



Universidade Federal de Uberlândia

Instituto de Química

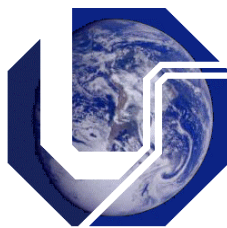
Programa de Pós-Graduação em Química

**Análise por injeção em batelada associada à detecção
amperométrica: desenvolvimento de métodos rápidos para a
determinação de antioxidantes em biodiesel**

Mestrando: Thiago Faria Tormin

Uberlândia

Julho/2012



Universidade Federal de Uberlândia

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**Análise por injeção em batelada associada à detecção
amperométrica: desenvolvimento de métodos rápidos para a
determinação de antioxidantes em biodiesel**

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

Mestrando: Thiago Faria Tormin

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Área de Concentração: Química Analítica

• Bolsista CAPES

Uberlândia

Julho/2012



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



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 150/COPGQ.

DATA: 27/07/2012

DISCENTE: Thiago Faria Tormin

MATRÍCULA: 11022QMI009

TÍTULO DO TRABALHO: Análise por injeção em batelada associada à detecção amperométrica: desenvolvimento de métodos rápidos para a determinação de antioxidantes em biodiesel.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de sensores eletroquímicos para o controle de qualidade de biodiesel em tempo real.

Às nove horas do dia vinte e sete de julho do ano dois mil e doze, no Auditório D do Bloco 50, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Evandro Piccin, da Universidade Federal de Minas Gerais, Regina M. Takeuchi, do Instituto de Química da UFU e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, professor orientador e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 01/2010/COPGQ. Em seguida, o presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e 2 provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

o mesmo.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 12 horas e 20 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Evandro Piccin – UFMG

Profª Dra. Regina M. Takeuchi – IQUFU

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz – IQUFU

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, Geraldo e Maria Helena,

símbolo de amor, esperança, companheirismo

e incentivo para superar a saudade e as dificuldades.

Às minhas irmãs Rafaela, Graziela e Daniela, pelo exemplo de

força de vontade e apoio durante este tempo de trabalho.

Ao Rodrigo e ao Eduardo, pela paciência e sabedoria dispensada comigo.

E aos meus amigos, companheiros eternos,

Tamara, Jackson, João, Denis,

Gustavo e Raphael.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por estar sempre ao meu lado, me dando força e luz para lutar contra as adversidades da vida.

Ao Prof. Rodrigo Alejandro Abarza Munõz, pela orientação, paciência e incentivo durante todo decorrer deste trabalho, contribuindo, e muito, para o meu aprendizado e crescimento profissional.

Ao Prof. Eduardo Mathias Richter, pela co-orientação e ajuda em momentos importantes deste trabalho.

Em especial, à Denise, pela contribuição nos ensinamentos básicos da eletroanalítica, e os diversos trabalhos realizados em conjunto.

Todos os colegas e amigos de laboratório: Polyana, Rodrigo Amorim, Rodrigo Montes, Mariana, Rafael, Luiz André, Florence, Zaqueo, Laiz e todos os demais que não estão reportados aqui, mas que com certeza ficarão guardados na memória.

À Mayta, secretária da Pós-Graduação em Química, pela paciência e colaboração.

Aos mestres, Yaico, Sebastião, Nívia, Aline, Wellington e aos outros professores não relatados, pelos conhecimentos adquiridos, que jamais serão esquecidos, meu muito obrigado.

Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia pelo espaço físico concedido.

Aos membros da banca pela aceitação e valiosa contribuição para o aprimoramento deste trabalho.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos, obrigado.

E em especial, aos meus grandes e eternos amigos, Raphael e Gustavo, pela paciência e apoio em momentos de dificuldade.

RESUMO

TORMIN, Thiago Faria. Análise por injeção em batelada associada à detecção amperométrica: desenvolvimento de métodos rápidos para a determinação de antioxidantes em biodiesel. Uberlândia: Instituto de Química, UFU, julho de 2012. Dissertação de Mestrado.

Esta dissertação apresenta pela primeira vez a aplicação da Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção amperométrica para a determinação dos antioxidantes fenólicos butil-hidroxi-anisol (BHA) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) em amostras de biodiesel. As metodologias desenvolvidas tem alta potencialidade para serem aplicadas em campo e também para serem miniaturizadas. A instabilidade do biodiesel devido a processos de oxidação ocasionados durante armazenamento, transporte e uso, torna necessária a adição de antioxidantes no biocombustível. O conteúdo de antioxidantes no biodiesel pode ser associado à sua estabilidade oxidativa, que normalmente é medida pelo método Rancimat e requer horas de análise (tempo mínimo de análise para uma amostra dentro da especificação é de 6 horas). Na dissertação, primeiramente, é apresentado o desenvolvimento de um método para a determinação individual do BHA e, posteriormente para a determinação simultânea de BHA e TBHQ.

No sistema BIA, as amostras foram injetadas em direção ao eletrodo de trabalho (diamante dopado com boro ou carbono vítreo) imerso em uma solução hidroetanólica 50 % (v/v) com $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HClO}_4$, usando uma micropipeta eletrônica. É importante destacar que a única etapa para o preparo da amostra de biodiesel é uma simples diluição da amostra no eletrólito hidroetanólico.

Após otimização dos parâmetros do sistema BIA e da escolha do potencial de trabalho (1,0 V), o método BIA com detecção amperométrica foi aplicado para a determinação de BHA em biodiesel usando eletrodo de diamante dopado com boro. Entre as várias vantagens do método desenvolvido para análises de rotina de biodiesel, incluem: baixo desvio padrão relativo entre as injeções (0,29%, $n=20$), alta frequência analítica (120 injeções por hora), valores de recuperação adequados para amostras

dopadas (93-101%), exatidão satisfatória (baseadas em determinações por cromatografia líquida de alta eficiência) e um baixo limite de detecção (50 nmol L^{-1}).

Com intuito de executar a determinação simultânea de BHA e TBHQ, a amperometria de múltiplos pulsos (AMP) foi escolhida como técnica de detecção. A técnica permite a aplicação de uma sequência de pulsos de potencial e monitoramento contínuo da corrente gerada em cada pulso. Escolheu-se o potencial de 0,6 V para a determinação seletiva de TBHQ, na presença de BHA e o potencial de 1,0 V, onde ocorre a oxidação eletroquímica de BHA e TBHQ. A contribuição da corrente da oxidação do TBHQ pode ser subtraída da resposta de corrente do BHA, e assim, foi possível quantificar BHA. O método amperométrico para a determinação simultânea de BHA e TBHQ em sistema BIA usando eletrodo de carbono vítreo produziu resultados satisfatórios para sua aplicação em análises de rotina e em campo, incluindo: baixo desvio padrão relativo entre as injeções (1,81%, $n=10$), alta frequência analítica (170 injeções por hora), exatidão satisfatória (recuperações entre 100 e 110%), baixo limite de detecção (73 e 75 nmol L^{-1} para BHA e TBHQ, respectivamente).

ABSTRACT

TORMIN, Thiago Faria. Batch injection analysis associated with amperometric detection: development of fast methods for the determination of antioxidants in biodiesel. Uberlândia: Instituto de Química, UFU, julho de 2012. Master's degree dissertation

This dissertation presents, for the first time, the application of Batch Injection Analysis (BIA) with amperometric detection for the determination the phenolic antioxidants butylated hydroxy-anisole (BHA) and tert-butylhydroquinone (TBHQ) in biodiesel samples. The developed methodologies have high potential to be applied in the field and also to be miniaturized. The biodiesel instability due to oxidation processes caused during storage, transport and use, makes necessary the addition of antioxidants in the biofuel. The content of antioxidants in biodiesel can be associated with its oxidative stability, which is typically measured by the Rancimat method and requires hours (minimum time of analysis of a sample within the specification is 6 hours). In the dissertation, first, it is presented the development of a method for the individual determination BHA and subsequently for the simultaneous determination of BHA and TBHQ.

In the BIA system, the samples were injected directly onto the working electrode (boron-doped diamond or glassy-carbon) immersed in 50% (v/v) hydroethanolic solution with 0.1 mol L^{-1} , using an electronic micropipette. Importantly, the only preparation step required for biodiesel analysis is a simple dilution of the sample in the electrolyte hydroethanolic.

After optimization of the BIA system and the choice of the working potential (1.0 V), BIA with amperometric detection was applied for the determination of BHA in biodiesel using a boron-doped diamond electrode. Among the several advantages of the developed method for routine analysis of biodiesel, include: a low relative standard deviation between injections (0.29%, $n=20$), high analytical frequency (120 h^{-1}), adequate recovery values (93–101%) for spiked samples, satisfactory accuracy (based on determinations by high-performance liquid-chromatography), and a low detection limit (50 nmol L^{-1}).

In order to perform the simultaneous determination of TBHQ and BHA, the multiple pulse amperometry (MPA) was chosen as detection technique. The technique allows the application of a sequence of potential pulses and continuous monitoring of the current in each pulse. We chose the potential of 0.6 V for the selective determination of TBHQ in the presence of BHA and, the potential of 1.0 V, at which occurs the electrochemical oxidation of BHA and TBHQ. The current contribution from the oxidation of TBHQ can be subtracted from the current response of BHA, and thus BHA could be quantified. The amperometric method for the simultaneous determination of BHA and TBHQ in the BIA system using a glassy-carbon electrode produced satisfactory results for its application in routine analysis and in field (on-site analysis), including: low relative standard deviation between injections (RSD <1%; n=10), fast (170 injections per hour), satisfactory accuracy (recoveries between 100 and 110%), and low detection limit (73 and 75 nmol L⁻¹ for BHA and TBHQ, respectively).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Reação de transesterificação para produção do biodiesel.	20
Figura 2.	Fórmula estrutural do TBHQ.	24
Figura 3.	Fórmulas estruturais do BHA.	25
Figura 4.	Mecanismo de oxidação eletroquímica do BHA.	27
Figura 5.	Esquema da célula eletroquímica de 3 eletrodos para realização de VC.	30
Figura 6.	Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. Ei: potencial inicial; Ef: potencial final, Es: potencial de inversão; ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.	31
Figura 7.	A) Perturbação aplicada, variando de Ei a Ef. B) resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial.	32
Figura 8.	Diagrama esquemático da célula BIA. (A) eletrodo de trabalho; (B) eletrodo auxiliar; (C) eletrodo de referência; (D) ponteira da micropipeta; (E) orifício para preenchimento da célula; (F) barra de agitação; (G) dreno.	35
Figura 9.	Etapas da aquisição do sinal transiente por BIA.	36
Figura 10.	Foto ilustrativa do sistema de análise por injeção em batelada associado a um potenciostato acoplado a um computador. Em destaque: célula eletroquímica onde são indicados os três eletrodos, sendo a amostra injetada na parte superior da célula através da pipeta automática frontalmente à superfície do eletrodo de trabalho.	42
Figura 11.	A) Esquema da célula BIA (quantificação de BHA). Volume total da célula: 180 mL; B) Imagem em perspectiva da célula (<i>Esquema BIA 1</i>).	43
Figura 12.	Vista dos componentes individuais da célula BIA: (1) Borboletas (porcas) para fixação nos parafusos imobilizados na base da célula; (2) placa metálica de reforço; (3) placa de circuito	44

impresso de cobre; **(4)** placa de DDB (0,7 x 0,7 cm); **(5)** anel de borracha “o-ring” ($\varnothing_{\text{interno}} = 8 \text{ mm}$); **(6)** tubo de vidro inserido em polietileno; **(7)** tampa da célula **(8)**, ponteira da micropipeta eletrônica (1,0 mL).

- Figura 13.** **A)** Esquema da célula utilizada nas análises em BIA para a análise simultânea de BHA e TBHQ. Volume total da célula: 180 mL. **B)** Imagem em perspectiva da célula durante as medidas eletroquímicas (*Esquema BIA 2*). **45**
- Figura 14.** Voltamograma obtido para soluções de BHA (1 mmol L^{-1}). Eletrólito: HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . Faixa de trabalho: -0,5 a 1,5 V. ET: EDDB. Ciclo: 1. **47**
- Figura 15.** **A)** Esquema da aplicação da sequência de pulsos pela Amperometria de múltiplos pulsos (AMP) em eletrodo de trabalho (DDB); **B)** Registros obtidos por BIA-AMP para 3 injeções sucessivas de 100 μL de uma solução com $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA; **C)** Voltamograma hidrodinâmico resultante dos valores de corrente de pico (média de 3 injeções) em função do pulso de potencial aplicado. Tempo do pulso de potencial: 70 ms cada. Eletrólito: 50% (v/v) água-etanol com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 . **49**
- Figura 16.** Estudo do efeito da velocidade de injeção para uma solução contendo $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA ($n=3$). Potencial: 1,0 V; eletrólito suporte: solução hidroetanólica 50% (v/v) com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; volume injetado: 100 μL . **52**
- Figura 17.** Estudo do efeito da variação do volume de injeção para uma solução contendo BHA $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($n=3$). Potencial: 1,0 V; eletrólito suporte: solução hidroetanólica 50% (v/v) com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; velocidade de injeção: $160 \mu\text{L s}^{-1}$. **52**
- Figura 18.** Respostas amperométricas obtidas por injeções sucessivas de uma solução contendo $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA ($n=20$). Potencial de trabalho: 1,0 V. Volume injetado: 100 μL ; Velocidade de injeção: $160 \mu\text{L s}^{-1}$; eletrólito: 50% (v/v) água-etanol com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de **53**

HClO₄.

- Figura 19.** **A)** BIA: respostas amperométricas obtidas com EDDB para injeções em triplicata de a) 10; b) 20; c) 30; d) 40; e e) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução padrão de BHA e de (1 – 4) quatro amostras de biodiesel; **B)** curva de calibração correspondente ($R = 0,999$). Potencial: 1,0 V. Volume injetado: 100 μL ; Velocidade de injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; eletrólito: 50% (v/v) água-etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO₄. **54**
- Figura 20.** Voltamogramas obtidos para soluções de TBHQ e BHA (ambos 1 mmol L^{-1}). Eletrólito: HClO₄ 0,1 mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . ET: ECV. Faixa de trabalho: -0,2 V a 1,2V. Ciclo: 1. **57**
- Figura 21.** Registros obtidos por BIA-AMP obtidos em 3 injeções sucessivas de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ, de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA e da mistura de BHA+TBHQ (30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada). Faixa de potencial: 0,5 a 1,2 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO₄; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL . **58**
- Figura 22.** Voltamograma hidrodinâmico obtido plotando valores de corrente de pico em função dos respectivos pulsos de potenciais aplicados. As soluções continham 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ ($\blacktriangle$) ou BHA ($\bullet$). Pulso de potencial: 0,3 a 1,2 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO₄; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL . **59**
- Figura 23.** Respostas amperométricas (n=3) de soluções contendo TBHQ (30 $\mu\text{mol L}^{-1}$), BHA (30 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e TBHQ + BHA (30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada). Pulsos de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO₄; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL . **60**
- Figura 24.** Respostas amperométricas obtidas para adições crescentes e **62**

decrecentes de TBHQ (a-e: 10 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) utilizadas para o cálculo do FC médio. Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL .

- Figura 25.** Estudo do efeito da velocidade de injeção para uma solução contendo uma mistura de TBHQ 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e BHA 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; volume injetado: 100 μL . **63**
- Figura 26.** Estudo do efeito da variação do volume de injeção para uma solução contendo uma mistura de TBHQ 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e BHA 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$. **64**
- Figura 27.** Dados de repetitividade obtidos a partir de injeções sucessivas de uma solução contendo 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA (n=10). Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL . **65**
- Figura 28.** **A)** Respostas amperométricas obtidas após injeções de uma solução contendo somente TBHQ 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a) e cinco soluções contendo simultaneamente concentrações crescentes de TBHQ e BHA (b-f: 10 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$). **B)** Curvas de calibração do TBHQ: concentrações crescente ($\blacktriangle$ $R=0,999$) e decrescente ($\bullet$ $R=0,999$). **C)** Curvas de calibração do BHA: concentrações crescente ($\blacktriangle$ $R=0,998$) e decrescente ($\bullet$ $R=0,998$). Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL . **66**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Algumas propriedades físicas do TBHQ e do BHA.	23
Tabela 2.	Resumo de algumas técnicas analíticas desenvolvidas visando à determinação de antioxidantes amostras de óleo.	25
Tabela 3.	Concentrações de BHA obtidas pelo método proposto em BIA e por HPLC (mg g^{-1} de amostra) e os respectivos valores de desvio padrão ($n=3$).	55
Tabela 4.	Concentrações de BHA e TBHQ obtidas pelo método proposto em BIA e por HPLC (mg g^{-1} de amostra) e os respectivos valores de desvio padrão ($n=3$).	68

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$\varnothing_i$ - Diâmetro interno

ANP – Agência Nacional do Petróleo

AMP - Amperometria de Múltiplos Pulsos

BDD - Diamante dopado com boro, do inglês “*Boron-Doped Diamond*”

BHA – Butil-Hidróxi-Anisol

BHT – Butil-Hidróxi-Tolueno

BIA - Análise por Injeção em batelada, do inglês “*Batch Injection Analysis*”

CVD – do inglês, “*Chemical Vapor Deposition*”

DDB - Diamante Dopado com Boro

DP - Desvio Padrão

DPR - Desvio Padrão Relativo

EA - Eletrodo Auxiliar

EAu – Eletrodo de Ouro

ECV – Eletrodo de Carbono Vítreo

EDDB – Eletrodo de Diamante Dopado com Boro

ER - Eletrodo de Referência

ET – Eletrodo de Trabalho

EtOH – Etanol

H – Altura

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

PVC – Cloreto de polivinila

PG – Propil-galato

TBHQ – Terc-Butil-Hidroquinona

UV-Vis – Ultravioleta visível

VC - Voltametria cíclica, do inglês “*Cyclic voltammetry*”

