre 95,9 e 101,1 % como ilustrado na Tabela 6. Portanto, todas espécies metálicas não forneceram uma resposta eletroquímica concomitante

com os picos de oxidação de TBHQ e BHA, e, portanto, nenhuma interferência de Fe^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} e Cd^{2+} foi observada (Figura 29).

Tabela 6 - Variação da intensidade da corrente da resposta voltamétrica de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ TBHQ e BHA na presença de espécies interferentes metálicas nas concentrações de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ cada.

Interferente (Me^{n+})	$I (\mu\text{A})$		Recuperação $\pm \text{SD} (\%)$	$I (\mu\text{A})$		Recuperação $\pm \text{SD} (\%)$
	TBHQ	TBHQ+ Me^{n+}		BHA	BHA+ Me^{n+}	
Mn^{2+}	7,0	6,7	$95,9 \pm 1,4$	16,9	16,6	$98,2 \pm 2,5$
Fe^{3+}	6,8	6,8	$100,0 \pm 0,6$	16,7	16,6	$99,4 \pm 1,4$
Cd^{2+}	6,8	6,8	$100,0 \pm 0,5$	16,4	16,6	$101,1 \pm 0,8$
Pb^{2+}	7,0	6,9	$98,5 \pm 1,0$	17,0	16,9	$99,4 \pm 3,1$
Cu^{2+}	7,0	6,9	$98,5 \pm 3,9$	16,9	16,8	$99,4 \pm 1,4$
Zn^{2+}	7,0	7,0	$100,0 \pm 0,1$	16,9	16,9	$100,0 \pm 0,1$

Fonte: Próprio autor (2021).

3.4.5. Aplicação do método por DPV para análise de amostras de biodiesel

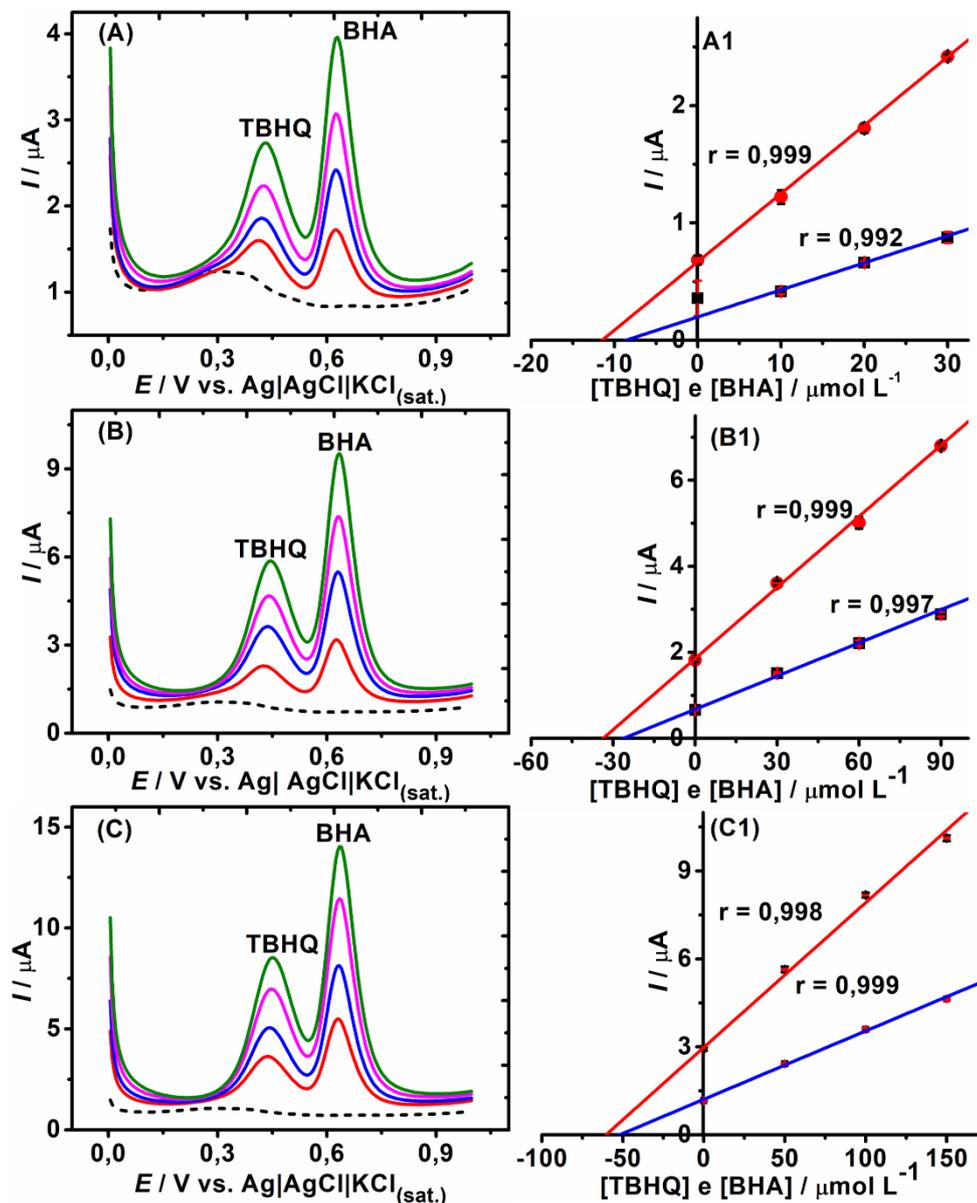
Após a obtenção dos parâmetros analíticos, o método por DPV utilizando o eletrodo CB-PLA foi aplicado para determinação simultânea de TBHQ e BHA em amostras de biodiesel de soja e biodiesel comercial.

A exatidão foi avaliada por teste de adição e recuperação, o que significa que as amostras foram fortificadas com quantidades conhecidas de ambos antioxidantes em três níveis, TBHQ ($1,7$; $5,0$ e $8,3 \text{ mg L}^{-1}$) e BHA ($1,8$; $5,4$ e $9,0 \text{ mg L}^{-1}$), que correspondem 10 , 30 e $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ na célula eletroquímica após a diluição. O teor de ambos antioxidantes foi estimado com base na literatura para atingir as 12 h de período de indução pelo método Rancimat, protocolo oficial para medir a estabilidade oxidativa de biodiesel (ANP, 2019; RYU, 2009).

Nas Figuras 30 e 31 estão representadas as curvas por adição de padrão obtidas para quantificação simultânea de TBHQ e BHA ($r > 0,99$), e na Tabela 7 estão descritos os valores de recuperação para análise das amostras de biodiesel fortificadas. Foram obtidos valores de recuperação satisfatórios (entre 85 e 120%), de acordo com os critérios estabelecidos pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, 2020) do Brasil. Estes valores indicam uma exatidão aceitável no nível de concentração estudado e ausência de interferência de matriz da amostra

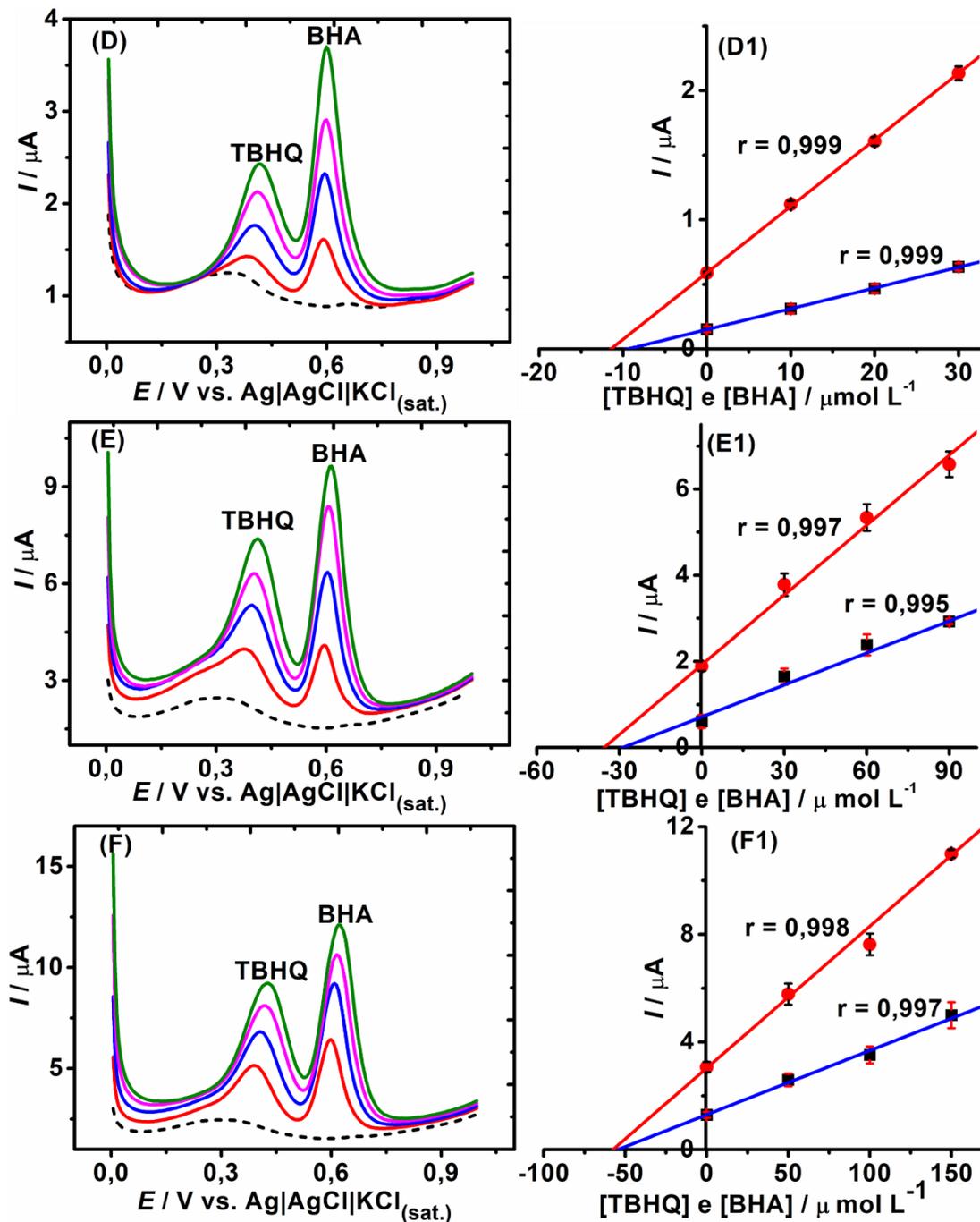
(biodiesel de soja e biodiesel comercial) sob condições otimizadas. Portanto, os valores de recuperação obtidos indicaram que o sensor proposto pode ser usado para quantificar TBHQ e BHA em níveis de concentração baixos.