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS DO TRABALHO	18
1.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	19
1.2. BIODIESEL	19
1.3. ANTIOXIDANTES	22
1.4. ESPÉCIES ANALÍTICAS ESTUDADAS	24
1.4.1. TERC-BUTIL-HIDROQUINONA (TBHQ)	24
1.4.2. BUTIL-HIDRÓXI-ANISOL (BHA)	24
1.5. MÉTODOS DE ANÁLISE PARA ANTIOXIDANTES EM AMOSTRAS DE ÓLEO	25
1.6. DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DO TBHQ E DO BHA	26
1.7. ELETRODO DE FILMES DE DIAMANTE DOPADO COM BORO (EDDB)	28
1.8. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS UTILIZADAS NO TRABALHO	30
1.8.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC)	30
1.8.2. AMPEROMETRIA	33
1.9. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA (BIA – DO INGLÊS “ <i>BATCH-INJECTION-ANALYSIS</i> ”)	33
1.10. OBJETIVOS	37
CAPÍTULO 2 – PARTE EXPERIMENTAL	38
2.1. REAGENTES E SOLUÇÕES	39
2.2. PREPARO DAS AMOSTRAS DE BIODIESEL	39
2.3. INSTRUMENTAÇÃO	40
2.3.1. ELETRODOS DE TRABALHO	40
2.3.1.1. ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO (EDDB)	40
2.3.1.2. ELETRODO DE CARBONO VÍTREO (ECV)	40
2.3.2. ELETRODO DE REFERÊNCIA	41
2.3.3. ELETRODO AUXILIAR	41
2.3.4. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	41
2.3.5. CÉLULA ELETROQUÍMICA	42
CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	46
3.1. DETERMINAÇÃO DE BUTIL-HIDROXI-ANISOL (BHA) EM BIODIESEL POR	47

MEIO DA ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA COM DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA	
3.1.1. OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DO BHA – VOLTAMETRIA CÍCLICA E HIDRODINÂMICA	47
3.1.2. ESCOLHA DA COMPOSIÇÃO DO ELETRÓLITO HIDRO-ETANÓLICO	49
3.1.3. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DO BIA	51
3.1.4. REPETITIVIDADE DO MÉTODO	53
3.1.5. APLICAÇÃO DA AMOSTRA DE BIODIESEL E COMPARAÇÃO COM O HPLC	54
3.1.6. LIMITE DE DETECÇÃO	56
3.2. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE BHA E TBHQ EM BIODIESEL POR ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA COM DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA DE MÚLTIPLOS PULSOS	56
3.2.1. OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DO BHA E TBHQ – VOLTAMETRIA HIDRODINÂMICA	58
3.2.2. SELETIVIDADE	59
3.2.3. FATOR DE CORREÇÃO (FC)	60
3.2.4. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DO BIA	62
3.2.5. REPETITIVIDADE DE SINAIS	64
3.2.6. CURVAS DE CALIBRAÇÃO E ANÁLISE DE BIODIESEL	65
CAPÍTULO 4 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	69
CAPÍTULO 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
CAPÍTULO 6 – TRABALHOS REALIZADOS DURANTE O MESTRADO	80
6.1. PUBLICAÇÕES EM REVISTAS CIENTÍFICAS	81
6.2. TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS	81

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS DO TRABALHO

1.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Tendo-se a constatação do problema da baixa estabilidade do biodiesel à oxidação, uma alternativa para controlar tal problema é o uso de aditivos (antioxidantes) ao biocombustível para retardar estes processos oxidativos. Não havia (no início do projeto) trabalhos descrevendo a determinação destes antioxidantes em biodiesel, porém aplicadas a amostras de óleos comestíveis o que sugere a aplicabilidade de métodos eletroanalíticos para o estudo de antioxidantes no biocombustível [1-4].

Entretanto, alguns trabalhos foram desenvolvidos envolvendo a determinação de antioxidantes em biodiesel, análise de TBHQ utilizando voltametria de onda quadrada e linear [5, 6].

Atualmente não existem normas que regulamentem a quantidade adicionada de antioxidantes em biodiesel na indústria, o que demonstra a enorme relevância do trabalho.

Na norma alemã DIN EN 14214 consta que é recomendável a adição de agentes estabilizantes ao biodiesel puro (B100) a fim de garantir um maior tempo de prateleira ao produto, mas não especifica a concentração nem qual antioxidante deve ser adicionado.

A utilização de técnicas eletroanalíticas acopladas ao sistema BIA demonstraram resultados satisfatórios, como rapidez e custo das análises, sensibilidade, seletividade, repetibilidade, exatidão e precisão.

1.2. BIODIESEL

A busca por fontes alternativas e renováveis de energia vem despertando grande interesse no mundo inteiro. Dentre estas, o biodiesel é um candidato potencial à substituição do óleo diesel derivado de petróleo. No Brasil, a comercialização da mistura B5 (diesel com 5% de biodiesel) em postos de gasolina foi estabelecida por lei federal [7], a fim de reduzir as importações de óleo diesel. O uso da mistura B10 permitiria a substituição completa do óleo diesel importado pelo Brasil, fazendo que o Brasil independa da instabilidade do mercado de combustível relacionado à

disponibilidade limitada de petróleo. Além destas vantagens, o uso do biodiesel deve contribuir para a redução da poluição ambiental.

Nas grandes metrópoles e nos centros urbanos, compostos químicos em altas concentrações são emitidos para a atmosfera através de veículos automotores, indústrias, queimadas e outras fontes de poluição do ar.

No que diz respeito aos veículos movidos a fontes não-renováveis de energia, o biodiesel, um biocombustível renovável, também conhecido como diesel vegetal apresenta-se como uma possível solução para os atuais malefícios provocados pelo petróleo e seus derivados, reduzindo significativamente a emissão dos gases causadores do aquecimento global.

Biodiesel, de acordo com a definição adotada pelo Programa Brasileiro de Biodiesel, é “o combustível obtido de misturas, em diferentes proporções, de diesel fóssil e ésteres alquílicos de óleos vegetais ou gorduras animais”.

O biodiesel é produzido a partir da reação de transesterificação (Figura 1), que consiste na reação entre óleos vegetais (tais como de mamona, dendê, girassol, babaçu, amendoim, pinhão manso e soja), óleos residuais, ou gorduras animais com álcoois de cadeia curta, como o metanol, ou etanol, catalisado geralmente por bases, como por exemplo, NaOH ou KOH, resultando em compostos de mono-ésteres de alquila, da qual se extrai a glicerina como sub-produto [8].

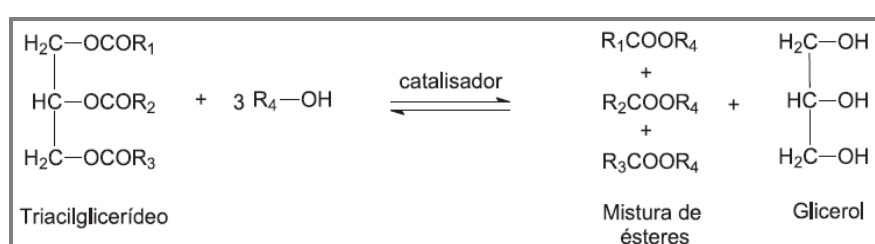


Figura 1: Reação de transesterificação para produção do biodiesel [9].

A utilização de óleos vegetais no Brasil tem um futuro promissor, uma vez que o Brasil é um dos maiores produtores mundiais de soja e possui grandes perspectivas para produção de outras sementes. Entre as varias oleaginosas que se têm conhecimento da literatura, as que apresentam um alto teor de óleo na semente são

favoráveis à produção de biodiesel. Dentre estas, pode-se destacar as sementes oleaginosas de soja, amendoim, girassol, babaçu, milho, canola, mamona e algodão [10].

A qualidade do biodiesel pode sofrer variações devido à composição química dos seus ésteres, devido à presença de contaminantes oriundos da matéria-prima, do processo de produção ou formados durante a estocagem. A absorção de umidade pode acelerar o processo de decomposição do biodiesel contribuindo para a formação de hidroperóxidos, ácidos carboxílicos de baixa massa molecular, além de moléculas de alto peso molecular formadas por reação de polimerização que levam ao aumento de viscosidade do biodiesel. Dessa maneira, é preciso realizar o controle de qualidade do biodiesel através do estabelecimento de padrões de qualidade com intuito de fixar teores limites de contaminantes no biocombustível [11].

Um ponto de desvantagem do biodiesel em relação ao óleo diesel de petróleo é sua baixa estabilidade oxidativa. A instabilidade do biodiesel é relacionada aos ácidos graxos insaturados provenientes das matérias-primas normalmente utilizadas (óleos vegetais e gordura animal) para a obtenção do biocombustível [12]. Processos de oxidação são acelerados pela absorção de umidade e pela presença de calor e luz. O resultado destes processos leva a mudanças das propriedades físico-químicas do biodiesel, tais como aumento de viscosidade, densidade e teor de polímero. Como consequência, gomas e sedimentos são formados dentro do motor ocasionando a obstrução de filtros e bicos injetores [12].

As medidas de estabilidade oxidativa são realizadas em um equipamento denominado Rancimat, seguindo as recomendações das normas européia, norte-americana e brasileira (Resolução N° 7 de 19/03/2008, pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, ANP) [13]. Neste método, a oxidação do biodiesel é induzida pela passagem de um fluxo de ar pela amostra que também é aquecida a 110°C. Os produtos voláteis gerados pelo processo de oxidação são carregados para um frasco contendo água deionizada. Através da medida de condutividade da água que é feita continuamente, obtém-se o tempo de indução (aumento súbito da condutividade). O tempo de indução mínimo estabelecido é de 6

horas, ou seja, uma amostra de biodiesel deve resistir à degradação oxidativa acelerada pelo equipamento por 6 horas para que esta atenda ao limite estabelecido [12].

A glicerina é obtida como o principal coproduto da reação de obtenção do biodiesel, mas outras moléculas (contaminantes) podem ser encontradas no biodiesel, como o álcool residual, catalisadores e ácidos graxos livres. Além disso, a água e traços de metais podem ser introduzidos no biodiesel durante a produção, estocagem ou manuseio. Estes dois acontecimentos estão relacionados com a deterioração do biocombustível, o que resulta em problemas operacionais e ambientais [14] e, por essa razão, a avaliação da qualidade biodiesel é de suma importância para a comercialização do biocombustível.

1.3. ANTIOXIDANTES

Do ponto de vista químico, os antioxidantes fenólicos são compostos aromáticos que contém no mínimo uma hidroxila, podendo ser sintético como o butil-hidróxi-anisol (BHA) e o butil-hidróxi-tolueno (BHT) amplamente utilizados pela indústria alimentícia, ou naturais, substâncias bioativas, tais como organossulfurados, fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos [15].

Os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos [15].

Os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos são o BHA, BHT, propil-galato (PG) e TBHQ. A estrutura fenólica destes compostos permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando, assim, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres. Entretanto, estes radicais podem se estabilizar sem promover ou propagar reações de oxidação [15].

O uso destes antioxidantes em alimentos é controlado. O TBHQ, por exemplo, não é permitido no Canadá e na Comunidade Econômica Européia. No Brasil, o consumo de antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde que limita em 200 mg/Kg para o BHA e o TBHQ, e 100 mg/Kg para o BHT, como concentrações máximas permitidas.

Para contornar o problema da baixa estabilidade oxidativa do biodiesel, recomenda-se a adição de antioxidantes sintéticos ao biodiesel. Alguns estudos [16] foram realizados buscando avaliar antioxidantes comumente utilizados na indústria de alimentos, como BHT, BHA e TBHQ.

A adição de antioxidantes em biodiesel produzidos apartir de óleo de girassol e animal, foi avaliada utilizando o Rancimat e uma concentração mínima de 300 mg kg⁻¹ de TBHQ no biodiesel foi considerado como condição ideal [17].

A escolha de qual(is) antioxidante(s) que poderá(ão) ser adicionado(s) em uma amostra considera a estabilidade deste(s) nas condições que a mesma será armazenada ou submetida (material do reservatório, exposição ao ar, temperatura, luz, água, microorganismos, etc.). Algumas propriedades de alguns dos principais compostos fenólicos são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Algumas propriedades físicas do TBHQ e do BHA [18].

	TBHQ	BHA
Fórmula molecular	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	C ₁₁ H ₁₆ O ₂
Massa molar*	166,22	180,24
Solubilidade em água	Levemente solúvel	Insolúvel
Solubilidade em etanol	Solúvel	Solúvel
Solubilidade em gordura	Solúvel	Solúvel

* Massa molar em g mol⁻¹

Em amostras oleosas como óleo vegetal e/ou biodiesel, os antioxidantes sintéticos (TBHQ e BHA) podem ser adicionados individualmente ou em conjunto, devido à combinação do potencial antioxidante de cada componente [15]. Estudos recentes indicaram que a adição concomitante de BHA e TBHQ ofereceram melhores resultados de estabilidade oxidativa para biodieseis do que a adição de apenas um único antioxidante [16, 19, 20].

1.4. ESPÉCIES ANALÍTICAS ESTUDADAS

1.4.1. TERC-BUTIL-HIDROQUINONA (TBHQ)

O TBHQ (fórmula estrutural apresentada na Figura 2) foi introduzido na década de 70 e aprovado como antioxidante alimentício em 1972. Ele é um pó cristalino branco e brilhante, de odor muito leve e ponto de ebulição na faixa de 125-126°C. O TBHQ é levemente solúvel a insolúvel em água e moderadamente solúvel em óleos e gorduras, não forma complexo com o ferro e com o cobre, e é conhecido por ser um bom antioxidante para óleos de fritura ou produtos [21].

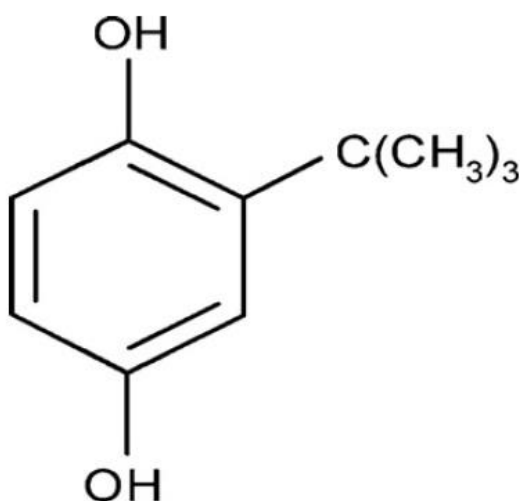


Figura 2. Fórmula estrutural do TBHQ [22].

1.4.2. BUTIL-HIDRÓXI-ANISOL (BHA)

O antioxidante BHA é a mistura de dois isômeros de nomes oficiais 2-terc-butil-4-hidroxianisol e 3-terc-butil-4-hidroxianisol, e apresentam fórmulas estruturais conforme ilustrado na Figura 3. É o antioxidante mais efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais do que em óleos vegetais. É solúvel em propilenoglicol, álcool e óleos. Apresenta baixa estabilidade térmica, mas, é particularmente efetivo no controle da oxidação de ácidos graxos de cadeia curta, como aqueles contidos em óleo de coco e palma [23].

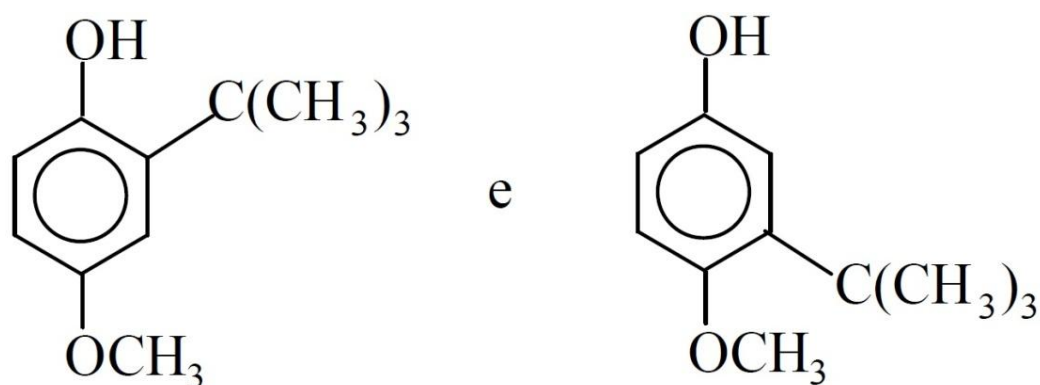


Figura 3. Fórmulas estruturais do BHA [24].

1.5. MÉTODOS DE ANÁLISE PARA ANTIOXIDANTES EM AMOSTRAS DE ÓLEO

Diversas metodologias analíticas já foram desenvolvidas para a determinação de antioxidantes em amostras oleosas, o que despertou o interesse desta dissertação de mestrado. A Tabela 2 apresenta um resumo das técnicas utilizadas.

Tabela 2. Lista de técnicas analíticas desenvolvidas visando à determinação de antioxidantes (BHA, BHT, TBHQ e PG) em amostras de óleo.

Técnica	Antioxidante (s)	Referência
<i>Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas</i>	BHA, BHT e TBHQ	[25]
<i>Cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama.</i>	BHA, BHT e TBHQ	[26]
Espectrofotometria	TBHQ	[27]
Cromatografia gasosa	TBHQ	[28]
Cromatografia líquida de alta eficiência	BHA e BHT	[29]

Cromatografia líquida de alta eficiência	BHA, BHT, TBHQ e PG	[30]
Infravermelho com transformada de Fourier	TBHQ	[31]
Espectrofotometria	BHA	[32]
Espectrofotometria	BHA	[33]
Cromatografia gasosa	BHA e BHT	[34]
Cromatografia gasosa	BHA e BHT	[35]
Cromatografia líquida de alta eficiência	BHA, BHT, TBHQ e PG	[36]
Eletroforese capilar	BHA e BHT	[37]

1.6. DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DO TBHQ E DO BHA

Estudos realizados [38] indicam que o processo de oxidação do TBHQ e do BHA ocorre de maneira semelhante, envolvendo dois elétrons e a formação de um mesmo composto intermediário (quinona). A Figura 4 ilustra o mecanismo de oxidação do BHA.