Figura 30 - Registros de DPV ($n = 3$) para determinação de TBHQ e BHA em amostras de biodiesel comercial (A), (B) e (C) fortificadas com soluções padrão resultando em concentrações finais na célula de (A) 10, (B) 30 e (C) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seguidas por três adições de soluções padrão. As respectivas curvas de adição padrão estão ao lado do seu conjunto de voltamogramas. As primeiras varreduras (tracejado) mostram o branco (eletrólito suporte); 2ª varredura: amostras fortificadas; 3ª, 4ª e 5ª varreduras: adição das soluções padrão do TBHQ e BHA. Condições otimizadas estão na Tabela 3.



Fonte: Próprio autor (2021).

Figura 31 - Registros de DPV ($n = 3$) para determinação de TBHQ e BHA em amostras de biodiesel de soja (D), (E) e (F) fortificadas com soluções padrão resultando em concentrações finais na célula de (D)10, (E) 30 e (F) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seguidas por três adições de soluções padrão. As respectivas curvas de adição padrão estão ao lado do seu conjunto de voltamogramas. As primeiras varreduras (tracejado) mostram o branco (eletrólito suporte); 2ª varredura: amostras fortificadas; 3ª, 4ª e 5ª varreduras: adição das soluções padrão do TBHQ e BHA (os valores podem ser visualizados nas respectivas curvas). Condições otimizadas estão na Tabela 3.



Fonte: Próprio autor (2021).

Tabela 7 - Resultados obtidos nos estudos de recuperação com amostras de biodiesel fortificadas com TBHQ e BHA (n = 3). Valores de concentrações correspondente às quantidades de TBHQ e BHA na célula.

Amostra	Encontrada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Fortificado / $\mu\text{mol L}^{-1}$ (TBHQ e BHA)	Encontrada \pm SD / $\mu\text{mol L}^{-1}$		Recuperado \pm SD / %	
			TBHQ	BHA	TBHQ	BHA
Biodiesel comercial	< LD	10	8,6 \pm 0,6	11,0 \pm 6,0	86,0 \pm 1,0	111,0 \pm 8,0
	< LD	30	25,6 \pm 0,3	33,0 \pm 2,0	85,0 \pm 1,0	110,0 \pm 5,0
	< LD	50	50,0 \pm 2,0	60,0 \pm 1,0	100,0 \pm 4,0	120,0 \pm 2,0
Biodiesel de soja	< LD	10	8,7 \pm 0,5	11,2 \pm 0,5	87,0 \pm 5,0	112,0 \pm 5,0
	< LD	30	29,0 \pm 4,0	34,6 \pm 0,3	97,0 \pm 12,0	115,0 \pm 1,0
	< LD	50	53,7 \pm 0,8	56,0 \pm 3,0	107,0 \pm 2,0	112,0 \pm 5,0

Fonte: Próprio autor (2021).

3.4.6. Comparação do desempenho analítico do método desenvolvido para determinação simultânea de BHA e TBHQ com outros métodos eletroanalíticos reportados na literatura

O método desenvolvido para determinação simultânea de TBHQ e BHA em biodiesel utilizando o eletrodo CB-PLA foi comparado com outros métodos eletroanalíticos disponíveis na literatura (Tabela 8). Os parâmetros avaliados, nomeadamente, tipo de eletrodo de trabalho, LD, faixa linear, sensibilidade e precisão (RSD), denotam que o método proposto forneceu resultados equivalentes ou melhores que aos já existentes na literatura. Com exceção a técnica DPV usando um eletrodo gotejante de mercúrio (HDME) (DE ARAUJO *et al.*, 2011) que obteve valor de LD baixo e uma precisão melhor (RSD = 0,8%), que é 5 vezes melhor do que o eletrodo CB-PLA. Porém, o eletrodo de HDME não é ecologicamente amigável e proporciona risco a saúde do operador. É possível notar que vários trabalhos empregaram eletrodos comerciais (carbono vítreo, ouro e diamante dopado com boro) que têm um custo relativamente alto quando comparado com o eletrodo cilíndrico de impressão 3D usado neste trabalho. Além disso, grande parte dos eletrodos são preparados seguindo etapas laboriosas, que consomem muito tempo e propiciam fontes de erros que afetam a reprodutibilidade (CARAMIT *et al.*, 2013). Por outro lado, um eletrodo de platina comercial, pronto para uso, mas com custo elevado, apresentou sensibilidade baixa, valores de LD e LQ altos quando comparado às respostas do eletrodo CB-PLA proposto neste trabalho (SCHAUMLÖFFEL *et al.*, 2019).

Tabela 8 - Visão geral da literatura científica sobre a determinação de TBHQ e BHA em biodiesel.

Técnica ¹	Eletrodo ²	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		Sensibilidade ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)		Referência
		TBHQ	BHA	TBHQ	BHA	TBHQ	BHA	
DPV	CB-PLA	0,21	0,19	0,5 – 175	0,5 – 175	$2,9 \times 10^{-2}$	$9,5 \times 10^{-2}$	Este trabalho
LSV	SPE-MWCNT	0,34	0,17	0,5 – 10	0,5 – 10	$1,3 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-4}$	(CARAMIT <i>et al.</i> , 2013)
DPV	BDDE, GCE	3,30	-	1,2 – 600	-	-	-	(GOULART <i>et al.</i> , 2014)
SWV	GWE	-	6,00	-	25 – 490	-	$3,0 \times 10^{-4}$	(SQUISSATO; RICHTER; MUNOZ, 2019)
SWV	CBPE	0,23	0,26	0,2 – 120	0,3 – 130	3,1	2,4	(NUNES ANGELIS <i>et al.</i> , 2020)
DPV	UME	159	113	174 – 2175	109 – 2136	$1,7 \times 10^{-8}$	$2,6 \times 10^{-8}$	(SCHAUMLÖFFEL <i>et al.</i> , 2019)
DPV	UME	212	-	1200 – 8900	-	$1,5 \times 10^{-8}$	-	(HOFFMANN DA ROCHA <i>et al.</i> , 2017)
SWV	HMDE	0,034	-	1 – 10	-	$3,0 \times 10^{-2}$	-	(DE ARAUJO <i>et al.</i> , 2011)

Fonte: Próprio autor (2021).

¹DPV: voltametria de pulso diferencial; SWV: voltametria de onda quadrada e LSV: voltametria de varredura linear.

²BDDE: eletrodo de diamante dopado com boro; CB-PLA: eletrodo CB-PLA impresso em 3D; SPE -MWCNT: eletrodo impresso modificado com nanotubos de carbono de múltiplas camadas; e GCE: eletrodo de carbono vítreo; UME: ultra microeletrodo de platina; HMDE: eletrodo gotejante de mercúrio; GWE: eletrodo de ouro; CBPE: eletrodo de pasta de negro de fumo.

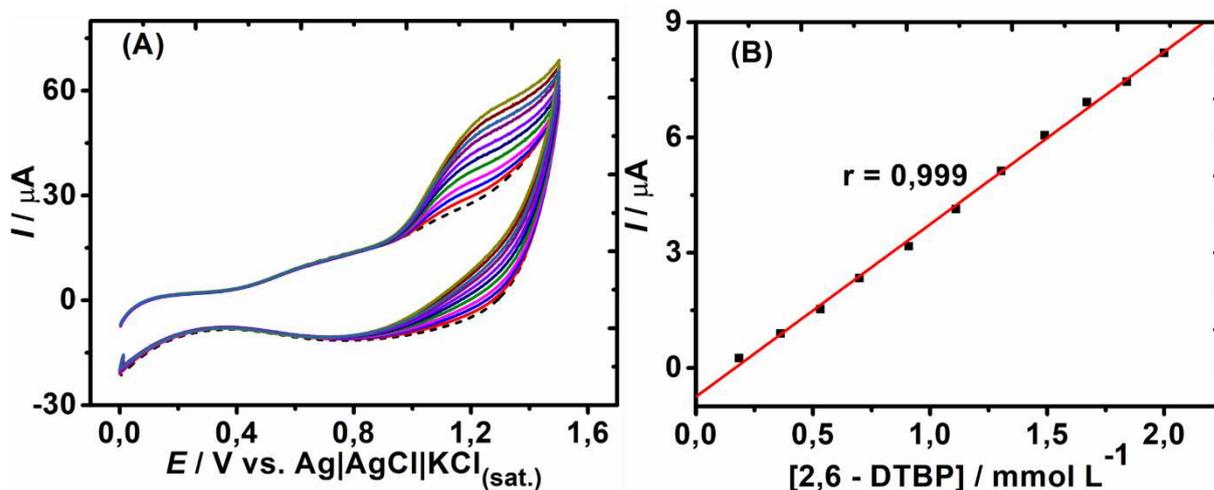
3.5. Determinação voltamétrica de 2,6-DTBP em bioquerosene

Experimentos preliminares usando SWV e DPV explorando o eletrodo CB-PLA impresso em 3D revelaram incrustação no eletrodo para varreduras repetitivas na presença de 2,6-DTBP, o que pode ser explicado pelo processo de adsorção de produtos de oxidação que segue um mecanismo diferente em comparação TBHQ e BHA. Por outro lado, a técnica CV, utilizada para estudos preliminares, apresentou resultados aceitáveis para a quantificação de 2,6-DTBP em HClO_4 0,1 mol L^{-1} contendo 10% (v/v) etanol. Ao contrário de TBHQ e BHA, o antioxidante 2,6-DTBP requer uma maior quantidade de etanol no eletrólito para a dissolução completa e, portanto o efeito do etanol no desempenho do dispositivo impresso em 3D para eletroanálise em soluções contendo maior quantidade etanólica foi investigado. Quanto maior a quantidade de etanol, mais estável foi a resposta obtida e a adição de 80% (v/v) de etanol mantendo HClO_4 0,1 mol L^{-1} , proporcionou a melhor condição. Todavia, quando o eletrodo CB-PLA ficou um dia inteiro exposto a esta solução, houve a necessidade de substituí-lo no dia seguinte, pois o eletrodo tornou-se quebradiço ou frágil. Portanto, esta situação pode ser considerada uma desvantagem em relação aos eletrodos comerciais (por exemplo, GCE ou DBBE), pois podem ser usados por mais dias (apesar de requerem um novo de tratamento de superfície). Por outro lado, os SPE convencionais não podem ser usados em soluções contendo maior teor de etanol, com exceção de SPEs projetados para serem compatíveis com solventes orgânicos (ALMEIDA *et al.*, 2016).

3.5.1. Figuras de mérito obtidas para 2,6-DTBP

A Figura 32 mostra os voltamogramas cíclicos para o branco e as adições consecutivas de solução padrão de 2,6-DTBP, onde uma faixa linear foi verificada entre 0,18 e 2,0 mmol L^{-1} ($r = 0,999$). A Tabela 9 mostra os parâmetros analíticos obtidos a partir da curva de calibração, que incluem LD, LQ (calculados com base na definição IUPAC), repetibilidade (dois níveis de concentração diferentes) e valores de RSD menores que 5,2% o que demonstrou precisão adequada do método.