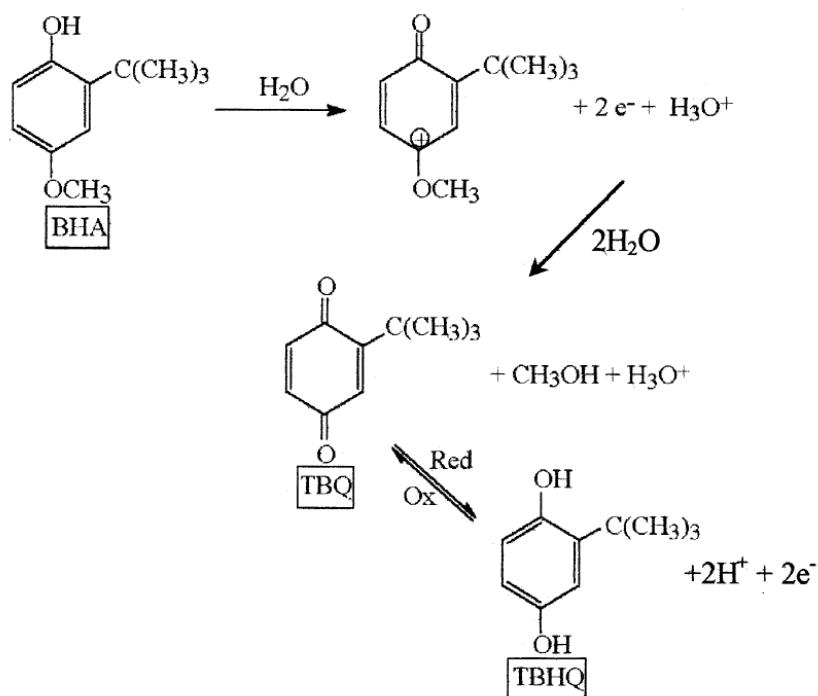


Figura 4. Mecanismo de oxidação eletroquímica do BHA [38].

A detecção eletroquímica de analitos em meio orgânico, tal como produtos à base de petróleo, amostras de óleo e biodiesel, é complexa por causa da alta resistência elétrica da matriz; assim, diferentes abordagens têm sido propostas para tais amostras [39-42]. Por exemplo, um método baseado na formação de microgotas de uma amostra orgânica no eletrodo de trabalho, que depois foi imerso em um eletrólito aquoso (interface água-óleo), tem sido mostrado para permitir detecção voltamétrica do aditivo metil-ciclopentadienil manganês tricarbonila (MMT) em querosene [43]. Além disto, o uso de um microeletrodo de ouro para executar voltametria em óleo foi reportado na literatura [40]. A análise potenciométrica de redissolução, que é menos suscetível à interferência de compostos orgânicos do que a voltametria [43], foi utilizada para a determinação direta de cobre em amostras de biodiesel [39].

Alguns métodos eletroanalíticos para a determinação de antioxidantes em biodiesel com mínima manipulação da amostra (somente diluição) foram reportados [22, 44, 45]. Voltametria com eletrodo gotejante de mercúrio [44] e eletrodo de pasta de carbono na presença de surfactantes [22] foram propostos para a determinação de

TBHQ em biodiesel. No entanto, o uso generalizado de eletrodos de mercúrio tem sido limitado por possuírem alta toxicidade [45]. Na literatura até o início do projeto, existia apenas um único método amperométrico usando eletrodo de carbono vítreo para a determinação de TBHQ em biodiesel que foi desenvolvido pelo próprio grupo de pesquisa (na Iniciação Científica), que serviu como base inicial para o desenvolvimento desta dissertação.

Sob nosso conhecimento, a determinação simultânea de dois antioxidantes foi possível somente usando técnicas voltamétricas [38, 46, 47] e exclusivamente aplicadas para amostras de alimento após uma etapa de preparo da amostra [4, 38, 46-49].

As técnicas eletroquímicas são capazes de fornecer limites de detecção excepcionalmente baixos e uma abundância de informações que caracterizam e descrevem eletroquimicamente determinados sistemas de análise. As metodologias eletroanalíticas ainda têm algumas vantagens sobre outros tipos de métodos, como a realização de medidas normalmente específicas para um estado de oxidação particular do elemento. Uma outra vantagem é que a instrumentação é relativamente barata quando comparada a outros equipamentos, por exemplo, espectroscopia e cromatografia. Essas vantagens levaram a um grande aumento da popularidade das eletroanálises [50].

1.7. ELETRODO DE FILMES DE DIAMANTE DOPADO COM BORO (EDDB)

O diamante é um polimorfo do carbono puro, cristaliza no sistema cúbico, geralmente em cristais com forma octaédrica (8 faces) ou hexaquisoctaédrica (48 faces), frequentemente com superfícies curvas, arredondadas, incolores ou coradas. É um material muito exótico e raro. Os diamantes de cor escura são pouco conhecidos e o seu valor como gema é menor devido ao seu aspecto pouco atrativo. É um material que possui propriedades únicas: densidade atômica, dureza, capacidade de isolamento elétrico, condutividade térmica e inércia química muito altas [51].

Ao longo das últimas décadas o interesse no desenvolvimento de sistemas de detecção de alta sensibilidade, seletividade e, fundamentalmente, estabilidade, tem

direcionado grande atenção às aplicações eletroquímicas e eletroanalíticas de eletrodos de diamante dopado com boro (EDDB) [51, 52].

Para a síntese do diamante artificial, dois métodos básicos foram desenvolvidos na década de 50, a deposição química a partir da fase de vapor (Chemical Vapor Deposition – CVD) e o crescimento a alta-pressão / alta temperatura (High-Pressure/High-Temperature-HPHT). Devido à viabilidade econômica, à versatilidade e ao manuseio simplificado, atualmente, o método CVD é o mais utilizado para síntese de filmes de diamante em série [53].

Quando um filme de diamante é apropriadamente dopado, ele adquire uma boa condutividade, passando a ser um excelente candidato como material de eletrodo [51, 54, 55]. Diferentes dopantes podem ser usados: boro, fósforo, enxofre ou nitrogênio, por exemplo. No caso do boro, o dopante mais utilizado, os filmes de diamante devem ser dopados com uma concentração de 1×10^{19} átomos cm^{-3} ou mais. Usualmente esta dopagem é feita durante o crescimento do filme; para este propósito, um composto volátil de boro é utilizado, por exemplo, trimetil-borato, que é adicionado à fase gasosa numa quantidade de 10-10000 ppm. A resistividade do diamante assim obtido depende da concentração de boro no filme, por exemplo, de $10^4 \Omega \text{ cm}$ para uma concentração de boro próxima a 10^{21} átomos cm^{-3} . Assim, as propriedades dos filmes de diamante variam sucessivamente desde as de material dielétrico às de semicondutor, semicondutor degenerado e, finalmente, semimetal, à medida que essa concentração aumenta [54].

Os eletrodos de filme de DDB apresentam melhores propriedades para aplicação em eletroquímica e eletroanalítica em relação a outras formas de carbono (grafite, carbono vítreo, carbono pirolítico, etc.), tais como: (1) baixa corrente capacitiva (corrente de fundo), (2) ampla janela de potencial em meio aquoso, (3) rápida cinética de transferência de elétrons em vários sistemas redox, (4) fraca adsorção molecular (baixa passivação) e (5) estabilidade dimensional e resistência à corrosão [56].

1.8. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS UTILIZADAS NO TRABALHO

1.8.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC)

As técnicas voltamétricas englobam um conjunto de técnicas eletroquímicas onde o controle do potencial é realizado no eletrodo de trabalho (ET). Para que este controle seja possível, uma diferença de potencial é aplicada entre o ET e um eletrodo de referência (ER) cujo potencial químico é conhecido e constante. O eletrodo mais importante, onde ocorre a reação de interesse, é o ET, que pode ser de diferentes materiais, tais como carbono, ouro, prata, cobre, platina, etc. (Figura 5). Para garantir que o potencial permaneça constante no eletrodo de referência durante as atividades experimentais, a corrente gerada pelo sistema flui entre os eletrodos de trabalho e auxiliar. Os três eletrodos são conectados a um potenciostato que aplica potenciais num intervalo pré-definido e faz a aquisição da corrente.

A Figura 5 ilustra uma célula eletroquímica típica para 3 eletrodos (ET, ER e EA), utilizada comumente na realização de experimentos por VC.

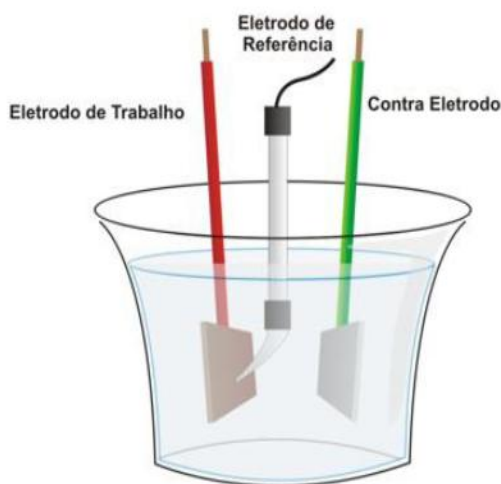


Figura 5. Esquema da célula eletroquímica de 3 eletrodos para realização de VC.

No esquema básico, o potencial é linearmente variado com o tempo, partindo de um valor inicial, até atingir um potencial final. Neste ponto, a varredura é invertida

até atingir novamente o potencial de partida. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente. A curva obtida (entre corrente x potencial) é denominada voltamograma. Um dos principais atributos, que conferem a popularização da VC, é a sua fácil utilização e versatilidade. Comumente, a VC é o experimento inicial de estudos que desejem avaliar o comportamento eletroquímico de um composto ou a superfície de um eletrodo [57], já que permite verificar o comportamento redox de um sistema em um intervalo de potencial. A Figura 6 ilustra de forma esquemática um experimento de voltametria cíclica.

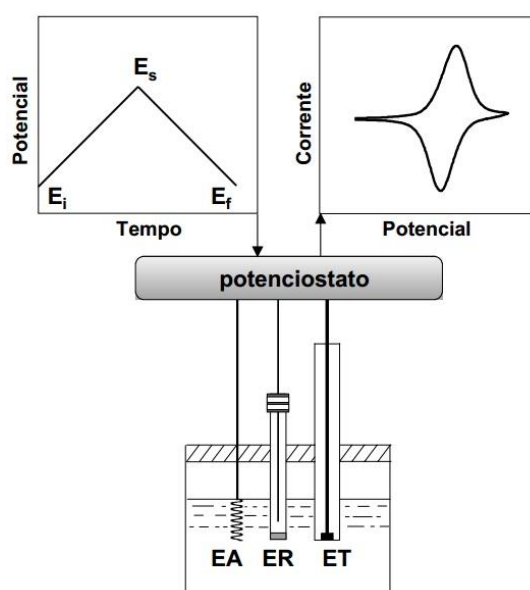


Figura 6. Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. E_i : potencial inicial; E_f : potencial final, E_s : potencial de inversão; ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar. [58]

A análise de voltamogramas cíclicos pode indicar em que região de potencial ocorre determinada reação de oxidação e/ou redução de compostos eletroativos (especialmente moléculas orgânicas), além de elucidar informações a respeito da reversibilidade destes compostos, da quantidade de elétrons envolvidos, da possível formação de espécies intermediárias e, se o sistema é governado por processos difusionais ou adsorptivos. Vale ressaltar, que a técnica permite tanto resultados qualitativos, quanto quantitativos acerca dos compostos de interesse.

1.8.2. AMPEROMETRIA

Um sensor amperométrico mede uma corrente a um potencial aplicado fixo, ou seja, para um ponto na curva de corrente e potencial [59]. A técnica denominada amperometria é normalmente empregada para complementar a voltametria cíclica na análise de mecanismos eletroquímicos. A amperometria se baseia na aplicação de um único degrau de potencial (Figura 7A), produzindo-se uma corrente que decai rapidamente com o tempo (Figura 7B).

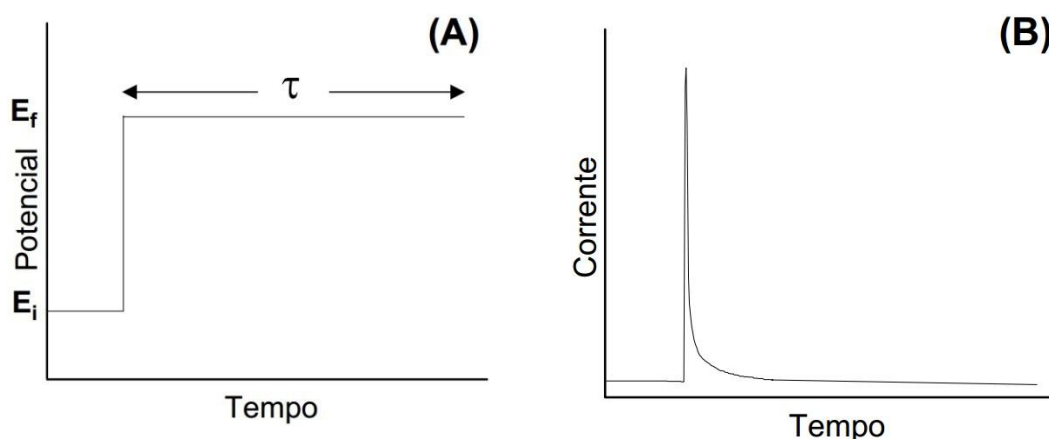


Figura 7. A) Perturbação aplicada, variando de E_i a E_f . **B)** resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial. [58]

A amperometria também é muito utilizada em eletroanálise, principalmente em aplicações envolvendo titulações amperométricas, sensores amperométricos e medições em fluxo. Quando associada a métodos de análise com alta velocidade, tais como FIA e BIA, esta técnica torna-se ainda mais atraente em eletroanalítica. Neste caso, as medidas são baseadas em picos de corrente em função do tempo, obtidas pela aplicação de um potencial constante ao eletrodo de trabalho. A diferença entre os sinais (valores de corrente) produzidos pelo analito e pelo eletrólito suporte é a medida de interesse, e deve ser proporcional à concentração do analito. A corrente causada pelo eletrólito suporte apresenta valor muito baixo, provindo de pequenas quantidades de impurezas. Para este tipo de trabalho, estudos prévios envolvendo técnicas de varredura de potencial são necessários a fim de selecionar o potencial de oxidação (ou redução) adequado à análise.

Uma das desvantagens/limitações de técnicas amperométricas é a baixa seletividade. Se a análise é realizada em potenciais extremos (positivos ou negativos), promove-se a oxidação ou a redução de todas as espécies que são eletroativas em potenciais abaixo do valor estabelecido. Portanto, é aconselhável empregar valores mínimos de potencial, mesmo quando esses não estão no máximo de corrente de oxidação/redução do analito.

Dentre as técnicas amperométricas, destaca-se a Amperometria de Múltiplos Pulsos (AMP), a qual consiste em aplicar pulsos de potencial em sequência e monitorar simultaneamente o sinal eletroquímico da espécie analítica nos diferentes pulsos de potencial. A aplicação de um pulso de potencial adicional, por exemplo, pode ser empregada para constante limpeza eletroquímica do eletrodo.

A AMP possibilita também a quantificação seletiva de dois compostos eletroativos presentes em uma mesma amostra [60, 61]. Um composto é diretamente detectado em um primeiro pulso de potencial (sem interferência da outra espécie). Em um segundo pulso de potencial (de maior intensidade), ambos os compostos presentes na amostra são oxidados e o segundo composto é detectado indiretamente (2º pulso . espécie).

A corrente amperométrica monitorada durante a aplicação de um pulso de E é governada por dois componentes de corrente, a saber: a corrente capacitiva, IC (referente ao carregamento da dupla camada elétrica quando um potencial é aplicado e não envolve a ocorrência de nenhuma reação química) e a corrente faradaica, IF (referente a processos eletroquímicos que ocorrem na interface eletrodo-solução) [62].

1.9. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA (BIA – DO INGLÊS “*BATCH-INJECTION-ANALYSIS*”)

As análises em campo tornaram-se essenciais na química analítica devido à crescente demanda por análises rápidas de um grande número de amostras (por vezes, em tempo real), e a diminuição dos custos e problemas associados ao transporte da amostra para o laboratório. Contudo, o desenvolvimento de sistemas automatizados, com alta velocidade e baixo custo de análises, aliados a ótima exatidão

e precisão cresceu conjuntamente à demanda por metodologias. Análises por Injeção em Fluxo (FIA) combinadas com detectores eletroquímicos oferecem alta velocidade, sensibilidade, seletividade, exatidão e precisão; e assim tem sido altamente empregada no desenvolvimento de métodos analíticos [63, 64]. Em FIA, a amostra é injetada em intervalos regulares, e transportada ao detector eletroquímico por um fluxo líquido contínuo transportador [63, 64].

As análises por injeção em batelada (BIA – do inglês “Batch injection analysis”) são uma alternativa atraente ao FIA para o desenvolvimento de métodos analíticos para fins de rotina [65]. A desvantagem associada à bomba e às válvulas do sistema FIA (especialmente quando solventes orgânicos são usados como transportador), e o resíduo gerado pelas soluções transportadoras é eliminado [66]. No entanto, apesar da simplicidade em comparação com o FIA, aplicação de BIA com detecção eletroquímica continua incomum [63, 66]. Uma possível explicação é a dificuldade de incluir etapas de preparação da amostra no sistema BIA, que é essencial para análise de matrizes complexas [67].

A técnica BIA foi divulgada pela primeira vez em 1991 através de um trabalho publicado por Wang e Taha [65]. Esta técnica é baseada na injeção de pequenos volumes do analito na superfície de um detector fixado a uma pequena distância a partir de uma ponta de uma pipeta [65]. As adições são feitas em uma célula eletroquímica contendo um grande volume de eletrólito suporte e inerte (célula BIA).

A Figura 8 apresenta um diagrama esquemático de uma célula BIA [58].

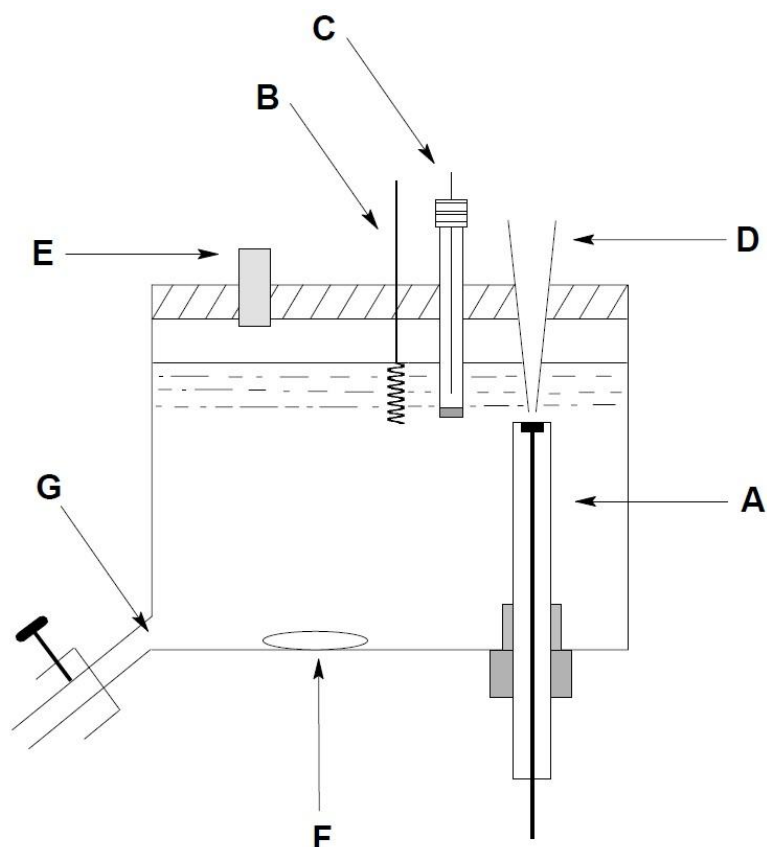


Figura 8. Diagrama esquemático da célula BIA [58]. **(A)** eletrodo de trabalho; **(B)** eletrodo auxiliar; **(C)** eletrodo de referência; **(D)** ponteira da micropipeta; **(E)** orifício para preenchimento da célula; **(F)** barra de agitação; **(G)** dreno.

Em uma célula do tipo BIA, o ET é posicionado no sentido oposto ao da injeção (Figura 8); esta é uma posição invertida em relação à normalmente utilizadas em células eletroquímicas. Para a injeção das soluções de análise pode ser utilizada uma micropipeta convencional ou micropipeta eletrônica [68]. Porém, com intuito de aplicação do método, a micropipeta eletrônica fornece maior precisão, pois as condições (volume e principalmente velocidade de injeção) são reguladas eletronicamente. Logo, operadores com pouca ou nenhuma experiência podem realizar as injeções ao sistema de forma reprodutível. A ponteira da micropipeta é acomodada em um orifício (localizado na tampa da célula) posicionado na direção exatamente oposta (frontal) ao ET, de modo que todas as injeções sejam feitas com distâncias idênticas entre a ponteira e a superfície do ET. O ET pode ser movido para cima ou para baixo, de modo a ajustar a melhor distância entre a superfície do eletrodo e a ponteira da micropipeta. Em outros dois orifícios localizados na tampa superior da célula são

fixados o ER e EA. Se necessário, pode ser inserida uma barra magnética para acelerar o transporte de massa no interior da célula. Por fim, é adicionada a solução do eletrólito suporte em volume suficiente para que os três eletrodos tenham contato elétrico entre si.

Utilizando a Figura 9, os conceitos de BIA podem ser explicados. Quando as soluções amostra e/ou padrão (na ordem de microlitros) são injetadas, formam uma zona que se dispersa a caminho do eletrodo, com transporte reprodutível e dispersão controlada em tempo e espaço. O sinal que se tem como resposta das injeções, tem forma de pico transiente, procedido de uma queda rápida do sinal até a linha de base. O decréscimo instantâneo é devido ao efeito de “limpeza” (*washing out*) da configuração do tipo *wall-jet* [66]. A magnitude da resposta é proporcional às concentrações das soluções injetadas. A Figura 9 apresenta as etapas descritas anteriormente para a aquisição do sinal.

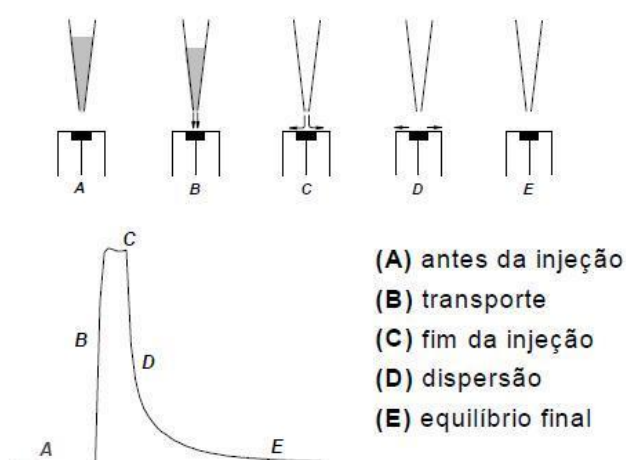


Figura 9. Etapas da aquisição do sinal transiente por BIA. [66]

Os resultados obtidos com êxito em BIA têm sido atribuídos a alguns fatores como o princípio hidrodinâmico da célula *wall-jet* e a alta diluição da amostra na solução inerte contida no interior da célula eletroquímica. As primeiras células desenvolvidas para o uso de BIA continham volumes relativamente grandes, de 250 a 700 mL, garantindo assim a alta diluição das amostras (volumes injetados na ordem de microlitros). Entretanto, tem sido demonstrado que o volume da célula pode ser reduzido (por exemplo, 100mL), sem comprometer o sucesso da análise, já que o

efeito de memória devido ao acúmulo das espécies de interesse não é observado [66]. As células de volumes menores, por exemplo 100mL, além de serem mais fáceis de manusear e adaptar para análises em campo, mantém as mesmas características daquelas de grandes volumes, tais como precisão, simplicidade e alta frequência de análise.

1.10. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é desenvolver procedimentos eletroanalíticos para a determinação de antioxidantes fenólicos em biodiesel empregando um sistema BIA com potencial para análises em campo.

De forma mais detalhada este objetivo pode ser dividido em:

- Pesquisar as potencialidades e limitações do eletrodo de diamante dopado com boro nas determinações dos antioxidantes sintéticos;
- Avaliação das técnicas amperométricas associadas ao sistema BIA para a determinação de antioxidantes em soluções aquosas e hidroetanólicas;
- Avaliação de métodos de preparo de amostras de biodiesel visando à determinação amperométrica de antioxidantes no sistema BIA;
- Desenvolvimento de um procedimento amperométrico para a determinação simultânea dos antioxidantes TBHQ e BHA em biodiesel no sistema BIA;
- Comparação dos resultados obtidos pelos métodos propostos com métodos analíticos comparativos.

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (PA), e todas as soluções foram preparadas em água deionizada de alta pureza ($R \geq 18 \text{ M}\Omega\text{cm}$) obtida de um sistema de purificação de água Milli Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

Ácido perclórico concentrado (70%, m/v), ácido acético (65%, m/v), ácido fosfórico (85%, m/v), ácido sulfúrico (85%, m/v), acetato de sódio, e nitrato de potássio foram obtidos da Vetec (*Rio de Janeiro, Brasil*) e usados sem purificação adicional. Os analitos (BHA) (98,5%, m/m) e (TBHQ) (98,0%, m/m) foram comprados respectivamente da Synth (*Diadema, Brasil*) e Acros Organics (*EUA*). Metanol, etanol e acetonitrila grau cromatográfico foram comprados da Merck (*Darmstadt, Alemanha*). Soluções padrão de BHA ou de misturas de BHA e TBHQ foram preparadas a partir de uma solução estoque de 54 g L^{-1} de BHA ou de uma mistura de BHA e TBHQ (também 54 g L^{-1} de cada), ambas preparadas em etanol. As soluções analíticas usadas para a construção das curvas de calibração foram preparadas em solução hidroetanólica 50% (v/v) contendo HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (mesma solução usada como eletrólito suporte). O álcool utilizado no preparo das soluções (padrão, amostra e eletrólito) foi o etanol devido a sua menor toxicidade em relação a outros alcoóis como o metanol.

2.2. PREPARO DAS AMOSTRAS DE BIODIESEL

As amostras de biodiesel foram obtidas da empresa *Caramuru* (Itumbiara-GO/Brasil) e foram produzidas a partir de óleo de soja via transesterificação metílica.

As amostras foram dopadas com BHA ou com uma mistura de BHA e TBHQ a partir de soluções estoques preparadas em etanol (54 g L^{-1}).

Para a determinação de BHA (primeira parte da dissertação), as amostras dopadas foram diluídas de 10 a 1000 vezes (de acordo com a concentração de BHA na amostra) em solução hidroetanólica 50% (v/v) contendo HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (mesma solução usada como eletrólito suporte, mantendo as proporções constantes durante as análises). Para a determinação simultânea de BHA e TBHQ (segunda parte da dissertação), as amostras de biodiesel foram diluídas 40 vezes em etanol e

posteriormente de 25 a 100 vezes (de acordo com a concentração de BHA e TBHQ nas amostras) em solução hidroetanólica 50% (v/v) contendo HClO_4 0,1 mol L^{-1} .

2.3. INSTRUMENTAÇÃO

2.3.1. ELETRODOS DE TRABALHO

2.3.1.1. ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO (EDDB)

Utilizou-se como um dos eletrodos de trabalho o eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB). As peças de diamante dopado com boro foram adquiridas da empresa Adamant Technologies AS (La Chaux-de-Fonds, Suíça). Segundo especificações do fabricante, estas placas possuem uma base de silício cristalino de 1 cm de espessura (0,7 x 0,7 cm) coberta com uma camada de BDD de 1,2 μm (8000 ppm de dopagem com boro).

Neste trabalho, dois tipos de limpezas/ativações eletroquímica foram empregadas, a anódica e a catódica. Inicialmente, a ativação anódica era realizada com a aplicação de um potencial de +2,0 V no EDDB durante 1000 s em meio de ácido sulfúrico 0,5 mol L^{-1} . Posteriormente, aplicou-se uma corrente de - 0,01 μA por 1000 s (ativação catódica) ao EDDB (H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}) para a funcionalização da superfície com grupos hidrogênio terminal, tal como descrito em trabalhos anteriores [69]. O procedimento catódico foi realizado diariamente antes do início dos trabalhos. O anódico somente quando limpezas mais extremas eram necessárias. Porém, é importante salientar que após uma limpeza anódica, a catódica se faz necessária (funcionalização da superfície com grupos hidrogênio terminais).

2.3.1.2. ELETRODO DE CARBONO VÍTREO (ECV)

O ECV utilizado nas medidas voltamétricas e amperométricas com diâmetro de 1,5 mm foi adquirido da empresa *CH instrument* (Austin, TX, USA).

A limpeza deste eletrodo foi feita manualmente, com o uso de alumina (granulometria 0,3 μm). O eletrodo foi enxaguado exaustivamente com água deionizada e posteriormente levado ao ultrassom imerso em uma solução com 50% de água deionizada e 50% de etanol por aproximadamente 30 min, com intuito de retirada de resíduos de alumina.

A análise de superfície de resposta do eletrodo e a ativação do mesmo foram realizadas a partir de voltamogramas cíclicos sucessivos em meio do eletrólito de interesse (até verificação da estabilidade), na faixa de potencial de -0,8 a +1,5V e velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

2.3.2. ELETRODO DE REFERÊNCIA

Utilizou-se em todos os experimentos, um mini eletrodo de referência Ag/AgCl ($\text{KCl}_{\text{sat.}}$), [70] preparado no próprio laboratório pela eletrodeposição de AgCl em um fio de Ag através da eletrólise de uma solução aquosa de HCl 0,10 mol L^{-1} , sob corrente constante de 0,2 mA, durante 2 h, utilizando o Potenciostato/Galvanostato da Autolab modelo $\mu\text{AUTOLAB}$ tipo III.

2.3.3. ELETRODO AUXILIAR

Como eletrodo auxiliar, um fio de Platina foi utilizado imobilizado em uma ponteira de micropipeta.

2.3.4. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

A Figura 10 ilustra os equipamentos básicos utilizados para a realização das medidas analíticas.

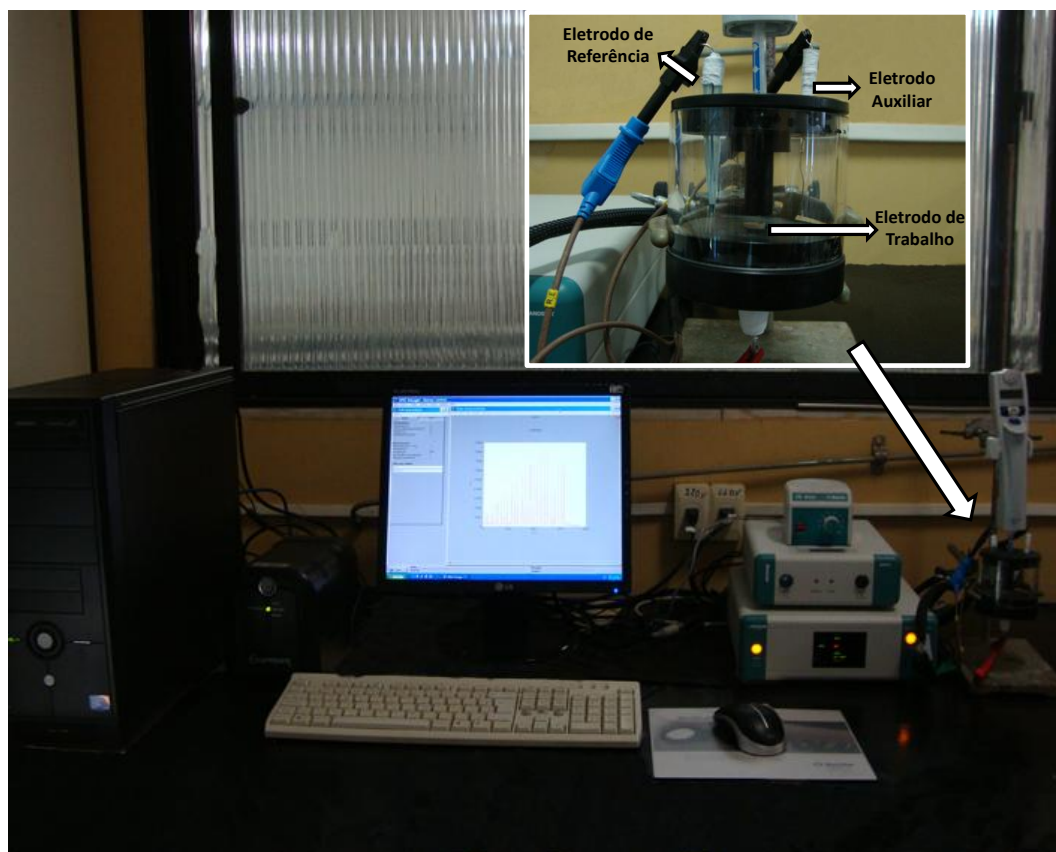


Figura 10. Foto ilustrativa do sistema de análise por injeção em batelada associado a um potenciostato acoplado a um computador. Em destaque: célula eletroquímica onde são indicados os três eletrodos, sendo a amostra injetada na parte superior da célula através da pipeta automática frontalmente à superfície do eletrodo de trabalho.

Utilizou-se um potenciostato μ Autolab Type III interfaceado a um microcomputador. Para o controle do equipamento foi utilizado o software GPES, versão 4.9. As medidas foram obtidas através das técnicas de voltametria e amperometria.

2.3.5. CÉLULA ELETROQUÍMICA

Uma célula para as análises pelo sistema BIA foi projetada (Figura 11) baseada em uma célula descrita na literatura [71]. A célula BIA possui um volume interno de 180 mL, e consiste de um cilindro de vidro (diâmetro interno = 7 cm) e duas tampas de polietileno, que foram firmemente fixadas no topo e na base do cilindro. A tampa

superior contém 3 orifícios para os eletrodos auxiliar (CE, fio de platina, na Fig. 10A) e referência (RE, Ag/AgCl, na Fig. 10A) e para a ponteira da micropipeta (ponteira de 1 mL Combitip[®] em forma de seringa). A ponteira da micropipeta (com um diâmetro regular externo = 6,0 mm) foi firmemente introduzida no orifício (diâmetro = 6,1 mm) no centro da tampa de tal forma que o procedimento de injeção foi altamente reprodutível. A cobertura inferior da célula continha um único orifício (que também foi localizado no centro da tampa) em que o eletrodo de trabalho de DDB (WE na Fig. 10A) foi inserido. A área do eletrodo foi delimitada por um O-ring (0,50 cm²) resistente a solventes orgânicos [72]. O contato elétrico foi feito com uma placa de cobre posicionada por baixo do EDDB. Nesta disposição, a ponteira da micropipeta ficou aproximadamente a 2 mm (distância otimizada em trabalho publicado anteriormente [66]) da superfície do eletrodo de trabalho em uma configuração *wall-jet*. As injeções foram realizadas com uma pipeta eletrônica (Eppendorf[®] Multipipette stream) que permite injeções de 10 a 1000 µL a uma velocidade programável de 28 a 250 µL s⁻¹.

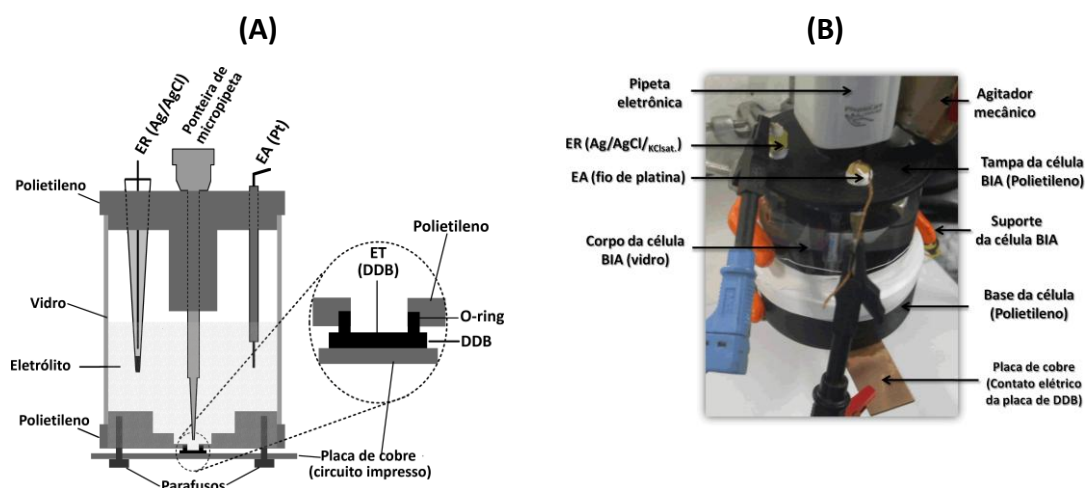


Figura 11. A) Esquema da célula BIA (quantificação de BHA). Volume total da célula: 180 mL; **B)** Imagem em perspectiva da célula (*Esquema BIA 1*).