Figura 32 - (A) Respostas da voltametria cíclica para concentrações crescentes de 2,6-DTBP ($0,18 - 2,0 \text{ mmol L}^{-1}$); eletrólito de suporte: mistura de etanol (80% v/v) e HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (20% v/v) e (B) Respetiva curva de calibração. Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV .



Fonte: Próprio autor (2021).

Tabela 9 - Parâmetros analíticos obtidos pelo método proposto para determinação de 2,6-DTBP por voltametria cíclica.

Parâmetro analítico	Valor obtido
Faixa linear (mmol L^{-1})	0,18 - 2,0
LD (mmol L^{-1})	0,07
LQ (mmol L^{-1})	0,18
r	0,999
Repetibilidade para $0,91 \text{ mmol L}^{-1}$ e $n = 10$ (%)	3,8
Repetibilidade para $1,3 \text{ mmol L}^{-1}$ e $n = 10$ (%)	5,2

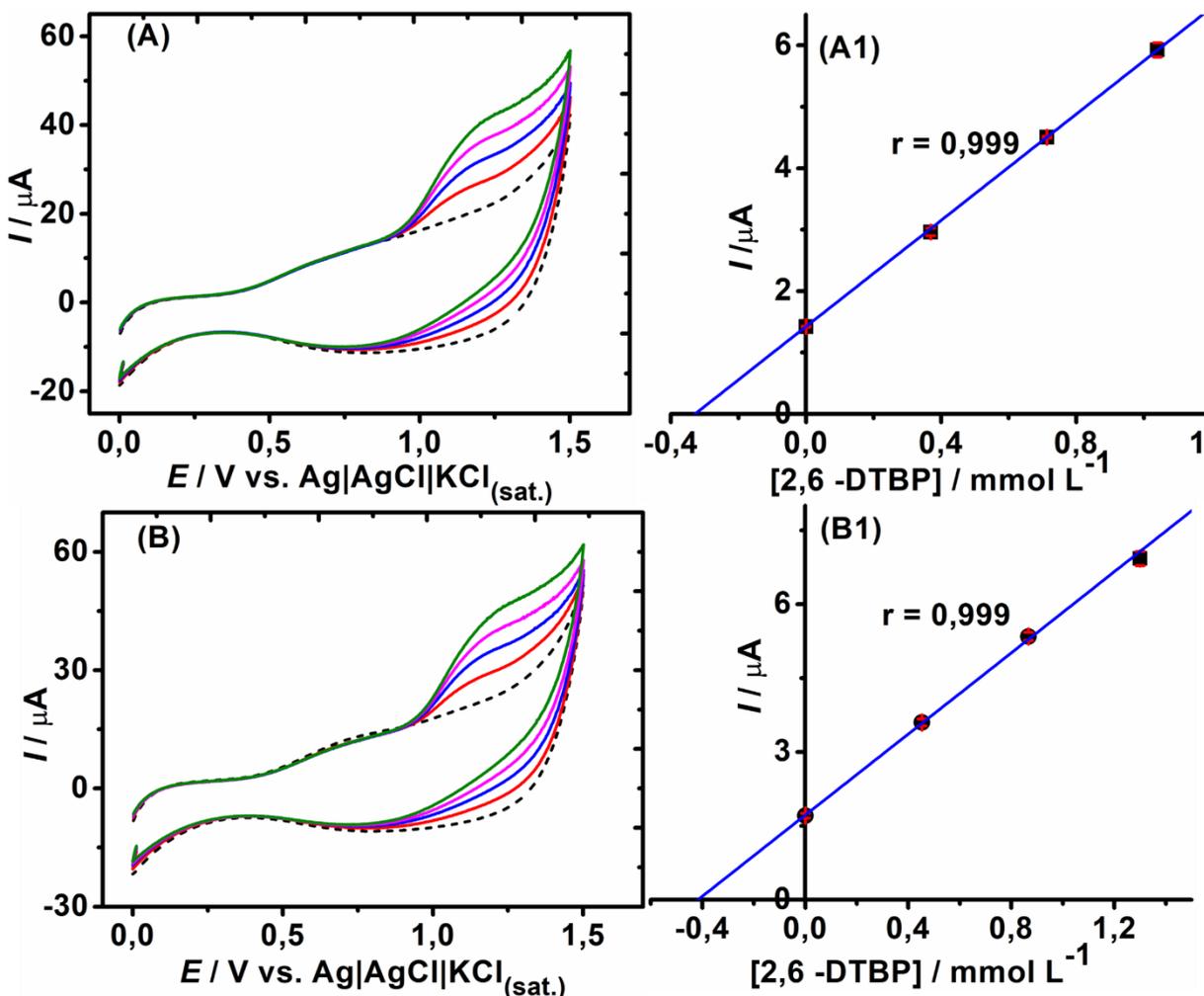
Fonte: Próprio autor (2021).

3.5.2. Aplicação do método para determinação de 2,6-DTBP em amostra de bioquerosene

A Figura 33 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para a análise de amostras de bioquerosene fortificadas com dois níveis de concentração de 2,6-DTBP ($0,38$ e $0,475 \text{ mmol L}^{-1}$). Valores de recuperação entre 85 e 90% foram obtidos (ver a Tabela 10), indicando exatidão adequada do método. As amostras de bioquerosene puro apresentaram níveis de concentração

abaixo de LD porque foram produzidas em laboratório. Portanto, o sensor CB-PLA impresso em 3D também pode ser usado para quantificar 2,6-DTBP em amostras de bioquerosene por CV.

Figura 33 - (A) Registros voltamétricos cíclicos ($n = 3$) para determinação de 2,6-DTBP em amostra de bioquerosene fortificada com solução padrão de 2,6-DTBP resultando em concentrações finais na célula, de (A) 0,38 e (B) 0,475 mmol L^{-1} , seguidas por três adições de soluções padrão. As respectivas curvas de adição padrão estão ao lado do seu conjunto de voltamogramas. As primeiras varreduras (tracejado) mostram o branco (eletrólito suporte); 2ª varredura: amostras fortificadas; 3ª, 4ª e 5ª varreduras: adição das soluções padrão do 2,6-DTBP (os valores podem ser visualizados nas respectivas curvas). Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV .



Fonte: Próprio autor (2021).

Tabela 10 - Resultados obtidos com amostra de bioquerosene fortificada com 2,6-DTBP (n = 3); valores de concentrações correspondentes de 2,6-DTBP na célula.

Amostra	Encontrada (mmol L ⁻¹)	Fortificada (mmol L ⁻¹)	Encontrada ± SD / mmol L ⁻¹	Recuperada ± SD / %
Bioquerosene	< LD	0,38	0,32 ± 0,01	85 ± 4
	< LD	0,475	0,43 ± 0,01	90 ± 4

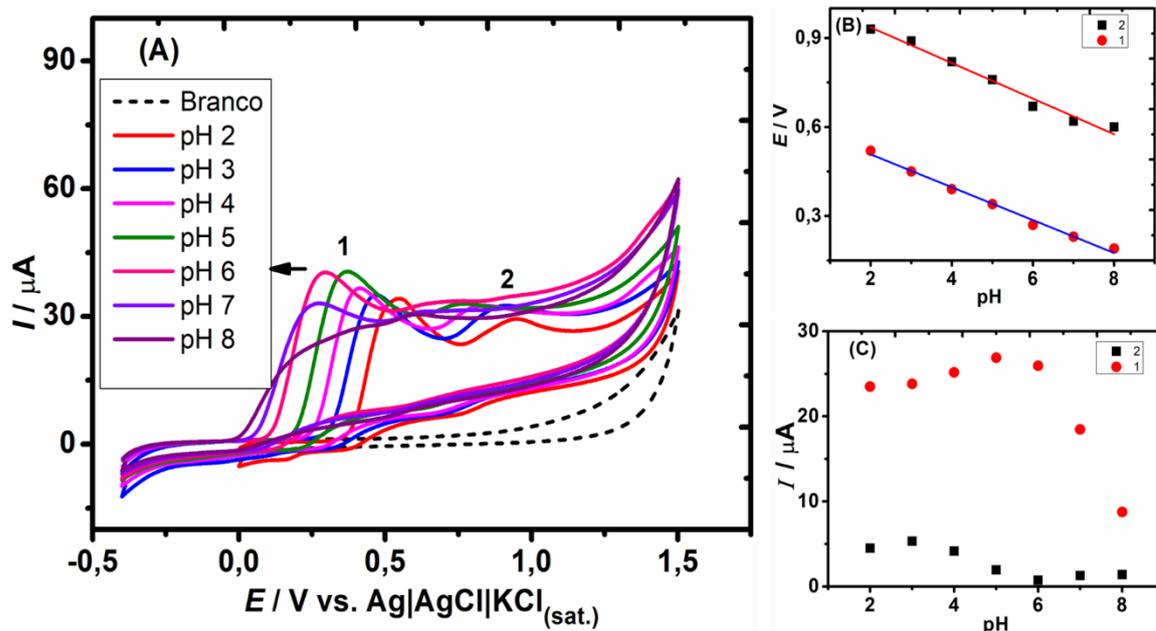
Fonte: Próprio autor (2021).

3.6. Determinação do antioxidante PY em biodiesel por meio da análise por injeção em batelada com detecção amperométrica

3.6.1. Estudo do efeito de pH sobre a resposta eletroquímica do PY por CV

Com o objetivo de fazer uma determinação sensível e seletiva de PY em amostras de biodiesel, sua resposta eletroquímica foi investigada em diferentes valores de pH (2,0 - 8,0) usando o tampão BR, conforme ilustrado na Figura 34. Foi observado um comportamento dependente do pH até pH 8,0, após este valor, o PY apresenta estabilidade baixa. As equações de regressão obtidas foram: $E_p = (-0,055 \pm 0,002) \text{ pH} + 0,6182 \pm 0,011$; $E_p = (-0,06 \pm 0,003) \text{ pH} + 1,0055 \pm 0,019$ para o primeiro e segundo processo de oxidação, respectivamente. Os valores de coeficientes angulares obtidos (-55,2 mV /pH e -60 mV / pH) são próximos ao valor de coeficiente angular teórico de Nernst, -59,2 mV/pH à uma temperatura de 25° C (DAI *et al.*, 2015), sugerindo que os processos são dependentes do pH e envolvem o mesmo número de prótons e elétrons (DAI *et al.*, 2015; VAZ *et al.*, 1996). Tal comportamento condiz com o mecanismo de oxidação representado na seção introdutória (ver Figura 9), onde dois elétrons e dois prótons estão envolvidos. Hung *et al* obtiveram o valor de coeficiente angular de -64,3 mV/pH usando o eletrodo impresso modificado com poli (3,4-etilenodioxítiofeno) (HUNG *et al.*, 2014) e Araújo *et al* obtiveram -50 mV/pH usando eletrodo impresso modificado com nanotubos de carbono de múltiplas camadas (ARAUJO *et al.*, 2015). De fato, Hung *et al* e Araújo *et al* obtiveram valores de inclinação da reta similar aos valores obtidos neste trabalho. Visto que o pH 6,0 proporcionou melhor resposta, bem como uma antecipação considerável de ambos processos de oxidação (Figura 34), este foi selecionado para experimentos posteriores.