A Figura 12 ilustra os componentes individuais para a construção da célula BIA para EDDB.

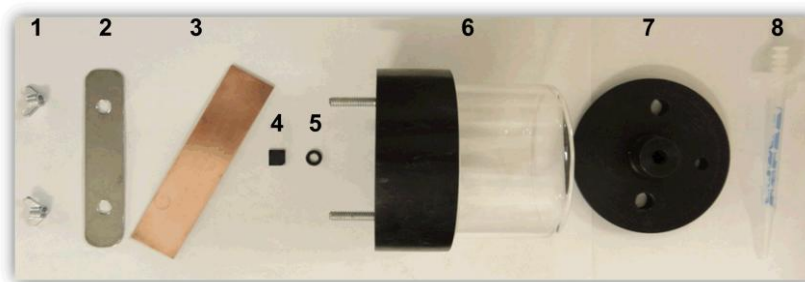


Figura 12. Vista dos componentes individuais da célula BIA: **(1)** Borboletas (porcas) para fixação nos parafusos imobilizados na base da célula; **(2)** placa metálica de reforço; **(3)** placa de circuito impresso de cobre; **(4)** placa de DDB (0,7 x 0,7 cm); **(5)** anel de borracha “o-ring” ($\varnothing_{\text{interno}} = 8 \text{ mm}$); **(6)** tubo de vidro inserido em polietileno; **(7)** tampa da célula **(8)**, ponteira da micropipeta eletrônica (1,0 mL).

Uma segunda célula BIA foi construída muito semelhante à primeira, para a substituição do EDDB pelo eletrodo de carbono vítreo (ECV) como eletrodo de trabalho. A célula BIA apresentada na Figura 13 foi utilizada nos experimentos para a determinação simultânea de BHA e TBHQ.

O corpo da célula BIA era de vidro ($H = 7,1 \text{ cm}$; $\varnothing_i = 7,3 \text{ cm}$), com capacidade total de eletrólito de aproximadamente 200 mL. Cilindros rígidos de PVC ($\varnothing_i = 7,2 \text{ cm}$, $H = 1,5 \text{ cm}$) foram empregados como tampa e base da célula. A tampa da célula continha três orifícios: um deles central (6,0 mm), para a inserção da ponteira da micropipeta eletrônica, e os outros dois (laterais) para o posicionamento do ER ($\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat.}}$) e do EA (fio de Pt). Já na base da célula foi feito um orifício de aproximadamente 11,5 mm de diâmetro exatamente no centro para o encaixe do ET, que é inserido em posição invertida à usual. A extremidade da ponteira da pipeta foi mantida em distância fixa de 2,0 mm da superfície do ET, como na célula anterior.

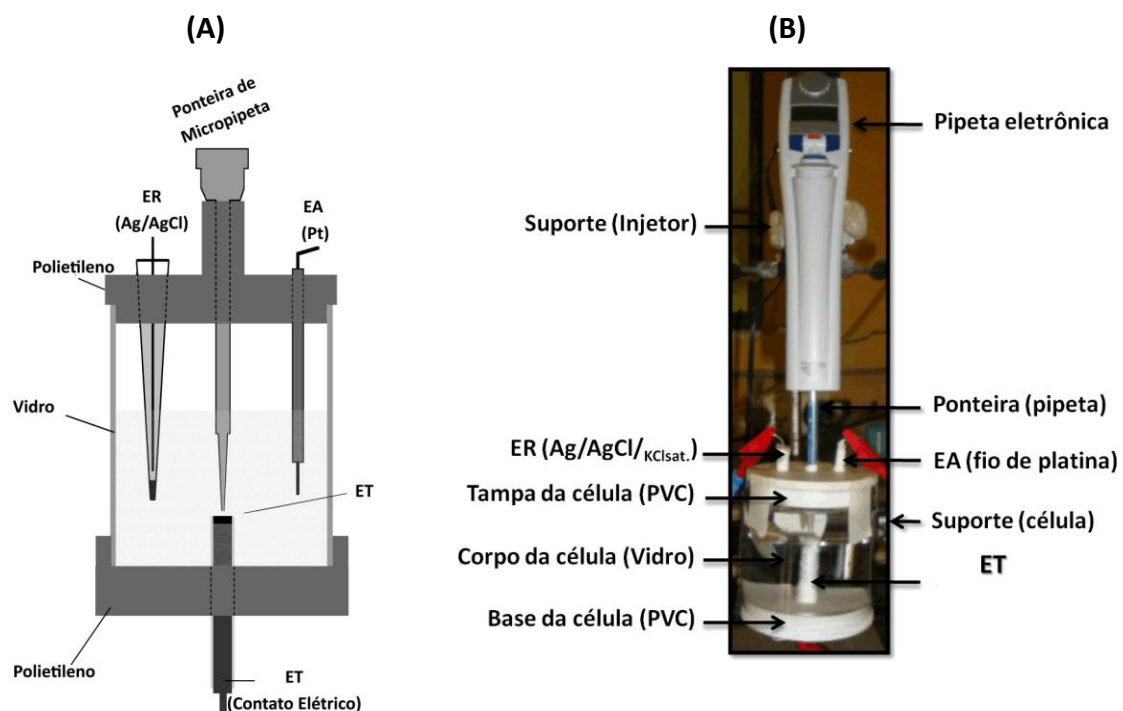


Figura 13. A) Esquema da célula utilizada nas análises em BIA para a análise simultânea de BHA e TBHQ. Volume total da célula: 180 mL. **B)** Imagem em perspectiva da célula durante as medidas eletroquímicas (*Esquema BIA 2*).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.3. DETERMINAÇÃO DE BUTIL-HIDROXI-ANISOL (BHA) EM BIODIESEL POR MEIO DA ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA COM DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA

3.1.1. OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DO BHA – VOLTAMETRIA CÍCLICA E HIDRODINÂMICA

Em experimentos preliminares, a oxidação eletroquímica do BHA foi investigada por voltametria cíclica em soluções tampão fosfato, tampão acetato e ácido perclórico, e todas estas com 50% (v/v) de etanol. A solução eletrolítica que forneceu maior sinal analítico foi a solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com etanol 50% (v/v). A Figura 14 apresenta o voltamograma obtido por uma solução de BHA 1 mmol L^{-1} , utilizando EDDB e HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito.

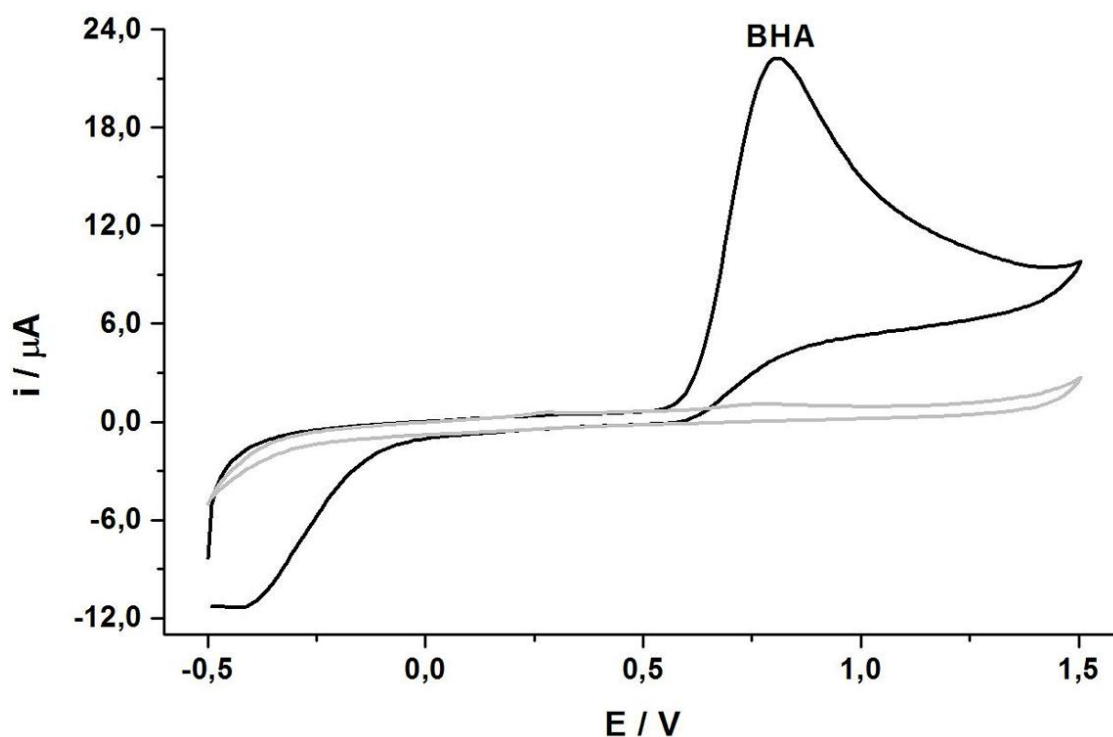


Figura 14. Voltamograma obtido para soluções de BHA (1 mmol L^{-1}). Eletrólito: HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} . Faixa de trabalho: $-0,5$ a $1,5 \text{ V}$. ET: EDDB. Ciclo: 1.

Estes resultados estão de acordo com estudos prévios da eletroquímica de antioxidantes fenólicos usando diferentes materiais (carbono vítreo e EDDB), em que o meio ácido forneceu o melhor desempenho para oxidação eletroquímica [4, 46, 48].

A oxidação eletroquímica envolve um processo de dois elétrons gerando terc-butil-hidroquinona [38, 47, 49]. Este processo foi investigado em eletrodos DDB e foi encontrado que o processo do eletrodo é controlado por transporte de massa [47, 49]. Adição de metanol ou etanol à composição do eletrólito foi necessário para dissolver os antioxidantes fenólicos. Embora muitos estudos reportem o uso de metanol na composição de seus eletrólitos, neste trabalho o etanol foi selecionado devido sua menor toxicidade.

Um voltamograma hidrodinâmico, na faixa de potencial que abrange a oxidação eletroquímica do BHA, foi obtido por amperometria de múltiplos pulsos (usando o sistema BIA). Uma sequência de dez pulsos de potenciais por 70 ms cada (0,70; 0,80; 0,90; 1,00; 1,10; 1,20; 1,30; 1,40; 1,50 e 1,60 V) foi aplicado continuamente (como ilustrado na Figura 15A). A corrente de cada potencial foi monitorada continuamente durante 3 injeções de $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA pelo sistema BIA (Figura 15B). A respectiva corrente de pico para cada pulso de potencial foi medida e usada para construir um voltamograma hidrodinâmico para a oxidação eletroquímica do BHA (Figura 15C).

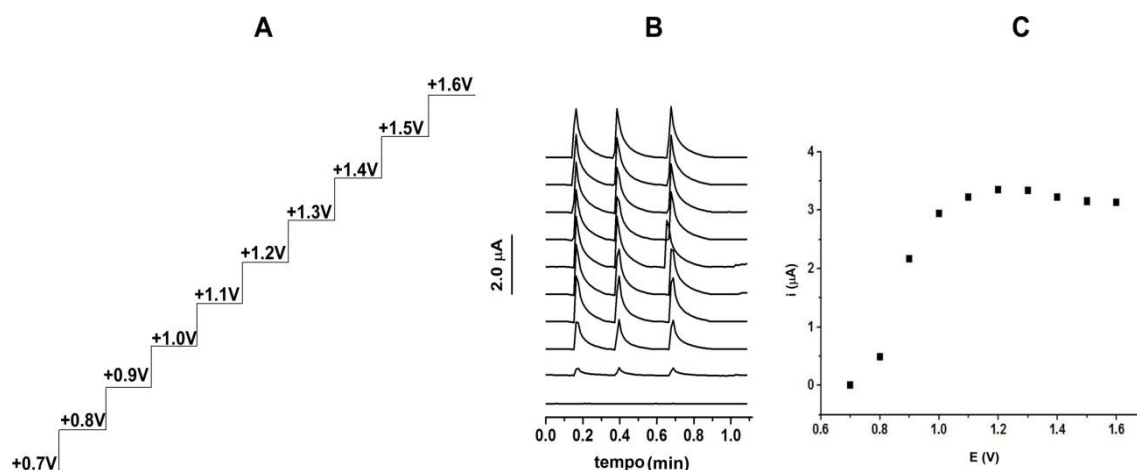


Figura 15. **A)** Esquema da aplicação da sequência de pulsos pela Amperometria de múltiplos pulsos (AMP) em eletrodo de trabalho (DDB); **B)** Registros obtidos por BIA-AMP para 3 injeções sucessivas de 100 µL de uma solução de 75 µmol L⁻¹ de BHA; **C)** Voltamograma hidrodinâmico resultante dos valores de corrente de pico (média de 3 injeções) em função do pulso de potencial aplicado. Tempo do pulso de potencial: 70 ms cada. Eletrólito: 50% (v/v) água-etanol com 0,1 mol L⁻¹ de HClO₄.

A partir da análise do voltamograma hidrodinâmico apresentado, o potencial de 1,0 V foi selecionado para posteriores medidas amperométricas visando à oxidação eletroquímica do BHA. Pulsos de potenciais superiores à 1,0 V aumentaram significativamente a corrente de fundo e diminuíram a repetitividade dos sinais.

3.1.2. ESCOLHA DA COMPOSIÇÃO DO ELETRÓLITO HIDRO-ETANÓLICO

O objetivo inicial deste trabalho foi a injeção direta de uma alíquota de biodiesel dopado com BHA, sem prévia diluição ou adição de eletrólito, através da ponteira da micropipeta ao eletrodo DDB imerso no eletrólito, resultando em um valor de corrente (em 1,0 V) proporcional à concentração de BHA. As primeiras injeções de alíquotas de biodiesel dopadas com BHA (com concentração de 30 µmol L⁻¹) ao sistema BIA relevaram que a corrente da linha base não foi afetada, e picos de corrente relacionados à oxidação eletroquímica de BHA foram observados. No entanto, os valores de altura dos picos do BHA foram consideravelmente menores (cerca de 30 vezes, sinal comparável ao ruído) em relação às soluções padrão de BHA. Para estes experimentos, os três eletrodos foram imersos no sistema com eletrólitos hidroetanólicos com diferentes concentrações de etanol (30, 50 e 70% v/v soluções

etanol-água, mantendo a concentração de HClO_4 constante a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e as soluções padrão de BHA foram preparadas nos mesmos eletrólitos.

Brett et al. [73] sugeriram o uso de BIA com detecção amperométrica para análises de amostras sem pré-adição de eletrólito, baseado em resultados para injeções de soluções padrão de ferrocianeto sem eletrólito. Em contraste, Gunasingham et al. [74] relataram uma diminuição de 10 vezes na altura do pico (sensibilidade) durante a detecção amperométrica de estrogênios por HPLC com fase normal, usando uma célula *wall-jet* de grande volume (análogo ao sistema BIA), sendo que não foi adicionado eletrólito suporte ao eluente (fase móvel). Este resultado foi atribuído ao aumento da queda ohmica entre os eletrodos de trabalho e referência. Gunasingham et. al. [74] também verificaram que a composição dos solventes (quantidades crescentes de hexano em um eluente etanol-hexano) afetou a resposta de corrente mais do que a concentração do eletrólito [74]. Portanto, os resultados preliminares para injeções de alíquotas de biodiesel dopadas com BHA sem adição de eletrólito estão de acordo com Gunasingham et. al. [74] e, a baixa constante dielétrica do biodiesel pode ser responsável pela obtenção de sinais pouco intensos (30 vezes menores).

Com base nestes resultados, a próxima etapa foi o teste de diluição da amostra de biodiesel no eletrólito hidro-etanólico antes da injeção ao sistema BIA. Uma amostra de biodiesel dopada com BHA foi diluída 10 vezes (obtendo a concentração final de BHA após diluição de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$) em diferentes composições de eletrólito: solução etanol-água 30, 50 e 70% (v/v) que continha HClO_4 com concentração constante de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Para todas as composições testadas, foi observada a formação de uma mistura de fase única de água-etanol-biodiesel (micro-emulsão). O sistema de três eletrodos foi imerso na célula BIA contendo o mesmo eletrólito em que as amostras foram diluídas, respectivamente para cada teste (30, 50 e 70%). Os melhores resultados foram obtidos para a solução água-etanol 50% (v/v), cujos valores de recuperação se situaram entre 93 e 101% (valores de recuperação foram calculados usando respostas de corrente obtidas para soluções padrão de BHA $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ preparadas no mesmo eletrólito). Valores mais baixos de recuperação ($< 40\%$) foram obtidos para a composição contendo menos etanol (30% v/v). As medidas feitas na

solução água-etanol (70% v/v) proporcionou uma recuperação aceitável (95-105%), entretanto a corrente de linha de base foi instável e ruidosa. Além disso, o sinal analítico obtido nestas condições foi afetado significativamente, sendo observada uma resposta amperométrica do BHA com valor de corrente 50% menor em comparação às correntes obtidas em solução etanol-água 50% (v/v) para a mesma concentração de BHA.

Além da diferença da constante dielétrica reportada por Gunasingham et. al. [74], o que possivelmente torna necessária a diluição prévia da amostra de biodiesel (mínima diluição necessária de 10 vezes em solução hidroetanólica) é que o tempo entre a injeção da amostra pelo sistema BIA e a chegada do analito ao detector eletroquímico é muito pequeno. Dessa maneira, provavelmente a molécula de BHA presente na amostra chega à superfície do eletrodo solvatada por moléculas hidrofóbicas de biodiesel. A oxidação eletroquímica da molécula de BHA neste meio de baixa constante dielétrica não é favorecida, o que faz com que se obtenham sinais de corrente de pouca intensidade. A diluição prévia da amostra de biodiesel no meio hidroetanólico deve permitir com que moléculas de BHA sejam solvatadas por moléculas de etanol (maior afinidade), que por sua vez, estarão solvatadas por moléculas de água contendo eletrólito.