Figura 34 - (A) Voltamogramas cíclicos de uma solução de PY (1 mmol L^{-1}) em meio de tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$, com valores de pH na faixa de 2,0 a 8,0; (B) Relação entre o pH e potencial de pico (E_p) e (C) Relação entre o pH e corrente de pico (I_p). Outras condições: velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} e incremento de potencial: 5 mV .



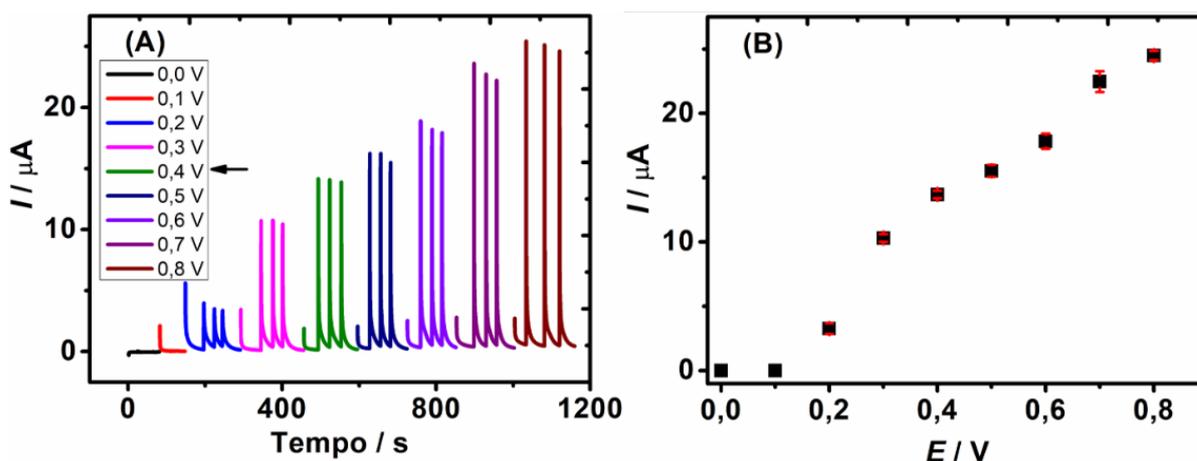
Fonte: Próprio autor (2022).

3.6.2. Otimização dos parâmetros do BIA-AD para determinação de PY

Inicialmente, os parâmetros do sistema BIA-AD (potencial de trabalho, velocidade de injeção e volume injetado) foram avaliados afim de fornecer seletividade adequada, aumento na resposta analítica, menor consumo de reagente e maior frequência analítica. Para este fim, empregou-se a solução do antioxidante PY $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ com medidas realizadas em triplicata ($n = 3$). A influência de cada parâmetro na resposta eletroquímica de PY é mostrada nas Figuras 35, 36 e 37 apresentadas a seguir.

Primeiro, fez-se a otimização do potencial de trabalho (Figura 35), onde cada potencial foi avaliado separadamente. Trabalhou-se com potenciais de 0,0 a 0,8 V, onde foi observado o início da oxidação da espécie em 0,2 V e o aumento significativo do sinal analítico até ao potencial 0,8 V. Em potencial 0,4 V, registou-se uma corrente relativamente alta e repetibilidade boa (Figura 35A e B) e este potencial foi fixado para as demais otimizações, de forma a proporcionar uma seletividade melhor ao método.

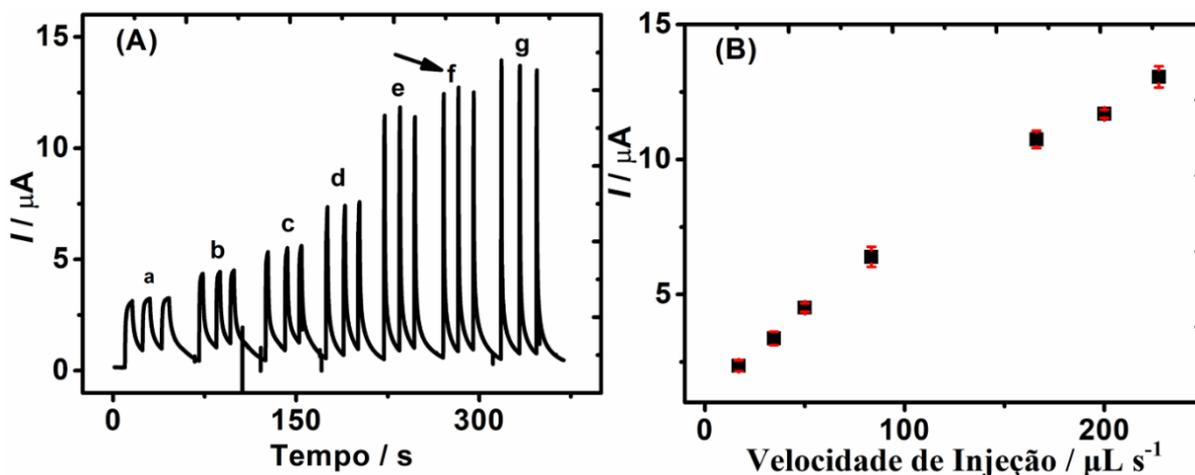
Figura 35 - (A) Registros de BIA-AD obtidos a partir de 3 injeções sucessivas de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ PY e (B) Voltamograma hidrodinâmico obtido a partir de valores de correntes do pico (média das 3 injeções) em função do potencial aplicado correspondente. Eletrólito de suporte: solução tampão BR ($0,12 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0) Condições instrumentais: volume injetado: $100 \mu\text{L}$ e velocidade de injeção: $200 \mu\text{L s}^{-1}$.



Fonte: Próprio autor (2022).

Em seguida, fez-se a investigação da velocidade de injeção (Figura 36), de $16,9$ a $227 \mu\text{L s}^{-1}$ e uma relação proporcional ao incremento de sinal analítico foi observada até a $227 \mu\text{L s}^{-1}$. Embora após a velocidade de injeção de $200 \mu\text{L s}^{-1}$ houve um incremento de até 11 % no sinal analítico, uma perda de precisão entre as medidas também foi observado. Assim, visando uma resposta analítica mais precisa, a velocidade de $200 \mu\text{L s}^{-1}$ foi fixada para avaliar o efeito do volume injetado.

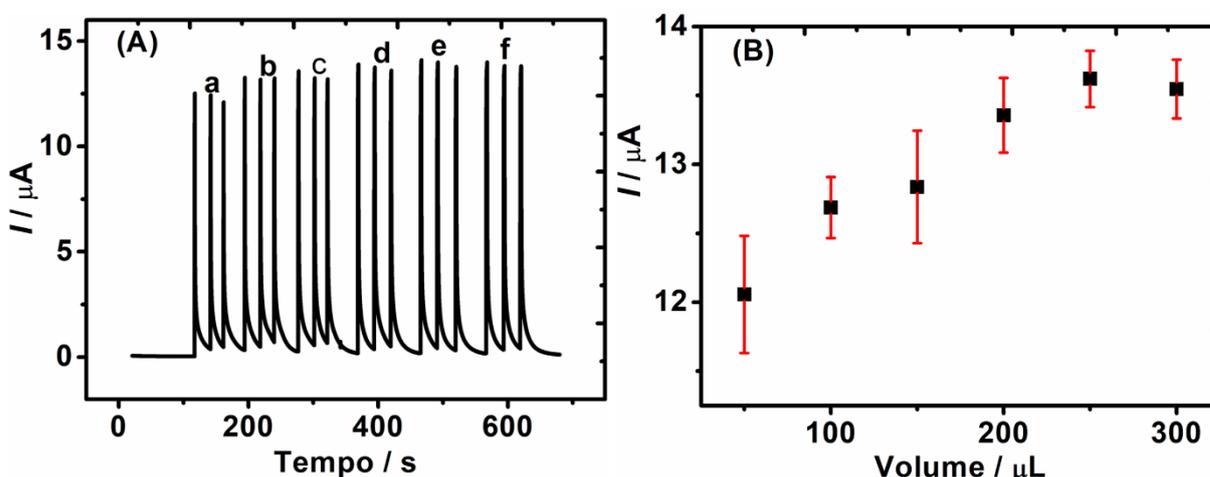
Figura 36 – (A) Registros de BIA-AD obtidos a partir de 3 injeções sucessivas de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ PY em função da velocidade de injeção: (a) 16,9; (b) 34,5; (c) 50,0; (d) 83,3; (e) 166; (f) 200 e (g) 227. (B) Influência da velocidade de injeção sobre a corrente do pico (I_p) do PY. Condições instrumentais: volume injetado: $100 \mu\text{L}$ e potencial de trabalho: $0,4 \text{ V}$.



Fonte: Próprio autor (2022).

Finalmente, foi feita a avaliação do volume de injeção na faixa de 50 a $300 \mu\text{L}$ (com incrementos de $50 \mu\text{L}$) como mostra a Figura 37B. Um aumento proporcional da intensidade da corrente foi verificado até $250 \mu\text{L}$. Todavia, o volume de $100 \mu\text{L}$ foi a condição ótima definida no experimento, por apresentar uma precisão boa (Figura 37) e possibilitar menor consumo de padrão e/ou amostras. A Tabela 11 sumariza os parâmetros de BIA-AD avaliados, a faixa estudada e os valores selecionados para estudos subsequentes.

Figura 37 – (A) Registros de BIA-AD obtidos a partir 3 injeções sucessivas de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ PY em função do volume injetado: (a) 50; (b) 100; (c) 150; (d) 200; (e) 250 e 300 μL e (B) Influência do volume injetado na corrente de pico (I_p) do PY. Condições instrumentais: velocidade de injeção: $200 \mu\text{L s}^{-1}$ e potencial de trabalho: 0,4 V.



Fonte: Próprio autor (2022).

Tabela 11 - Seleção dos parâmetros de BIA-AD para determinação de PY.