3.1.3. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DO BIA

Após a seleção da composição do eletrólito hidroetanólico, parâmetros do BIA tais como velocidade de injeção da pipeta programável e volume injetado foram avaliados. A velocidade de injeção de $160 \mu\text{L s}^{-1}$ proporcionou a maior resposta de corrente com boa repetitividade de injeção; baixa repetitividade foi observada para maiores velocidades de injeção (Figura 16). O volume ótimo injetado para o sistema BIA foi de $100 \mu\text{L}$, que proporcionou maior sinal analítico (Figura 16). A corrente de pico cresceu significativamente com o aumento do volume de injeção, de 20 a $80 \mu\text{L}$, e atingiu o valor máximo em $100 \mu\text{L}$.

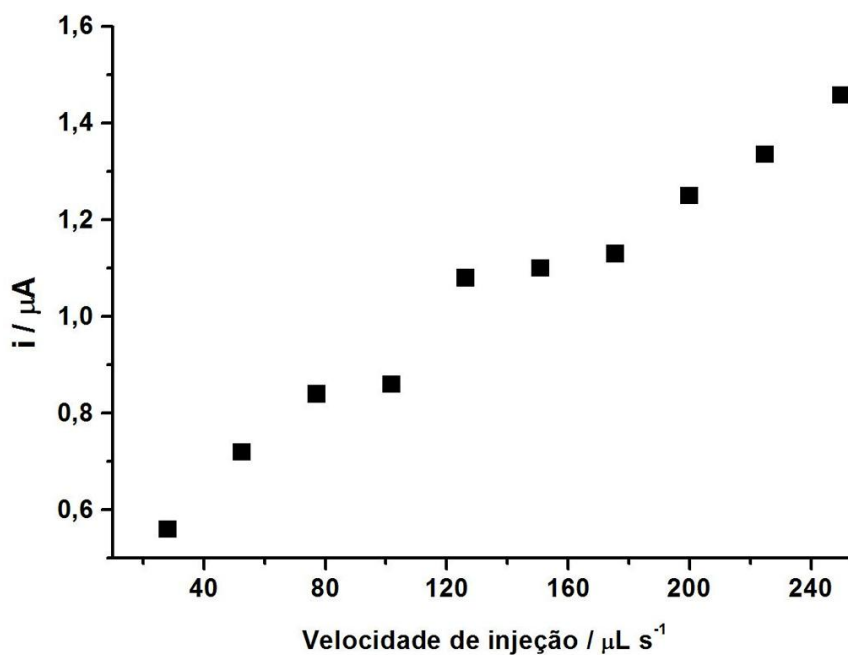


Figura 16. Estudo do efeito da velocidade de injeção para uma solução contendo 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA ($n=3$). Potencial: 1,0 V; eletrólito suporte: solução hidroetanólica 50% (v/v) com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; volume injetado: 100 μL .

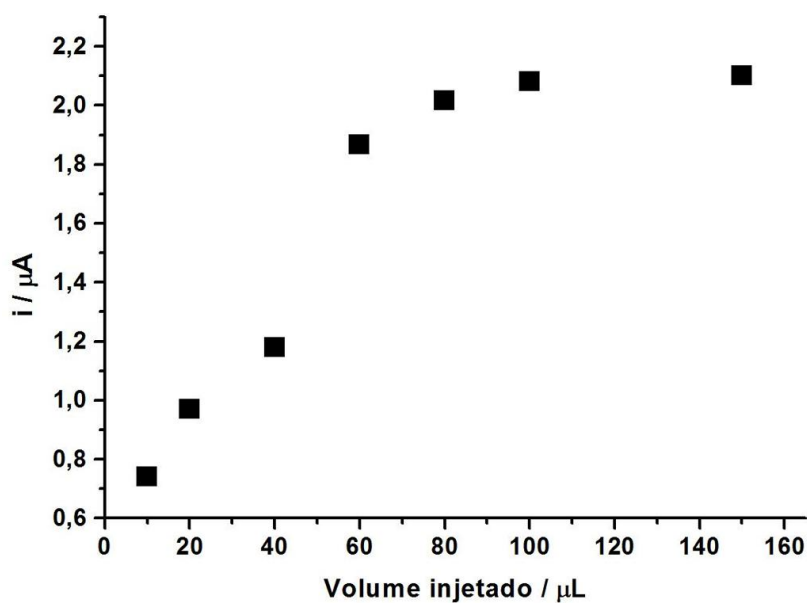


Figura 17. Estudo do efeito da variação do volume de injeção para uma solução contendo BHA 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n=3$). Potencial: 1,0 V; eletrólito suporte: solução hidroetanólica 50% (v/v) com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; velocidade de injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$.

3.1.4. REPETITIVIDADE DO MÉTODO

Para avaliar a precisão do método proposto para quantificar o BHA, um estudo de repetitividade foi conduzido. A Figura 18 apresenta uma série de 20 injeções sucessivas de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA, sendo estimada uma frequência analítica de 120 h^{-1} neste amperograma. O desvio padrão relativo (DPR) foi de 0,29%. Valores baixos de DPR são normalmente obtidos utilizando sistemas BIA [64, 66]. Em condições ótimas, a faixa de resposta linear foi de 0,5 a $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA com o coeficiente de correlação de 0,996.

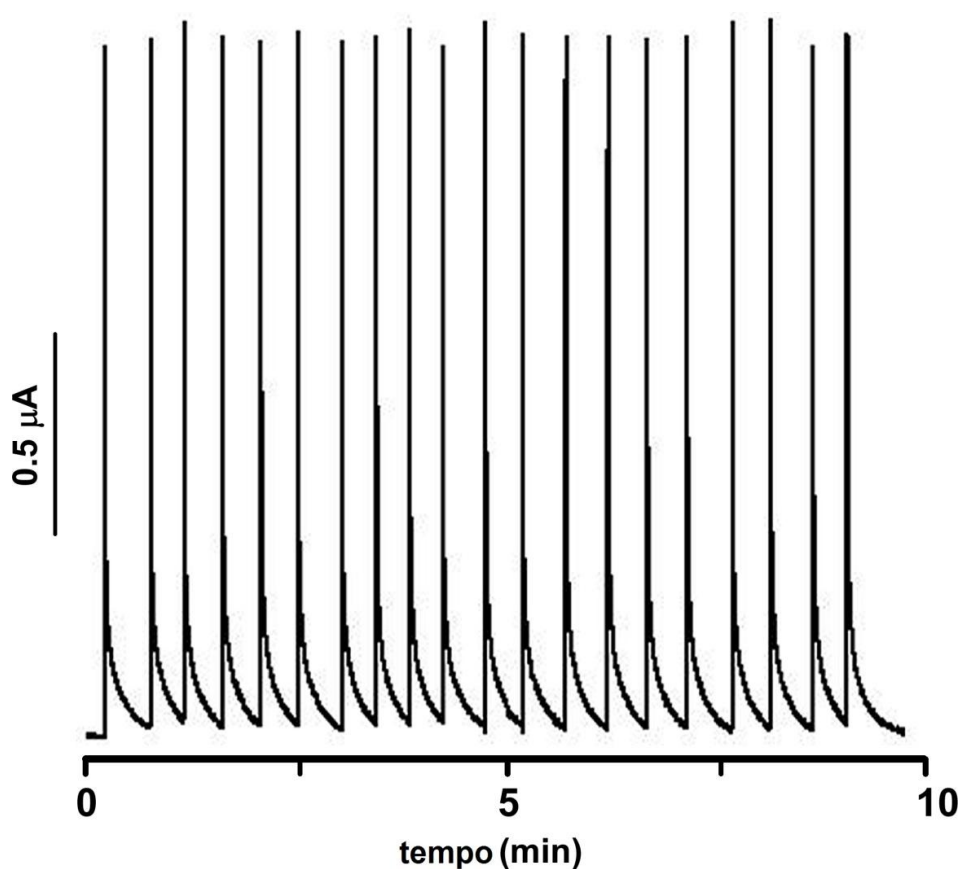


Figura 18. Respostas amperométricas obtidas por injeções sucessivas de uma solução contendo $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA ($n=20$). Potencial de trabalho: 1,0 V. Volume injetado: $100 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $160 \mu\text{L s}^{-1}$; eletrólito: 50% (v/v) água-etanol com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 .

3.1.5. APLICAÇÃO DA AMOSTRA DE BIODIESEL E COMPARAÇÃO COM O HPLC

O método proposto por BIA com detecção amperométrica foi aplicado para determinação de BHA em amostras de biodiesel, usando as condições otimizadas descritas. A Figura 19A apresenta respostas amperométricas registradas com potencial constante em 1,0 V para injeções de 100 μL (em triplicata) de soluções contendo concentrações crescentes e decrescentes de BHA (a – e: 10 – 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e de quatro amostras de biodiesel (previamente diluídas). A respectiva curva de calibração é também apresentada (Fig. 18B). Este experimento foi realizado em solução água-etanol (50% v/v) com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 . Note que concentrações típicas de antioxidantes adicionados ao biodiesel são altas, por volta de 300 mg kg^{-1} [16], permitindo, portanto, grande diluição da amostra (amostras foram diluídas 100 vezes em etanol e depois diluídas 10 vezes no eletrólito antes das injeções). Para comparação, amostras de biodiesel também foram analisadas por HPLC. Resultados estão apresentados na Tabela 1.

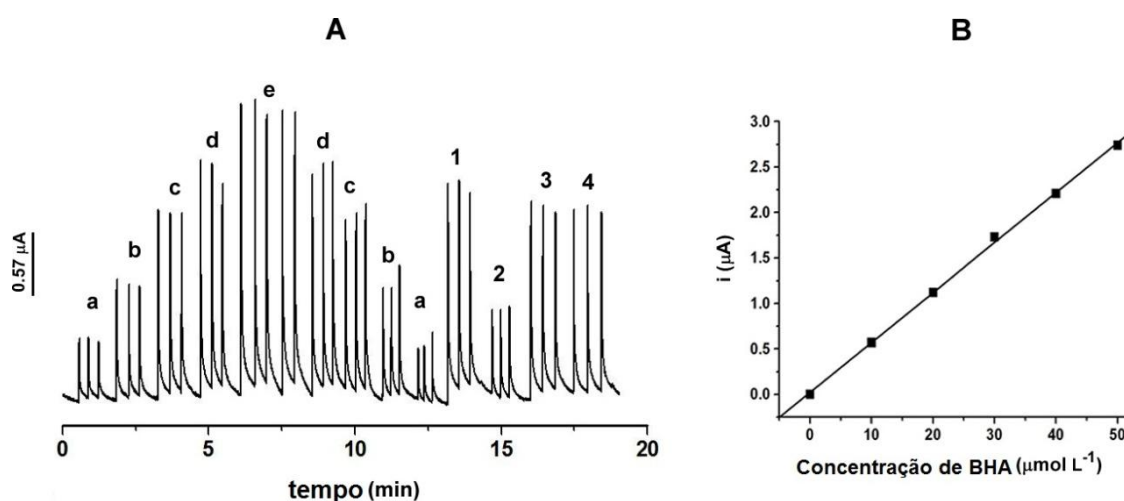


Figura 19: A) BIA: respostas amperométricas obtidas com EDDB para injeções em triplicata de a) 10; b) 20; c) 30; d) 40; e e) 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução padrão de BHA e de (1 – 4) quatro amostras de biodiesel; **B)** curva de calibração correspondente ($R = 0,999$). Potencial: 1,0 V. Volume injetado: 100 μL ; Velocidade de injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; eletrólito: 50% (v/v) água-etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 .

As medidas em HPLC foram realizadas usando um Shimadzu LC-10VP HPLC equipado com um detector UV/VIS (SPD-10AV), coluna LC (Lychrispher 100 A° RP18-C18, 250 mm x 4.6 mm, 5 µm), forno da coluna (CTO-20A), degaseificador (DGU-20A5), pequeno auto-injetor, and bomba (LC-10AD-VP). A fase móvel foi composta de acetonitrila e água (75:25 v/v) com pH 2,1 (ajustada com ácido fosfórico antes da mistura com a acetonitrila), e o fluxo foi 1,0 mL min⁻¹. O comprimento de onda do detector UV/VIS foi fixado a 280 nm., e o tempo de retenção de 4,6 min. As amostras de biodiesel foram diluídas na fase móvel antes das injeções.

Tabela 3. Concentrações de BHA obtidas pelo método proposto em BIA e por HPLC (mg g⁻¹ de amostra) e os respectivos valores de desvio padrão (n=3).

Amostras	BIA (mg g ⁻¹)	HPLC (mg g ⁻¹)
Biodiesel 1	7,4 ± 0,2	7,4 ± 0,2
Biodiesel 2	3,70 ± 0,09	3,7 ± 0,1
Biodiesel 3	6,2 ± 0,2	6,1 ± 0,1
Biodiesel 4	6,3 ± 0,2	6,4 ± 0,1

Um comportamento linear, com um bom coeficiente de correlação (0,999) foi observado de 10 a 50 µmol L⁻¹ de BHA ($I = 0,02143 + 0,0550 c$). O valor da sensibilidade (inclinação da curva) é comparável ao valor (0,0559 µA L µmol⁻¹) obtido em um recente trabalho usando eletrodo de DDB e detecção amperométrica [48]. A contaminação do eletrodo não foi observada entre as injeções das soluções padrão e amostra, como evidenciado pelo fato de que as respostas de corrente não diminuíram durante as medidas amperométricas. Todos os resultados obtidos pelo método proposto em BIA estavam de acordo com aqueles obtidos por HPLC em um nível de confiança de 95% (Tabela 3).

O limite de detecção após os parâmetros otimizados foi estimado em 50 nmol L⁻¹ (com uma relação sinal-ruído S/N = 3), que corresponde a 103,6 ng de BHA

por g de biodiesel considerando a diluição de dez vezes (10 μ L ou 8,70 mg de biodiesel na alíquota injetada de a 100 μ L).

A oxidação eletroquímica de compostos fenólicos [75] assim como medidas eletroquímicas em sistemas complexos, tais como biodiesel, poderiam contribuir para a passivação do eletrodo durante as medidas amperométricas [39]. Todavia, nossos resultados indicaram que a precisão e exatidão do método proposto aqui não foram afetadas. As propriedades únicas do eletrodo de DDB, tais como baixa susceptibilidade à adsorção e baixa corrente de fundo, acopladas com a velocidade e precisão da técnica BIA com detecção amperométrica, forneceu alta sensibilidade, exatidão, precisão e rapidez ao método para determinação de BHA em biodiesel.

3.1.6. LIMITE DE DETECÇÃO

O limite de detecção do método (50 nmol L⁻¹) é comparável ao limite de detecção do BHA (30 nmol L⁻¹) relatado em um trabalho recente, em que um eletrodo DDB foi usado para determinar o BHA em amostras de maionese após tratamento da amostra (extração morosa) [48]. Este limite de detecção (30 nmol L⁻¹) foi o mais baixo reportado na literatura [48]. Eletrodo de compósito de grafite modificado com hexacianoferrato de manganês (II) também foi descrito na literatura apresentando limite de detecção comparável (50 nmol L⁻¹) para determinação de BHA em amostras de alimentos com a vantagem adicional de possuir uma ampla faixa linear (de 0,5 μ mol L⁻¹ a 1,5 mmol L⁻¹) [49]. No entanto, eletrodos quimicamente modificados podem exibir decaimento gradual de sinal para experimentos de longa duração [49].

3.4. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE BHA E TBHQ EM BIODIESEL POR ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA COM DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA DE MÚLTIPLOS PULSOS

Assim como destacado anteriormente, estudos eletroquímicos preliminares de antioxidantes fenólicos (tais como BHA e TBHQ) usando diferentes materiais de carbono (eletrodos de carbono vítreo e DDB) têm demonstrado que o meio ácido fornece a melhor resposta para a resposta eletroquímica [38, 47-49, 76]. A oxidação eletroquímica de BHA e TBHQ envolve um processo de dois elétrons gerando

respectivos intermediários derivados de quinona [38, 47, 49]. A Figura 20 apresenta os voltamogramas obtidos em HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, e concentração dos antioxidantes 1 mmol L^{-1} , utilizando como eletrodo de trabalho, o eletrodo de carbono vítreo.

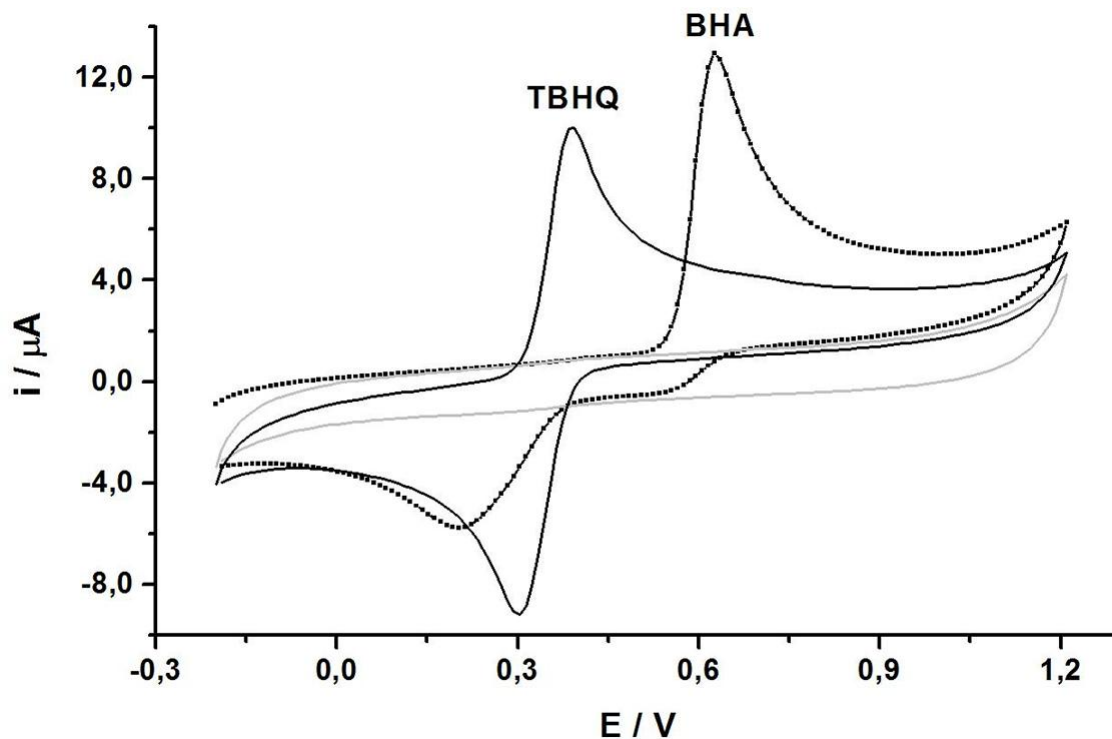


Figura 20. Voltamogramas obtidos para soluções de TBHQ e BHA (ambos 1 mmol L^{-1}). Eletrólito: HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 50 m V s^{-1} . ET: ECV. Faixa de trabalho: $-0,2 \text{ V}$ a $1,2 \text{ V}$. Ciclo: 1.

Os processos redox para ambas as moléculas foram descritos na literatura como sendo controlados por transporte de massa [47, 49]. Como anteriormente foi demonstrado que a solução contendo 50% (v/v) com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 (concentração final) forneceu melhor desempenho para a determinação de BHA com sistema BIA com detecção amperométrica, esta solução foi empregada como eletrólito na determinação simultânea de BHA e TBHQ.

3.4.1. OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DO BHA E TBHQ – VOLTAMETRIA HIDRODINÂMICA

A fim de executar a determinação simultânea de BHA e TBHQ, um voltamograma hidrodinâmico foi obtido utilizando amperometria de múltiplos pulsos (acoplado ao sistema BIA) para BHA e TBHQ separadamente, e também para a mistura equimolar dos mesmos. A Figura 21 apresenta os registros obtidos por AMP de 0,50 a 1,20 V em intervalos de 100 mV cada (em pulsos de potencial inferiores a 0,50 V não foram observados picos de corrente, assim estes não são apresentados).

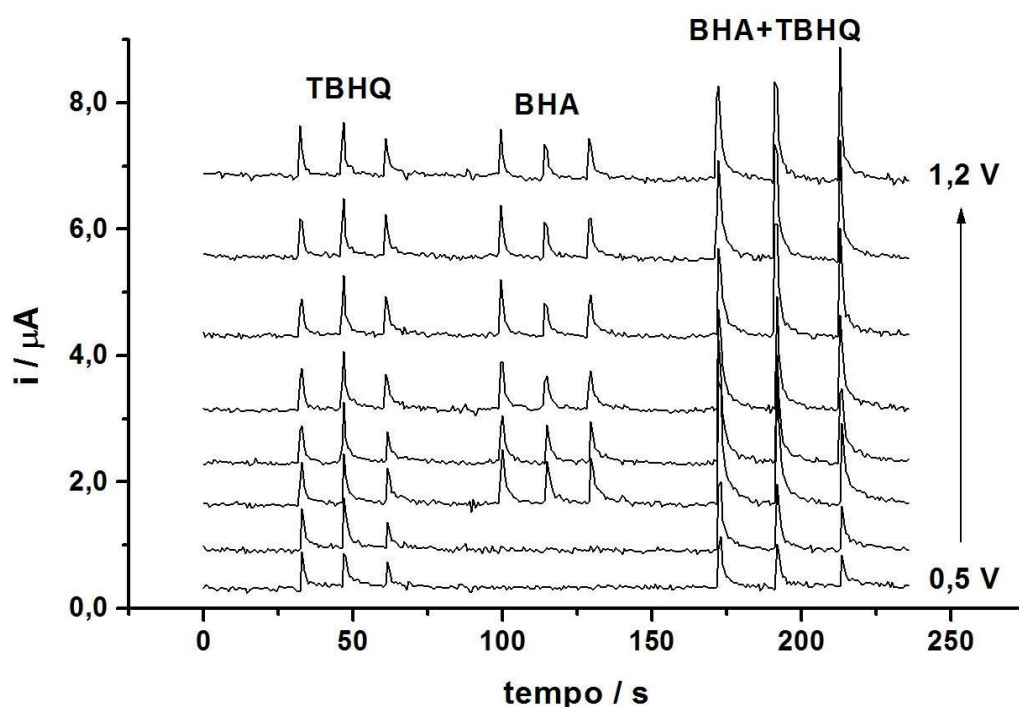


Figura 21. Registros obtidos por BIA-AMP obtidos em 3 injeções sucessivas de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ, de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA e da mistura de BHA+TBHQ ($30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada). Faixa de potencial: 0,5 a 1,2 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; velocidade injeção: $160 \mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: $100 \mu\text{L}$.

Dez pulsos de potenciais sequenciais de 100 ms cada (0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,70; 0,80; 0,90; 1,00; 1,10 e 1,20V) foram continuamente aplicados (amperogramas da Figura 22). A corrente em cada pulso de potencial foi monitorada continuamente durante 3 injeções de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ BHA (●). O mesmo procedimento foi feito durante

injeções em triplicata de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ TBHQ ($\blacktriangle$). A média dos picos de corrente ($n=3$) medidos em cada pulso de potencial foi usada para construir um voltamograma hidrodinâmico para a oxidação eletroquímica de BHA e TBHQ (Figura 22).

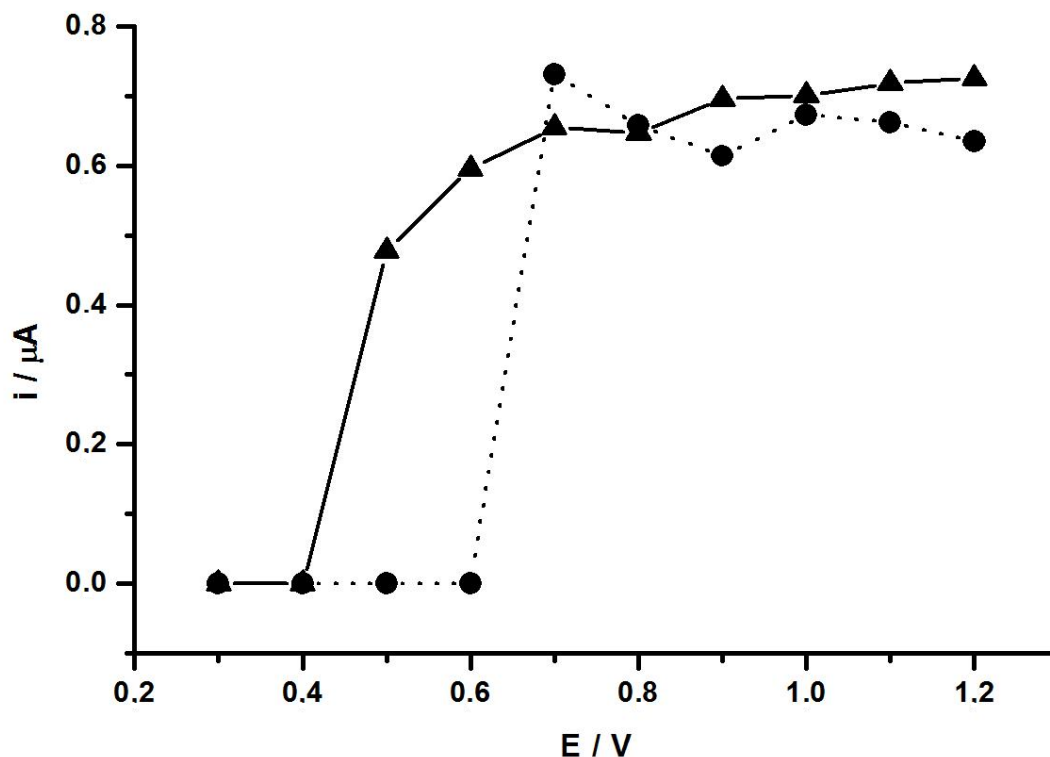


Figura 22. Voltamograma hidrodinâmico obtido plotando valores de corrente de pico em função dos respectivos pulsos de potenciais aplicados. As soluções continham $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ ($\blacktriangle$) ou BHA ($\bullet$). Pulso de potencial: 0,3 a 1,2 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; velocidade injeção: $160 \mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL .

3.4.2. SELETIVIDADE

Os voltamogramas hidrodinâmicos revelaram que o TBHQ começa a oxidar em potenciais menos positivos (0,4 V) do que o BHA (potenciais maiores que 0,6 V) no ECV. Baseado nestes voltamogramas hidrodinâmicos, um potencial de 0,6 V permite a determinação seletiva de TBHQ, na presença de BHA, sendo, portanto, este valor selecionado como o primeiro pulso de potencial. A oxidação eletroquímica de BHA é alcançada se potenciais mais positivos são aplicados; contudo, TBHQ também é oxidado e pode ser considerado como molécula interferente. Um segundo pulso de

potencial (1,0 V) foi selecionado para a oxidação eletroquímica de BHA e a contribuição da corrente da oxidação do TBHQ pode ser subtraída da resposta de corrente do BHA similarmente à estudos prévios [48, 60, 77, 78]. A Figura 23 apresenta as respostas amperométricas obtidas em 0,6 V (por 100 ms) e em 1,0 V (100 ms) para injeções em triplicata de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ, 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA, e uma mistura contendo 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA + 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ.

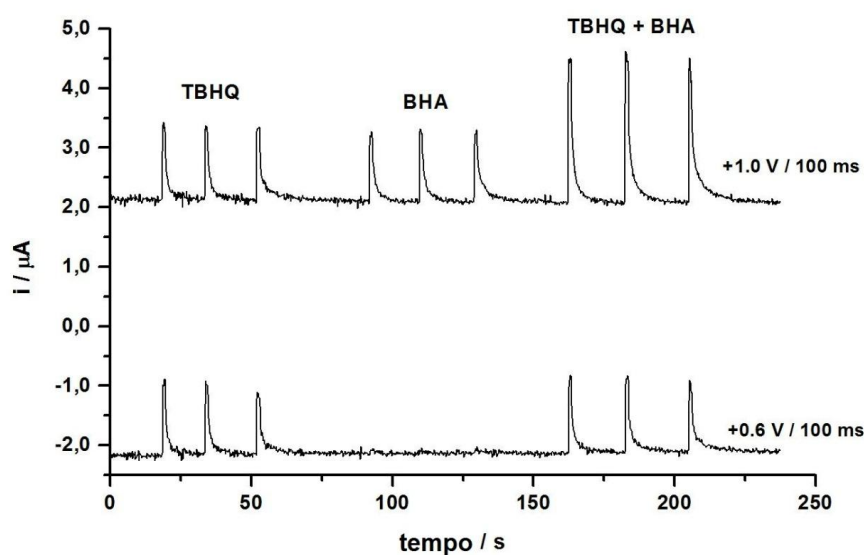


Figura 23. Respostas amperométricas ($n=3$) de soluções contendo TBHQ (30 $\mu\text{mol L}^{-1}$), BHA (30 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e TBHQ + BHA (30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada). Pulsos de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL .

3.4.3. FATOR DE CORREÇÃO (FC)

As respostas amperométricas registradas em 0,6 V mostram claramente que somente o TBHQ se oxida eletroquimicamente na superfície do ECV mesmo na presença de BHA, e em 1,0 V, ambas as moléculas são oxidadas. Outros registros amperométricos foram realizados utilizando esta sequência de dois pulsos de potenciais. No entanto, a determinação seletiva de BHA depende da subtração da corrente do TBHQ que também é oxidado a 1,0 V. A subtração direta da resposta de corrente em 1,0 V (oxidação de TBHQ e BHA) pela resposta de corrente em 0,6 V

(exclusiva oxidação de TBHQ) seria equivalente à resposta de corrente de BHA apenas se as respostas de corrente de TBHQ em ambos os potenciais (0,6 e 1,0 V) correspondessem ao mesmo valor. Uma vez que este fato não ocorre, um fator de correção (FC) pode ser estimado com base na relação das respostas de corrente para TBHQ registradas em 0,6 e 1,0 V. O fator de correção pode ser obtido por uma simples injeção de uma solução contendo somente TBHQ em um valor de concentração dentro dos valores utilizados para obter a curva de calibração como segue:

$$FC = i_{TBHQ\ 1,0\ V} / i_{TBHQ\ 0,6\ V} \quad (1)$$

Posteriormente, se uma solução contendo ambos BHA e TBHQ for injetada, a corrente originada da oxidação do BHA detectada em 1,0 V pode ser calculada como segue:

$$i_{BHA} = i_{1,0\ V} - (FC \times i_{0,6\ V}) \quad (2)$$

O FC foi obtido para injeções de diferentes concentrações de TBHQ (de 10 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) como mostrado na Figura 24. Foi usado o sistema BIA nas condições otimizadas e o seu valor médio (n=5, pois foram obtidos valores de FC para cada concentração) foi de $1,40 \pm 0,01$.

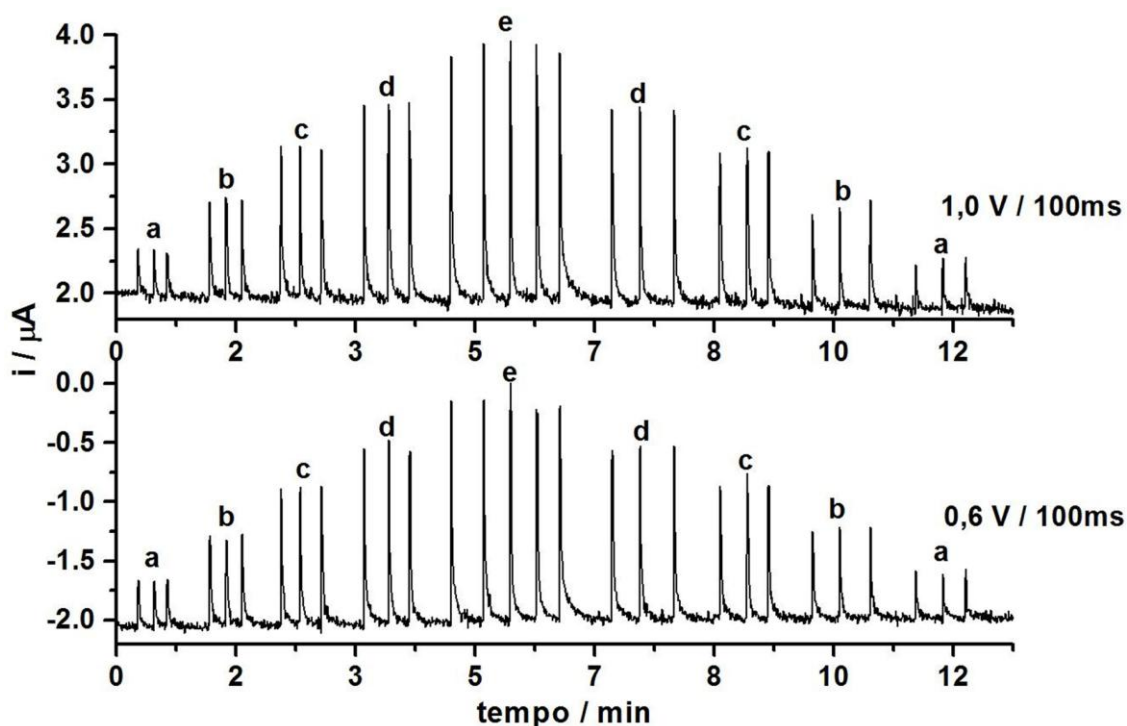


Figura 24. Respostas amperométricas obtidas para adições crescentes e decrescentes de TBHQ (a-e: 10 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) utilizadas para o cálculo do FC médio. Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: 100 μL .

3.4.4. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DO BIA

Para a otimização dos parâmetros BIA, baseou-se no maior sinal analítico (resposta da corrente) e precisão (repetitividade dos sinais).

A Figura 25 apresenta as respostas amperométricas relativas ao estudo do efeito da velocidade de injeção, onde o volume injetado foi fixo (100 μL) e variou-se a velocidade de injeção de 28 a 250 $\mu\text{L s}^{-1}$.

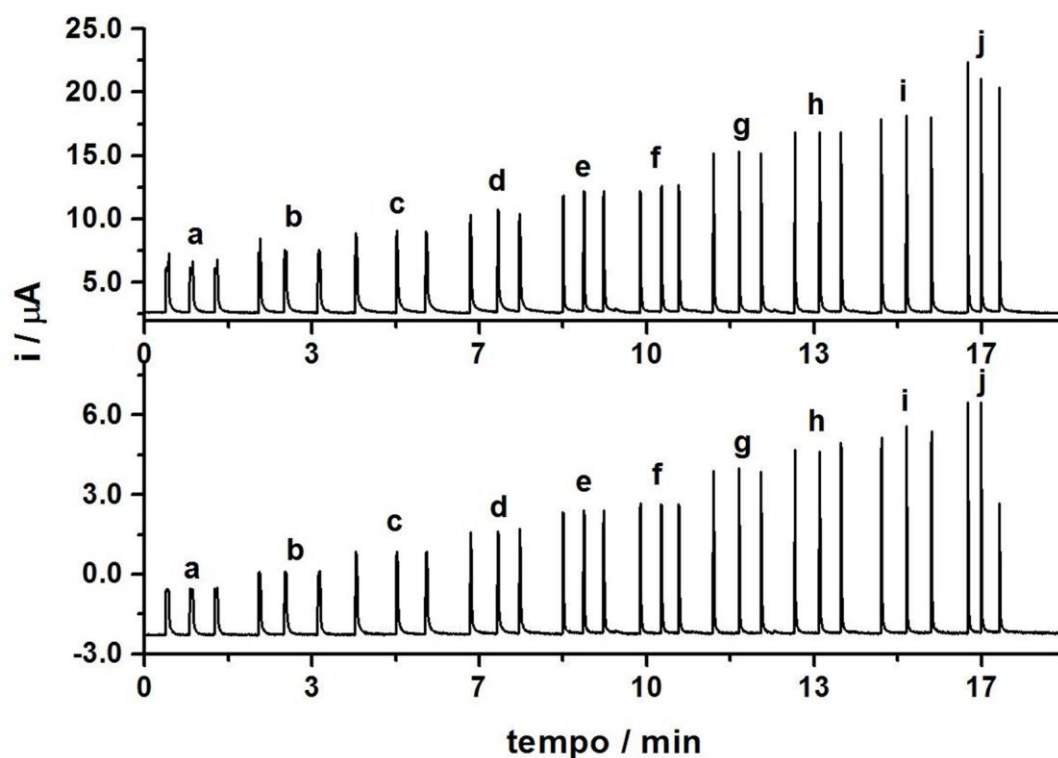


Figura 25. Estudo do efeito da velocidade de injeção (a-j: 28 a 250 $\mu\text{L s}^{-1}$) para uma solução contendo uma mistura de TBHQ 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e BHA 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; volume injetado: 100 μL .