Parâmetros	Faixa de estudo	Valor selecionado
Potencial de trabalho vs. $\text{Ag} \text{AgCl}, \text{KCl}_{(\text{sat.})}$	0,0 – 0,8 V	0,4 V
Velocidade de injeção	16,9 – 227 $\mu\text{L s}^{-1}$	200 $\mu\text{L s}^{-1}$
Volume injetado	50 – 300 μL	100 μL

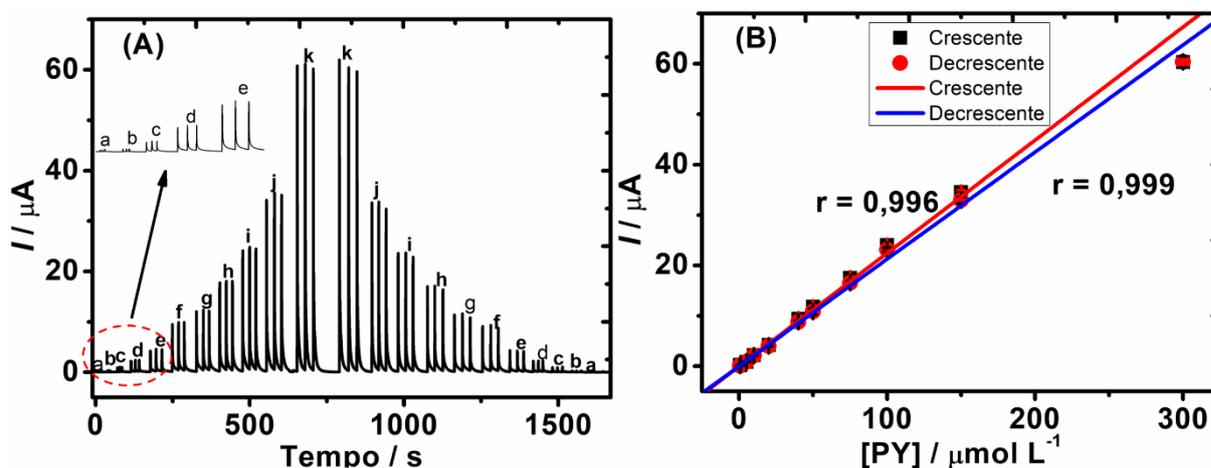
Fonte: Próprio autor (2022).

3.6.3. Figuras de mérito obtidas para o PY

Sob os parâmetros otimizados (Tabela 11), o sensor CB-PLA impresso em 3D foi avaliado para a determinação de PY em meio de tampão BR ($0,12 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0) como eletrólito de suporte. As curvas analíticas com concentrações crescentes e decrescentes na faixa de 0,5 a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram construídas para verificar a linearidade e o efeito de memória durante as análises (Figura 38). As curvas com concentrações crescentes (a-k), $I_{pa} (\mu\text{A}) = (0,2243 \pm 0,006) [\text{PY}] (\mu\text{M}) - 0,0022 \pm 0,047$, $r = 0,996$ e decrescentes (k-a), $I_{pa} (\mu\text{A}) = (0,21245 \pm 0,003) [\text{PY}] (\mu\text{M}) + 0,00996 \pm 0,02226$, $r = 0,999$, apresentaram linearidade boa e

sensibilidades semelhantes. Sensibilidades semelhantes (0,2243 e 0,2124) demonstraram ausência de efeito de memória após injeções consecutivas da solução padrão de PY.

Figura 38 - (A) Respostas de BIA-AD para injeções em triplicata de (a) 0,5; (b) 1,0; (c) 5,0; (d) 10; (e) 20; (f) 40; (g) 50; (h) 75; (i) 100; (j) 150 e (k) 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ da solução padrão de PY em meio tampão BR (0,12 mol L^{-1} , pH 6,0) e (B) Respectivas curvas de calibração: concentrações crescentes e decrescentes do PY. Condições otimizadas na Tabela 11.

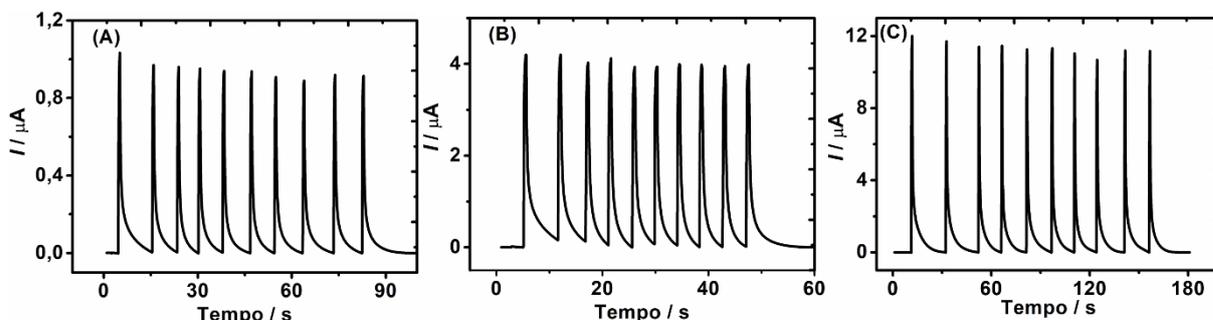


Fonte: Próprio autor (2022).

A partir da curva crescente, os valores LD, LQ, sensibilidade (coeficiente angular) foram obtidos e são apresentados na Tabela 12. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados com base na definição IUPAC (MOCÁK *et al.*, 1997) ($\text{LD} = 3 \sigma / s$ e $\text{LQ} = 10 \sigma / s$), onde σ é o desvio padrão do ruído da linha de base ($n = 10$) e s é a sensibilidade analítica da curva de calibração.

Posteriormente, uma série de determinações eletroquímicas repetitivas ($n = 10$) foram realizadas para avaliar a precisão deste método. O estudo de repetibilidade foi conduzido em três níveis diferentes de concentração de PY (10, 20 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) usando o mesmo eletrodo CB-PLA (Figura 39). Todos os valores de desvio padrão relativo (RSD) foram menores que 3,36%, indicando uma precisão adequada do método proposto.

Figura 39 - Dados de repetibilidade obtidos a partir das injeções sucessivas ($n = 10$) da solução contendo: (A) 5; (B) 20 e (C) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ PY. Condições de análise: potencial de trabalho: +0,4 V, velocidade de injeção: 200 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL , eletrólito de suporte: tampão BR (0,12 mol L^{-1} , pH 6,0).



Fonte: Próprio autor (2022).

A reprodutibilidade de fabricação dos eletrodos foi avaliada pela variação inter-eletrodo e o valor de RSD 6,44 % comprovou a reprodutibilidade alta do processo de produção. Desta forma, o método proposto utilizando o eletrodo CB-PLA impresso em 3D como eletrodo de trabalho, apresentou excelentes parâmetros analíticos para a determinação de PY em amostras reais de biodiesel, sendo capaz de monitorar este antioxidante em baixos níveis de concentração. Fez-se o estudo da variação inter-dia (precisão intermediária), e um valor de RSD 4,43% foi obtido. O valor da variação inter-dia foi calculado a partir dos valores de coeficientes angulares de duas curvas analíticas obtidas em dois dias. A frequência analítica foi estimada em 146 análises por hora. A Tabela 12 descreve os parâmetros analíticos obtidos para PY usando o eletrodo CB-PLA associado a BIA-AD.

Tabela 12 - Parâmetros analíticos obtidos do método proposto para determinação de PY.

Parâmetro Analítico	Valor obtido
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,5 – 300
Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$)	$0,2243 \pm 0,006$
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,20
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,5
r	0,996
Frequência Analítica (a h^{-1})	146
Repetibilidade para 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e n=10 (%)	3,36
Repetibilidade para 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e n=10 (%)	1,53
Repetibilidade para 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e n=10 (%)	3,21
Inter-eletrodo para 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e n=3 (%)	6,44
Inter-dia, mesmo eletrodo (n=2) (%)	4,43

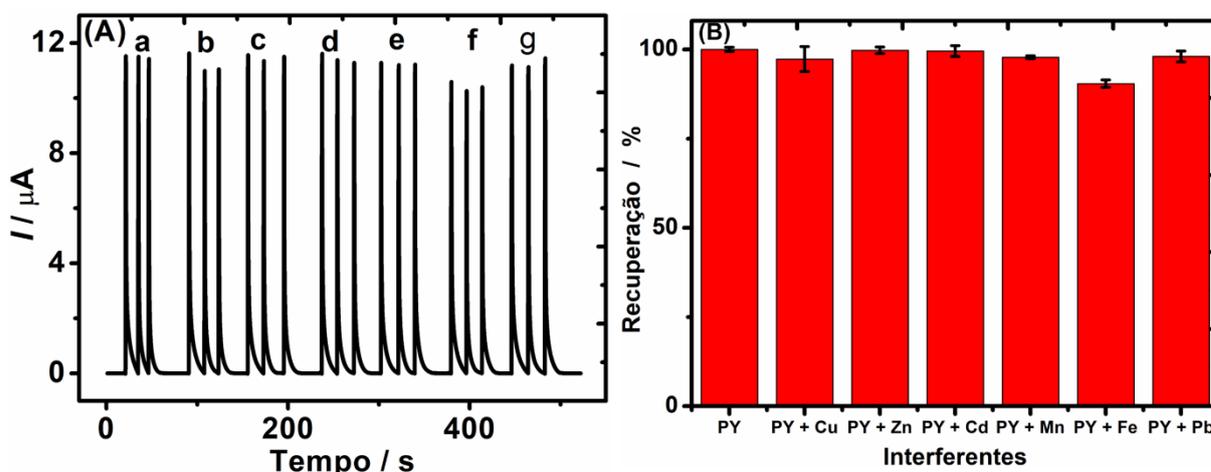
Fonte: Próprio autor (2022).

3.6.4. Estudo de interferentes na detecção eletroquímica de PY

A seletividade do sensor CB-PLA proposto foi avaliada na presença de interferentes Fe^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} e Zn^{2+} usando 1 mg L^{-1} de cada espécie interferente (o que corresponde a Fe^{3+} 17,9; Cu^{2+} 15,8; Mn^{2+} 18,2; Cd^{2+} 8,9; Zn^{2+} 15,2; Pb^{2+} 4,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do antioxidante PY para identificar influências possíveis sobre a resposta eletroquímica do PY. Os registros amperométricos desses experimentos são apresentados na Figura 40. Os valores de recuperação estiveram entre 97,30 e 99,77 % após a adição de interferente, com exceção do Fe^{3+} (90,39 %) (Tabela 13). Neste sentido, as espécies metálicas (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} e Cd^{2+}) não forneceram nenhuma resposta eletroquímica concomitante com os picos de oxidação do PY, portanto, nenhuma interferência foi observada. No entanto, na presença de Fe^{3+} foi verificada uma diminuição de corrente em cerca de 10 % devido, provavelmente, à complexação do PY com Fe^{3+} formando a purpurogalina (CHIN *et al.*, 2021). Assim, é possível notar que no nível de concentração investigado, o Fe^{3+} é um potencial interferente na determinação de PY. Para resolver este problema, o uso de agentes complexantes na etapa de preparo da amostra pode ser uma alternativa viável (NURCHI *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2013). O ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) é um ligante quelato com constante de

afinidade alta para formar complexos de metal-EDTA, sendo deliberadamente adicionado para complexar íons metálicos incluindo Fe^{3+} (OVIEDO; RODRÍGUEZ, 2003).

Figura 40 - (A) Registros de BIA-AD obtidos para (a) $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PY e a mistura contendo a mesma concentração deste antioxidante e 1 mg L^{-1} de (b) Cu^{2+} , (c) Zn^{2+} , (d) Cd^{2+} , (e) Mn^{2+} , (f) Fe^{3+} e (g) Pb^{2+} sob condições otimizadas (Tabela 11) e (B) Percentagem da interferência de cada metal na resposta do PY.



Fonte: Próprio autor (2022).

Tabela 13 - Variação da intensidade de corrente em resposta voltamétrica para $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PY na presença de espécies interferentes metálicas em concentrações de 1 mg L^{-1} cada.

Interferente (Me^{n+})	$I(\text{PY}) / \mu\text{A}$	$I(\text{PY} + \text{Me}^{n+}) / \mu\text{A}$	Recuperação \pm SD %
Cu^{2+}	11,49	11,18	$97,30 \pm 3,49$
Zn^{2+}	11,49	11,46	$99,77 \pm 0,93$
Cd^{2+}	11,49	11,44	$99,54 \pm 1,52$
Mn^{2+}	11,49	11,24	$97,79 \pm 0,41$
Fe^{3+}	11,49	10,39	$90,39 \pm 1,04$
Pb^{2+}	11,49	11,26	$98,02 \pm 1,51$

Fonte: Próprio autor (2022).

3.6.5. Aplicação do método por BIA-AD para determinação de PY em amostra de biodiesel

Após a avaliação dos parâmetros analíticos, o método BIA-AD utilizando o eletrodo CB-PLA fabricado foi aplicado para a determinação de PY em amostras de biodiesel (de soja e comercial). A exatidão do método foi investigada por testes de adição-recuperação, o que significa que as amostras foram fortificadas com concentrações conhecidas de antioxidante em três níveis diferentes (2,5; 6,3 e 12,6 mg L⁻¹) que corresponde a 20, 50 e 100 µmol L⁻¹ PY injetado na célula eletroquímica. O teor de antioxidante foi estimado com base na literatura para atingir as 12 horas de período de indução pelo método Rancimat, protocolo oficial para medir a estabilidade oxidativa (ANP, 2019; RYU, 2009).

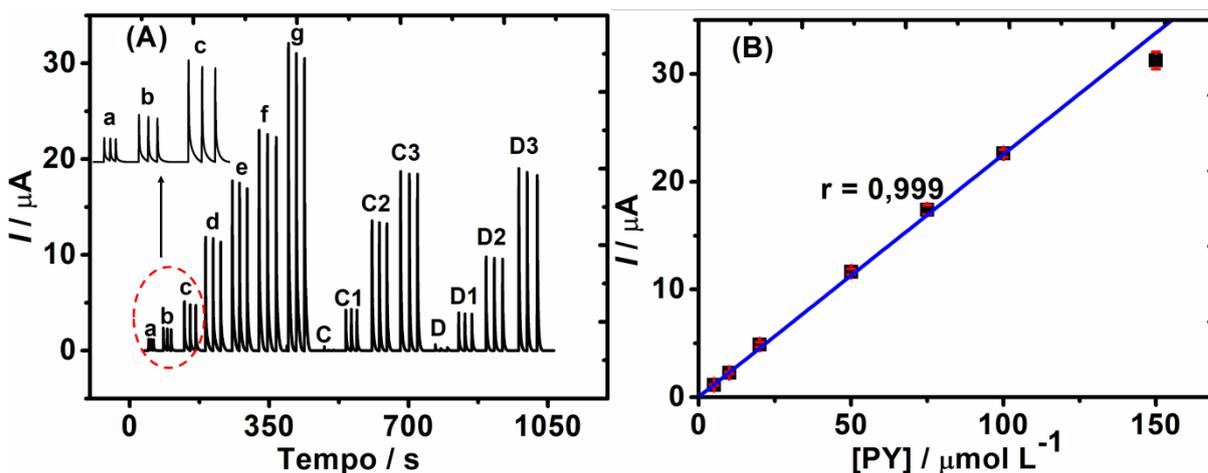
A Tabela 14 e a Figura 41 resumem os valores de recuperação para a análise de amostras de biodiesel fortificadas. Foram obtidos valores de recuperação satisfatórios (entre 82 % e 119 %), o que está de acordo com os critérios estabelecidos pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia do Brasil (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, 2020), mostrando uma exatidão aceitável no nível de concentrações de estudo e sem problemas de interferência da matriz da amostra (biodiesel de soja e biodiesel comercial) sob condições ótimas. Portanto, valores de recuperação aceitáveis indicaram que o sensor proposto em 3D pode ser usado para quantificar o PY em níveis baixos de concentração.

Tabela 14- Resultados obtidos em experimentos de recuperação com amostras de biodiesel enriquecidas com PY (n = 3); valores de concentrações correspondente as quantidades de PY na célula.

Amostra	Encontrada (µmol L ⁻¹)	Fortificada / µmol L ⁻¹	Encontrada ± SD / µmol L ⁻¹	Recuperação ± SD / %
Biodiesel	< LD	20	17,1 ± 0,3	86,0 ± 2,0
Comercial	< LD	50	42,8 ± 0,6	86,0 ± 1,0
	< LD	100	83,0 ± 2,0	83,0 ± 2,0
Biodiesel de soja	< LD	20	18,8 ± 0,2	94,0 ± 1,0
	< LD	50	59,4 ± 0,7	119,0 ± 1,0
	< LD	100	82,2 ± 0,8	82,0 ± 1,0

Fonte: Próprio autor (2022).

Figura 41 - (A) Amperograma obtido para determinação do PY por BIA-AD em biodiesel de soja (C), biodiesel de soja fortificado (C1, C2 e C3), biodiesel comercial (D) e biodiesel comercial fortificado (D1, D2 e D3). Curva analítica: (a) 5,0; (b) 10; (c) 20; (d) 50; (e) 75; (f) 100 e (g) 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) Respetiva curva de calibração. Condições de análise: Potencial de trabalho: +0,4 V, Velocidade de injeção: 200 $\mu\text{L s}^{-1}$, Volume injetado: 100 μL , Eletrólito: tampão BR (0,12 mol L^{-1} , pH 6,0).



Fonte: Próprio autor (2022).

3.6.6. Comparação do desempenho analítico do método desenvolvido com outros métodos eletroanalíticos reportados na literatura para determinação de PY

O método desenvolvido para a determinação de PY em biodiesel utilizando eletrodo CB-PLA foi comparado com outros métodos eletroanalíticos disponíveis na literatura (Tabela 15). Os parâmetros avaliados (tipo de eletrodo de trabalho, LD, LQ e precisão) demonstram que o método proposto forneceu resultados equivalentes ou melhores aos já reportados na literatura. O LD obtido usando o sensor 3D proposto foi menor que os descritos empregando eletrodos convencionais (BDDE) e modificados com nanotubos de carbono (SPE). Em relação à precisão, resultado similar aos reportados na literatura foi estabelecido. Além disso, vale ressaltar que o sensor impresso em 3D tem custo baixo de produção e não exigiu etapas trabalhosas de modificação de superfície com nano materiais metálicos ou à base de carbono.

A determinação eletroquímica de dois antioxidantes (por exemplo, TBHQ e PY) poderia ser efetuada usando detecção amperométrica de múltiplos pulsos caso os processos de oxidação tenham separação de potencial adequada. No entanto, é necessária uma investigação mais

aprofundada dependendo das amostras analisadas (biodiesel ou outros biocombustíveis) e antioxidantes adicionados pelos produtores de biocombustíveis. Ainda assim, o método proposto pode ser facilmente adaptado para o controle de qualidade de biocombustíveis.

Tabela 15 - Visão geral da literatura relatada para a determinação de PY em biodiesel por várias técnicas eletroanalíticas.

Técnica ¹	Eletrodo ²	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)	RSD (%)	Referência
BIA-AD	CB-PLA	0,025	0,084	3,36	Este trabalho
BIA-AD	GCE/ MWCNT	0,002	-	3,0	(CARDOSO <i>et al.</i> , 2017)
LSV	MWCNT- SPE	0,610	0,189	2,37	(ARAUJO <i>et al.</i> , 2015)
LSV	BDDE	0,107	0,356	0,32	(CHÝLKOVÁ <i>et al.</i> , 2017)
FIA-AD	SPE/PEDOT	0,079	0,260	3,06	(HUNG <i>et al.</i> , 2014)
CV	GCE/CNT	0,365	1,215	-	(ZIYATDINOVA <i>et al.</i> , 2012)
CV	SPCE/CoPc	0,307	1,015	-	(MATEMADOMBO <i>et al.</i> , 2012)

Fonte: Próprio autor (2022).

¹CV: voltametria cíclica; LSV: voltametria de varredura linear; FIA-AD: análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica e BIA-AD: análise por injeção em batelada com detecção amperométrica.

²GCE/MWCNT: eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de múltiplas camadas; BDDE: eletrodo de diamante dopado com boro; MWCNT-SPE: eletrodo impresso modificado com nanotubos de carbono de múltiplas camadas; SPE/PEDOT: eletrodo impresso modificado com poli (3,4- etilenodioxítiofeno) e GCE/CNT: eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono; CB-PLA: eletrodo CB-PLA impresso em 3D.

CAPÍTULO IV: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

4.1. Conclusões

Esta dissertação demonstrou que o compósito ecologicamente amigável feito de PLA com CB integrado pode ser usado para fabricar sensores eletroquímicos em 3D para o controle de qualidade de biocombustíveis. O tratamento eletroquímico da superfície do eletrodo melhorou consideravelmente as respostas eletroquímicas de diversos antioxidantes, incluindo BHA, TBHQ, 2,6-DTBP e PY. O eletrodo CB-PLA foi usado com sucesso como eletrodo de trabalho na determinação de PY por BIA-AD, na determinação simultânea de TBHQ e BHA por DPV em amostras de biodiesel de soja bem como biodiesel comercial; e também na determinação de 2,6-DTBP em bioquerosene. Os métodos propostos foram estáveis, sensíveis, precisos e exatos e, o que foi confirmado pelos estudos de recuperação e repetibilidade. A seletividade também foi confirmada por meio de avaliações com agentes interferentes. Vale ressaltar que o eletrodo CB-PLA apresentou desempenho analítico comparável aos eletrodos convencionais (que são mais custosos) para a determinação de antioxidantes (TBHQ, BHA e PY). Portanto, é possível concluir que a utilização dessa fonte de eletrodos descartáveis para essa finalidade torna o método mais barato e portátil, permitindo análises em campo. Nesse sentido, os eletrodos impressos em 3D mostraram-se serem uma ferramenta analítica poderosa para aplicações em biocombustíveis, bem como em outros tipos de amostras.

4.2. Perspectivas

Algumas perspectivas para continuação deste trabalho:

- Investigar o tratamento eletroquímico da superfície do eletrodo proposto em solução aquosa de KOH;
- Aplicar os métodos propostos em outras amostras no país de origem (Moçambique) se houver condições;
- Realizar a determinação de antioxidantes em alimentos e amostras farmacêuticas.

**CAPÍTULO V: ATIVIDADES
REALIZADAS DURANTE O MESTRADO**

5.1. Publicações em revistas científicas durante o mestrado

Inoque, N. I. G., João, A. F., Faria, L. V. De, and Muñoz, R. A. A., 2022, “Electrochemical Determination of Several Biofuel Antioxidants in Biodiesel and Biokerosene Using Polylactic Acid Loaded with Carbon Black within 3D - Printed Devices,” *Microchim. Acta*, 189, 57, <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05152-x>.

Inoque, N. I. G., Faria, L. V. De, and Muñoz, R. A. A., 2022, “Additive Manufacturing towards the Fabrication of Greener Electrochemical Sensors for Antioxidants” *Journal of the Brazilian Chemical Society*, <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20220025>.

CAPÍTULO VI: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6.1. Referências bibliográficas

ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e Técnicas | Chemkeys Português. **Chemkeys-Liberdade para aprender**, n. Ii, p. 21, 2003. <https://doi.org/10.20396/chemkeys.v0i3.9609>

ALMEIDA, E. S. et al. Organic-resistant screen-printed graphitic electrodes: Application to on-site monitoring of liquid fuels. **Analytica Chimica Acta**, v. 934, p. 1–8, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.05.055>

ALVES, A. S. H. A Sustentabilidade do Biodiesel em Moçambique: uma análise integrada das dimensões institucional, social, alimentar, ambiental e energética. p. 293, 2014. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/16397/1/2014_AntonioSergioHaddadAlves.pdf. Acesso em: 20 jun. 2021.

AMINE, A.; MOHAMMADI, H. Amperometry. **Encyclopedia of Analytical Science**, n. September, p. 85–98, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14204-0>

ANP. Resolução ANP N° 798 DE 01/08/2019. p. 2019, 2019. Disponível em <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=381216>>. Acesso em: 10 set. 2021.

ANP. **Mistura de biodiesel ao diesel passa a ser de 13% a partir de 01/03/2022**. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/canais_atendimento/imprensa/noticias-comunicados/mistura-de-biodiesel-ao-diesel-passa-a-ser-de-13-a-partir-de-hoje-1-3>. Acesso em: 12 mai. 2022.

ARAUJO, A. S. A. et al. Electroanalytical Method for Determining Pyrogallol in Biodiesel in the Presence of a Surfactant. **Electroanalysis**, v. 27, n. 5, p. 1152–1158, 2015. <https://doi.org/10.1002/elan.201400647>

ATAIDE, V. N. et al. Additively manufactured carbon/black-integrated polylactic acid 3Dprinted sensor for simultaneous quantification of uric acid and zinc in sweat. **Microchimica Acta**, v. 188, n. 11, p. 1–11, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05007-5>

BETIOLO, C. R.; ROCHA, G. C.; MACHADO, P. R. DE C. INICIATIVAS DA AVIAÇÃO PARA REDUÇÃO DAS EMISSÕES DE CO₂. 2015. Disponível em : http://dcabr.org.br/download/publicacoes-tecnicas/Iniciativas_da_Aviacao_para_Reducacao_das_Emissoes_de_CO2.pdf. Acesso em: 12 out. 2021

BONASSA, G. et al. Bioquerosene: Um Estudo de Caso. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, n. 2, p. 97–106, 2014. <https://doi.org/10.5380/rber.v3i2.37711>

BROWNE, M. P.; REDONDO, E.; PUMERA, M. 3D Printing for Electrochemical Energy Applications. **Chemical Reviews**, v. 120, n. 5, p. 2783–2810, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00783>

CACHO, J. I. et al. Determination of synthetic phenolic antioxidants in edible oils using microvial insert large volume injection gas-chromatography. **Food Chemistry**, v. 200, p. 249–254, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.026>

CARAMIT, R. P. et al. 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. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.06.062>

CARDOSO, L. C. B. et al. Biofuels policies and fuel demand elasticities in Brazil. **Energy Policy**, v. 128, n. December 2018, p. 296–305, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2018.12.035>

CARDOSO, R. M. et al. Batch-injection amperometric determination of pyrogallol in biodiesel using a multi-walled carbon nanotube modified electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 9, p. 1650–1656, 2017. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160316>

CARDOSO, R. M. et al. 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 1033, p. 49–57, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.021>

CARDOSO, R. M. et al. Drawing Electrochemical Sensors Using a 3D Printing Pen. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 9, p. 1764–1770, 2020a. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200129>

CARDOSO, R. M. et al. Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1118, p. 73–91, 2020b. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.028>

CASAGRANDE, M. et al. Direct Analysis of Synthetic Phenolic Antioxidants, and Fatty Acid Methyl Ester Stability in Biodiesel by Liquid Chromatography and High-Resolution Mass Spectrometry. **Chromatographia**, v. 82, n. 1, p. 271–278, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10337-018-3681-3>

CASTRO, S. V. F. et al. Promising Applications of Additive-Manufactured (3D-printed) Electrochemical Sensors for Forensic Chemistry. n. March, p. 1–27, 2021. <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.RV-50-2021>

CHIN, H. et al. Effect of aromatic ring substituents on the ability of catechol to produce brown carbon in iron(iii)-catalyzed reactions . **Environmental Science: Atmospheres**, v. 1, n. 2, p. 64–78, 2021. <https://doi.org/10.1039/D0EA00007H>

CHÝLKOVÁ, J. et al. Sensitive voltammetric method for the fast analysis of the antioxidant pyrogallol using a boron-doped diamond electrode in biofuels. **Chemical Papers**, v. 71, n. 6, p. 1047–1054, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11696-016-0025-3>

CONCEIÇÃO, R. C. Estudo Da Avaliação Térmica E Oxidativa Do Óleo, Biodiesel E De Misturas Biodiesel/Diesel De Espécies Amazônicas. p. 97, 2017. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/6087>. Acesso em: 25 dez 2021.

DABDOUB, M. J.; BRONZE, J. L.; RAMPIN, M. A. Biodiesel: visao critica do status atual e perspectivas na academia e na industria. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 776–792, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300021>

DAI, C. et al. A novel sensor based on electropolymerized substituted-phenols for pH detection in unbuffered systems. **RSC Advances**, v. 5, n. 126, p. 104048–104053, 2015. <https://doi.org/10.1039/C5RA22595G>

DE ARAUJO, T. A. et al. Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples. **Fuel**, v. 90, n. 2, p. 707–712, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.09.022>

DE OLIVEIRA, F. M.; DE MELO, E. I.; DA SILVA, R. A. B. 3D Pen: A low-cost and portable tool for manufacture of 3D-printed sensors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 321, n. June, p. 128528, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128528>

DE RESENDE, M. A. C.; DA SILVA, D. N.; PEREIRA, A. C. Flow and batch injection systems with electrochemical detection applied in drugs determination. **Revista Virtual de Quimica**, v. 12, n. 5, p. 1186–1209, 2020. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200095>

DELFINO, J. R. et al. Antioxidants detection in aviation biokerosene by high-performance liquid chromatography using gold nanoparticles anchored in reduced graphene oxide. **Fuel**, v. 260, n. September 2019, p. 116315, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116315>

DOMINGOS, A. K. et al. The influence of BHA, BHT and TBHQ on the oxidation stability of soybean oil ethyl esters (biodiesel). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 2, p. 416–423, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000200026>

DRAGONE, V. et al. 3D-printed devices for continuous-flow organic chemistry. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 9, p. 951–959, 2013. <https://doi.org/10.3762/bjoc.9.109>

ELGRISHI, N. et al. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 95, n. 2, p. 197–206, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>

EPE. **EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA, Balanço Energético Nacional 2019**. Disponível em: <<https://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/balanco-energetico-nacional-2019>>. Acesso em: 12 mai. 2022.

FERNANDES, D. M. et al. Corrosive character of *Moringa oleifera* Lam biodiesel exposed to carbon steel under simulated storage conditions. **Renewable Energy**, v. 139, p. 1263–1271, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.03.034>

FERRARI, R. A.; DE SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Quimica Nova**, v. 32, n. 1, p. 106–111, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100020>

FIEGE, H. et al. Phenol Derivates. **Ullman's encyclopedia of industrial chemistry**, p. 503–519, 2012. Disponível em: <https://pdfslide.net/documents/ullmanns-encyclopedia-of-industrial-chemistry-phenol-derivatives.html>. Acesso em: 30 dez. 2021.

GARCÍA, M. et al. Antioxidants for biodiesel: Additives prepared from extracted fractions of bio-oil. **Fuel Processing Technology**, v. 156, p. 407–414, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.10.001>

GOULART, L. A. et al. Development of an analytical method for the determination of tert-butylhydroquinone in soybean biodiesel. **Fuel**, v. 115, p. 126–131, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.06.050>

HAMZAH, H. H. et al. 3D printable conductive materials for the fabrication of electrochemical sensors: A mini review. **Electrochemistry Communications**, v. 96, p. 27–31, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.09.006>

HAŠŠO, M.; ŠVORC, L. Batch injection analysis in tandem with electrochemical detection: the recent trends and an overview of the latest applications (2015–2020). **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, n. 0123456789, 2022. <https://doi.org/10.1007/s00706-022-02898-9>

HEYROVSKÝ. The Development. **Accounting in Australia (RLE Accounting)**, v. 3, p. 503–503, 1956. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/1956/an/an9568100189>. Acesso em: 12 de abr. 2022.

HOFFMANN DA ROCHA, A. A. et al. Simultaneous Voltammetric Determination of tert-Butylhydroquinone and Propyl Gallate in Biodiesel-Ethanol at a Pt Ultramicroelectrode. **Energy and Fuels**, v. 31, n. 7, p. 7076–7081, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b00204>

HUNG, C. H. et al. Electrochemical determination of pyrogallol at conducting poly(3,4-ethylenedioxythiophene) film-modified screen-printed carbon electrodes. **Electroanalysis**, v. 26, n. 10, p. 2237–2243, 2014. <https://doi.org/10.1002/elan.201400296>

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, Q. E T. (INMETRO). ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS. **DOQ-CGCRE-008**, p. 1–30, 2020. http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=5&cod_uo_numeracao=00774&num_documento=008 acessado em: 20 dez. 2021.

JAIN, S. K.; TADESSE, Y. Fabrication of Polylactide/Carbon Nanopowder Filament using Melt Extrusion and Filament Characterization for 3D Printing. **International Journal of Nanoscience**, v. 18, n. 5, p. 1–4, 2019. <https://doi.org/10.1142/S0219581X18500266>

JEMIMA ROMOLA, C. V. et al. A comprehensive review of the selection of natural and synthetic antioxidants to enhance the oxidative stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 145, n. October 2020, p. 111109, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111109>

JOÃO, A. F. et al. 3D printing pen using conductive filaments to fabricate affordable electrochemical sensors for trace metal monitoring. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 876, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114701>

JOÃO, A. F. et al. 3D-printing in forensic electrochemistry: Atropine determination in beverages using an additively manufactured graphene-polylactic acid electrode. **Microchemical Journal**, v. 167, n. April, 2021a. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106324>

JOÃO, A. F. et al. An Environmentally Friendly Three-Dimensional Printed Graphene-Integrated Polylactic Acid Electrochemical Sensor for the Quality Control of Biofuels. **ACS**

Sustainable Chemistry and Engineering, v. 9, n. 48, p. 16052–16062, 2021b. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c03361>

KNOTHE, G.; RAZON, L. F. Biodiesel fuels. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 58, p. 36–59, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.peccs.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, n. April, p. 75–80, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.04.009>

KUMAR, N. Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. **Fuel**, v. 190, p. 328–350, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.11.001>

L., A. et al. Electrochemical Methods in Analysis of Biofuels. **Applications and Experiences of Quality Control**, 2011. <https://doi.org/10.5772/16212>

LLAMAS, A. et al. Biokerosene from coconut and palm kernel oils: Production and properties of their blends with fossil kerosene. **Fuel**, v. 102, p. 483–490, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.06.108>

MACHADO, Y. D. L. Avaliação da estabilidade oxidativa e determinação da cinética de oxidação de óleos vegetais, ácido oleico e biodiesel utilizando o método PetroOXY (ASTM D7545) Yguatyara de Luna Machado. **Journal American Oil Chemistry Society**, v. 91, p. 1139–1145, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/21671>. Acesso em: 22 jan. 2022.

MANZANARES PALENZUELA, C. L. et al. 3D-Printed Graphene/Polylactic Acid Electrodes Promise High Sensitivity in Electroanalysis. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 9, p. 5753–5757, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00083>

MATEMADOMBO, F. et al. Comparison of carbon screen-printed and disk electrodes in the detection of antioxidants using CoPc derivatives. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 166–167, p. 457–466, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.02.088>

Metrohm. Disponível em: <<https://www.metrohm.com/pt-br/produtos-geral/estabilidade-oxidativa/rancimat/>>. Acesso em: 14 mar. 2022.

MOCAK, J. et al. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques. **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 297–328, 1997. <https://doi.org/10.1351/pac199769020297>

NEULING, U.; KALTSCHMITT, M. Conversion routes for production of biokerosene—status and assessment. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 5, n. 4, p. 367–385, 2015. <https://doi.org/10.1007/s13399-014-0154-2>

NGO, T. D. et al. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. **Composites Part B: Engineering**, v. 143, n. February, p. 172–196, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012>

NICHOLSON, R. S. Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics. **Analytical Chemistry**, v. 37, n. 11, p. 1351–1355, 1965. <https://doi.org/10.1021/ac60230a016>

NUNES ANGELIS, P. et al. Feasibility of a Nano-Carbon Black Paste Electrode for Simultaneous Voltammetric Determination of Antioxidants in Food Samples and Biodiesel in the Presence of Surfactant. **Electroanalysis**, v. 32, n. 6, p. 1198–1207, 2020. <https://doi.org/10.1002/elan.201900479>

NURCHI, V. M. et al. A friendly complexing agent for spectrophotometric determination of total iron. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 1–11, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26113071>

OMAR, M. H. et al. Recent progress of conductive 3D-printed electrodes based upon polymers/carbon nanomaterials using a fused deposition modelling (FDM) method as emerging electrochemical sensing devices. **RSC Advances**, v. 11, n. 27, p. 16557–16571, 2021. <https://doi.org/10.1039/D1RA01987B>

OVIEDO, C.; RODRÍGUEZ, J. EDTA: The chelating agent under environmental scrutiny. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 901–905, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000600020>

PACHECO, W. F. et al. Voltammetry: A brief review about concepts. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130040>

PAIXÃO, T. R. L. C. Measuring Electrochemical Surface Area of Nanomaterials versus the Randles–Ševčík Equation. **ChemElectroChem**, v. 7, n. 16, p. 3414–3415, 2020. <https://doi.org/10.1002/celec.202000633>

PANG, Y. et al. Additive Manufacturing of Batteries. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 1, p. 1–22, 2020. <https://doi.org/10.1002/adfm.201906244>

PEREIRA, J. F. S. et al. Reactive oxygen plasma treatment of 3D-printed carbon electrodes towards high-performance electrochemical sensors. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 347, n. March, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130651>

PINTO, A. C. et al. Biodiesel: An overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6 B, p. 1313–1330, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532005000800003>

RATH, S. O Uso De Técnicas Voltamétricas Na Análise De Solos E Água. 2003. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/met/images/arquivos/08MET/Palestras/tecnicavoltametricas.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2022.

REZENDE, M. J. C. et al. Biodiesel: An overview II. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, n. 7, p. 1301–1344, 2021. <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20210046>

RICHTER, E. M. et al. Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform. **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 20, p. 12844–12851, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02573>

ROCHA, D. P. et al. 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. <https://doi.org/10.1002/elan.201800042>

ROCHA, D. P. et al. Improved electrochemical detection of metals in biological samples using 3D-printed electrode: Chemical/electrochemical treatment exposes carbon-black conductive sites. **Electrochimica Acta**, v. 335, p. 1–11, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.135688>

ROCHA, D. P. et al. Posttreatment of 3D-printed surfaces for electrochemical applications: A critical review on proposed protocols. **Electrochemical Science Advances**, n. July, p. 1–15, 2021. <https://doi.org/10.1002/elsa.202100136>

RYU, K. Effect of antioxidants on the oxidative stability and combustion characteristics of biodiesel fuels in an indirect-injection (IDI) diesel engine. **Journal of Mechanical Science and Technology**, v. 23, n. 11, p. 3105–3113, 2009. <https://doi.org/10.1007/s12206-009-0902-6>

SANTOS, F. et al. Bioquerosene para aviação : cenário atual e perspectivas futuras. **Bioenergia em Revista: Diálogos**, p. 73–91, 2020. Disponível em: <http://fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/viewFile/369/373780>. Acesso em: 23 de janeiro de 2022.

SCHAUMLÖFFEL, L. DE S. et al. Direct and simultaneous determination of four phenolic antioxidants in biodiesel using differential pulse voltammetry assisted by artificial neural networks and variable selection by decision trees. **Fuel**, v. 236, n. September 2018, p. 803–810, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.09.048>

SERQUEIRA, D. S. et al. Influence of blending soybean, sunflower, colza, corn, cottonseed, and residual cooking oil methyl biodiesels on the oxidation stability. **Fuel**, v. 118, p. 16–20, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.10.028>

SFRAGANO, P. S.; LASCHI, S.; PALCHETTI, I. Sustainable Printed Electrochemical Platforms for Greener Analytics. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, n. July, p. 1–7, 2020. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00644>

SILVA, A. L. et al. A 3D Printer Guide for the Development and Application of Electrochemical Cells and Devices. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, n. July, 2021. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.684256>

SOUZA, D. DE et al. Revisão. v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100015>

SOUZA, D. A. A. DE et al. Avaliação Do Potencial De Misturas De Antioxidantes Naturais E Sintético Na Estabilidade Oxidativa De Biodiesel / Assessment of the Potential of Natural and Synthetic Antioxidants Blends on Biodiesel Oxidative Stability. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 11782–11799, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-008>

SQUISSATO, A. L. et al. In situ electrochemical determination of free Cu(II) ions in biodiesel using screen-printed electrodes: Direct correlation with oxidation stability. **Fuel**, v. 234, n. June, p. 1452–1458, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.08.027>

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, n. February, p. 433–440, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.04.030>

SUN, X. et al. Complexation of glutarimidedioxime with Fe(iii), Cu(ii), Pb(ii), and Ni(ii), the competing ions for the sequestration of U(vi) from seawater. **Dalton Transactions**, v. 42, n. 40, p. 14621–14627, 2013. <https://doi.org/10.1039/c3dt51767e>

TOMÁŠKOVÁ, M. et al. Voltammetric method for rapid determination of propyl gallate and its application for monitoring of biofuels quality. **Monatshefte fur Chemie**, v. 148, n. 3, p. 457–461, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00706-016-1860-1>

TORMIN, T. F. et al. Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection. **Talanta**, v. 85, n. 3, p. 1274–1278, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.06.008>

TORMIN, T. F. et al. 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. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.06.024>

TORMIN, T. F. et al. Batch-injection stripping voltammetry of metals in fuel bioethanol. **Fuel**, v. 117, n. PARTB, p. 952–956, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.10.038>

TORMIN, T. F. et al. Batch-injection stripping voltammetry of zinc at a gold electrode: Application for fuel bioethanol analysis. **Electrochimica Acta**, v. 164, p. 90–96, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.02.172>

TORMIN, T. F. et al. 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. <https://doi.org/10.1002/elan.201501012>

TULLY, J. J.; MELONI, G. N. A Scientist's Guide to Buying a 3D Printer: How to Choose the Right Printer for Your Laboratory. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 22, p. 14853–14860, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c03299>

VAN DER WESTHUIZEN, I.; FOCKE, W. W. Stabilizing sunflower biodiesel with synthetic antioxidant blends. **Fuel**, v. 219, n. November 2017, p. 126–131, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.01.086>

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

VAZ, C. M. P. et al. Electroanalytical determination of the herbicide atrazine in natural waters. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 65–76, 1996. <https://doi.org/10.1080/03067319608027053>

WANG, L.; PUMERA, M. Recent advances of 3D printing in analytical chemistry: Focus on microfluidic, separation, and extraction devices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 135, p. 116151, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116151>

WANG, P. et al. Electrochemical determination of tert-butylhydroquinone and butylated hydroxyanisole at choline functionalized film supported graphene interface. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 224, p. 885–891, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.10.098>

WHITTINGHAM, M. J. et al. Additive manufacturing for electrochemical labs: An overview and tutorial note on the production of cells, electrodes and accessories. **Talanta Open**, v. 4, n. July, p. 100051, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100051>

WIRTH, D. M. et al. Electrolysis Activation of Fused-Filament-Fabrication 3D-Printed Electrodes for Electrochemical and Spectroelectrochemical Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 9, p. 5553–5557, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01331>

ZHOU, J.; XIONG, Y.; LIU, X. Evaluation of the oxidation stability of biodiesel stabilized with antioxidants using the Rancimat and PDSC methods. **Fuel**, v. 188, p. 61–68, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.10.026>

ZIYATDINOVA, G. et al. Voltammetric detection of synthetic water-soluble phenolic antioxidants using carbon nanotube based electrodes. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 16, n. 1, p. 127–134, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10008-011-1295-x>