A Figura 26 apresenta as respostas amperométricas relativas ao estudo do efeito do volume de injeção, cuja velocidade de injeção foi fixa e com valor de 160 $\mu\text{L s}^{-1}$ e variou-se o volume injeção de 10 a 150 μL .

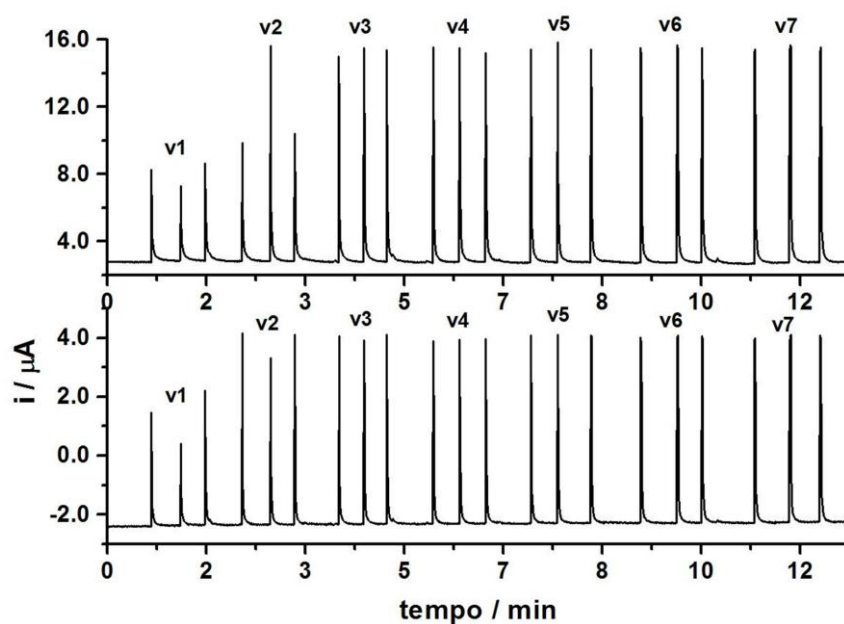


Figura 26. Estudo do efeito da variação do volume (v1-v7: 10 a 150 μL) de injeção para uma solução contendo uma mistura de TBHQ 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e BHA 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; velocidade injeção: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$.

A velocidade de injeção otimizada foi de 160 $\mu\text{L s}^{-1}$ e o volume injetado de 100 μL , como apresentando nas Figuras 25 e 26, respectivamente, considerando melhor resposta analítica aliada a uma boa constância dos sinais.

3.4.5. REPETITIVIDADE DE SINAIS

Um estudo de repetitividade (apresentado na Figura 27) foi conduzido nas condições otimizadas do sistema BIA para 10 injeções sucessivas de uma solução padrão contendo BHA e TBHQ (ambos em concentração igual a 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

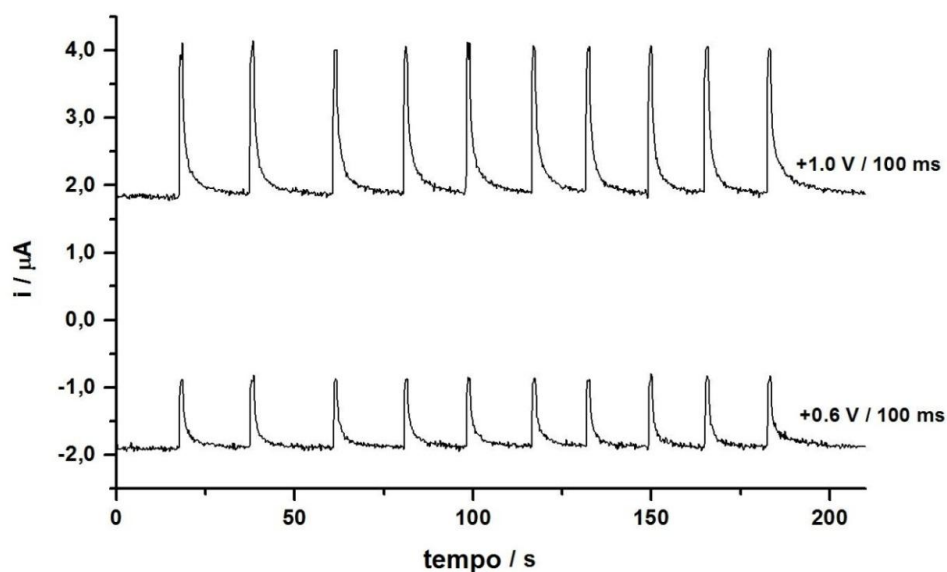


Figura 27. Dados de repetitividade obtidos a partir de injeções sucessivas de uma solução contendo $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TBHQ e $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BHA ($n=10$). Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; velocidade injeção: $160 \mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: $100 \mu\text{L}$.

O desvio padrão relativo foi de 0,98% para o TBHQ (detectado em 0,6 V) e 0,77% para a resposta obtida em 1,0 V que corresponde à mistura de BHA e TBHQ. Em condições otimizadas, curvas de calibração para BHA e TBHQ foram obtidas.

3.2.6. CURVAS DE CALIBRAÇÃO E ANÁLISE DE BIODIESEL

A Figura 28 apresenta respostas amperométricas para injeções em triplicata de soluções contendo concentrações crescentes de BHA e TBHQ (b – f: $10 - 50 \mu\text{mol L}^{-1}$). As respectivas curvas de calibração (adições crescentes e decrescentes) são também apresentadas para cada analito. As concentrações de BHA foram calculadas usando a equação 2. A frequência analítica estimada para as respostas amperométricas foi de 170 h^{-1} .

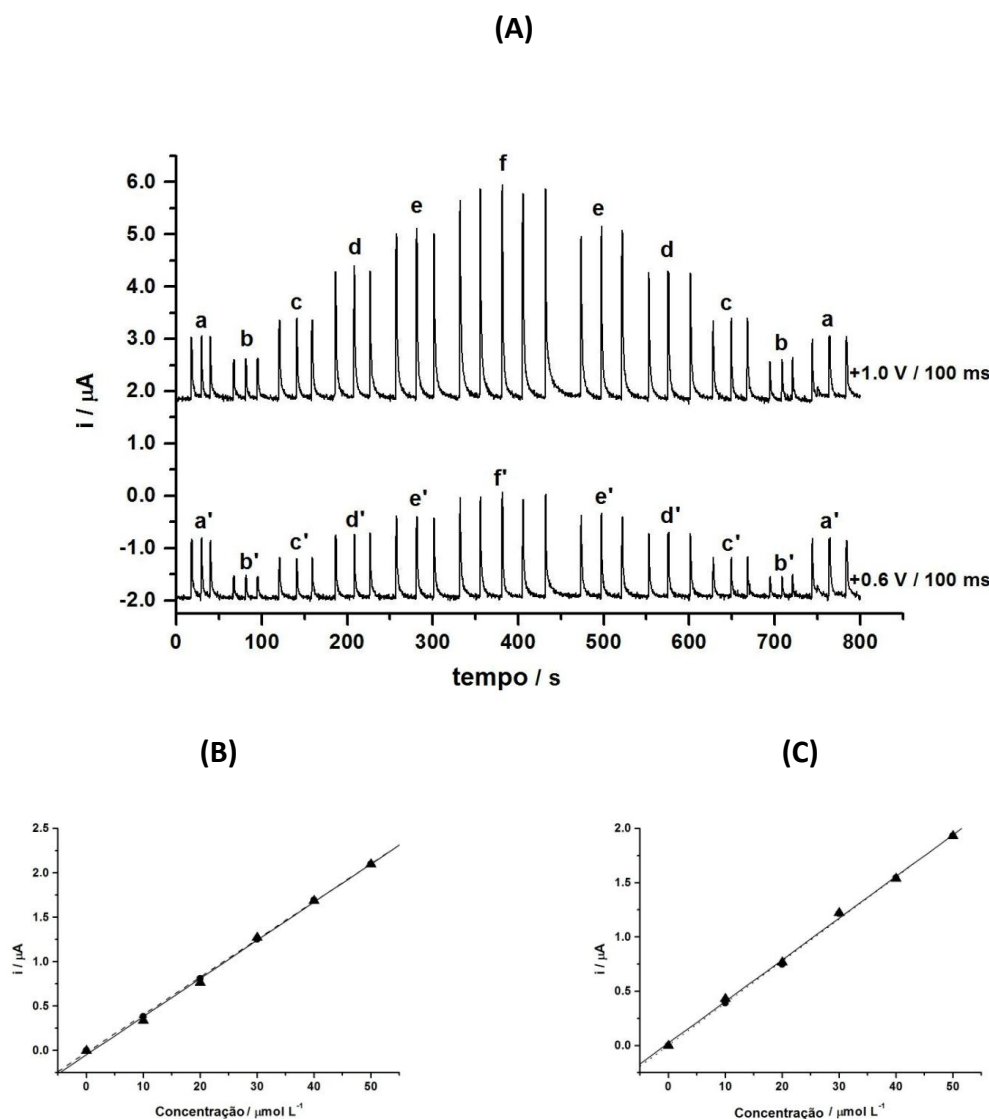


Figura 28. **A)** Respostas amperométricas obtidas após injeções de uma solução contendo somente TBHQ $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ (a) e cinco soluções contendo simultaneamente concentrações crescentes de TBHQ e BHA (b-f: 10 a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$). **B)** Curvas de calibração do TBHQ: concentrações crescente (▲ $R=0,999$) e decrescente (● $R=0,999$). **C)** Curvas de calibração do BHA: concentrações crescente (▲ $R=0,998$) e decrescente (● $R=0,998$). Pulso de potencial: 0,6 e 1,0 V por 100 ms cada; eletrólito suporte: solução hidroetanólica contendo 50% (v/v) de etanol com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; velocidade injeção: $160 \mu\text{L s}^{-1}$; volume injetado: $100 \mu\text{L}$.

As curvas de calibração encontradas foram lineares para ambos os casos, BHA ($R=0,999$ para concentrações crescentes e decrescentes) e TBHQ ($R=0,998$ para concentrações crescentes e decrescentes), respectivamente B e C na Figura 28, o que confirma a ausência do efeito de memória. Os valores de inclinação da reta foram

ligeiramente superiores para BHA (0,0444 e 0,0432 $\mu\text{A L } \mu\text{mol L}^{-1}$ para concentrações crescentes e decrescentes) do que para o TBHQ (0,0377 e 0,0387 $\mu\text{A L } \mu\text{mol L}^{-1}$ para concentrações crescentes e decrescentes). A faixa linear do método é ampla nas condições otimizadas, de 1 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a quantificação de TBHQ e BHA com coeficientes de correlação de 0,996 e 0,999, respectivamente.

O limite de detecção foi estimado em 73 e 75 nmol L^{-1} para BHA e TBHQ (com uma razão sinal-ruído de $S/N = 3$).

A precisão do método proposto por BIA foi primeiramente avaliada por testes de recuperação com amostras dopadas com BHA e TBHQ. Os valores de recuperação de BHA e TBHQ se situaram na faixa de 102-104% e 100-110% ($n=3$), respectivamente. Além disso, o método proposto foi aplicado para a determinação simultânea de BHA e TBHQ em amostras de biodiesel contendo diferentes quantidades de BHA e TBHQ. As amostras também foram analisadas por HPLC para comparação e todos os resultados estão apresentados na Tabela 4.

As medidas em HPLC foram realizadas usando um Shimadzu LC-10VP HPLC equipado com um detector UV/VIS (SPD-10AV), coluna LC (Lychrispher 100 A° RP18-C18, 250 mm x 4.6 mm, 5 μm), forno da coluna (CTO-20A), degaseificador (DGU-20A5), pequeno auto-injetor, and bomba (LC-10AD-VP). A fase móvel foi composta de acetonitrila e água (75:25 v/v) com pH 2,1 (ajustada com ácido fosfórico antes da mistura com a acetonitrila), e o fluxo foi 1,0 mL min^{-1} . O comprimento de onda do detector UV/VIS foi fixado a 280 nm, e o tempo de retenção foi de 3,1 e 3,9 min para TBHQ e BHA, respectivamente. As amostras de biodiesel foram diluídas na fase móvel antes das injeções.

Tabela 4. Concentrações de BHA e TBHQ obtidas pelo método proposto em BIA e por HPLC (mg g^{-1} de amostra) e os respectivos valores de desvio padrão ($n=3$).

Amostras	BIA (mg g^{-1})		HPLC (mg g^{-1})	
	TBHQ	BHA	TBHQ	BHA
Biodiesel 1	$4,2 \pm 0,1$	$9,2 \pm 0,4$	$4,3 \pm 0,3$	$9,9 \pm 0,4$
Biodiesel 2	$7,9 \pm 0,4$	$19,6 \pm 0,8$	$8,6 \pm 0,4$	$21,2 \pm 0,8$
Biodiesel 3	$12,6 \pm 0,7$	$31,0 \pm 0,8$	$13,3 \pm 0,7$	$30,2 \pm 0,8$

Todos os resultados obtidos pelo método proposto em BIA estavam de acordo com aqueles obtidos por HPLC em um nível de confiança de 95% (Tabela 4).

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A proposta inicial do presente projeto consistiu no desenvolvimento de um método rápido e eficaz para a determinação do antioxidante BHA em amostras de biodiesel, e posteriormente para a determinação simultânea de TBHQ e BHA, nas mesmas amostras.

Demonstrou-se, pela primeira vez, a aplicação de BIA com detecção amperométrica para determinação de BHA em biodiesel. Além disso, esta é primeira aplicação relatada de BIA com detecção amperométrica de analitos em amostras não aquosas tal como biodiesel. As amostras só requerem diluição em solução eletrolítica antes da análise. O método proposto é altamente preciso ($DPR=0,29\%$; $n=20$), exato (confirmado por comparação com método reconhecido e testes de recuperação), sensível ($LD = 50 \text{ nmol L}^{-1}$) e rápido (frequência analítica de 120 injeções por h^{-1}), destacando o potencial do método proposto para análises de rotina de antioxidantes em biodiesel. Além disso, este método pode ser aplicado para análises de campo utilizando potenciostatos portáteis comercialmente disponíveis.

A técnica BIA-AMP mostrou-se como uma metodologia eficiente também para a determinação simultânea de TBHQ e BHA em amostras de biodiesel. As amostras também só requerem uma simples diluição no eletrólito suporte contendo etanol. A pré-seleção cuidadosa de dois pulsos de potenciais usando AMP acoplada ao sistema BIA permite a detecção simultânea de BHA e TBHQ com elevadas exatidão (confirmada em análises por HPLC e testes de recuperação), precisão ($DPR < 1\%$; $n=10$), sensibilidade ($LDs < 100 \text{ nmol L}^{-1}$) e rapidez (frequência analítica de 170 injeções por hora). Posteriormente, o método proposto pode ser facilmente adaptado para monitorar o conteúdo de mistura de outros antioxidantes (eletroativos) em biodiesel.

Perspectivas para a continuação do trabalho estão relacionadas à quantificação individual do BHT, visto que dentre os antioxidantes já relacionados neste trabalho mostrou ser o mais complicado em relação à solubilização. A determinação simultânea de TBHQ, BHA e BHT em amostras de biodiesel também será o foco de próximos trabalhos do grupo. Outros antioxidantes também podem ser testados, como por exemplo o propil-galato (PG) e o tocoferol.

CAPÍTULO 5

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cortes, A.G., Garcia, A.J.R., Yanezsedeno, P., and Pingarron, J.M., *Polarographic- determination of tert-butylhydroquinone in micellar and emulsified media*. Analytica Chimica Acta, 1993. **273**(1-2): p. 545-551.
2. Gonzalez, A., Ruiz, M.A., Yanezsedeno, P., and Pingarron, J.M., *Voltammetric determination of tert-butylhydroxyanisole in micellar and emulsified media*. Analytica Chimica Acta, 1994. **285**(1-2): p. 63-71.
3. Surareungchai, W. and Kasiwat, D., *Electroanalysis of tert-butylhydroquinone in edible oil at a Nafion-coated probe*. Electroanalysis, 2000. **12**(14): p. 1124-1129.
4. Yanezsedeno, P., Pingarron, J.M., and Diez, L.M.P., *Determination of tert-butylhydroxyanisole and tert-butylhydroxytoluene by flow-injection with amperometric detection*. Analytica Chimica Acta, 1991. **252**(1-2): p. 153-159.
5. de Araujo, T.A., Barbosa, A.M.J., Viana, L.H., and Ferreira, V.S., *Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples*. Fuel, 2011. **90**(2): p. 707-712.
6. de Araujo, T.A., Barbosa, A.M.J., Viana, L.H., and Ferreira, V.S., *Voltammetric determination of tert-butylhydroquinone in biodiesel using a carbon paste electrode in the presence of surfactant*. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 2010. **79**(2): p. 409-414.
7. Brasil, Lei nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF.
8. Biodiesel, P.d., disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/>. Acesso em 13/06/2011.
9. Geris, R., Santos, N.A.C.d., Amaral, B.A., Maia, I.d.S., Castro, V.D., and Carvalho, J.R.M., *Biodiesel de soja: Reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica*. Química Nova, 2007. **30**: p. 1369-1373.
10. R. M. Vargas, U.S., R. Sercheli, *Transesterification of Vegetable Oils: a Review*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 1998. **9**(1): p. 199-210.
11. Lobo, I.P., Ferreira, S. L. C., Cruz, R. S., *Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos*. Química Nova, 2009. **32**(6): p. 1596-1608.
12. Knothe, G., *Some aspects of biodiesel oxidative stability*. Fuel Processing Technology, 2007. **88**(7): p. 669-677.

13. Resolução ANP nº7, de 19 de março de 2008. Disponível em: http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2008/mar%C3%A7o/ranp%207%20-%202008.xml. Acesso em: 13/03/2011.
14. Monteiro, M.R., Ambrozin, A.R.P., Liao, L.M., and Ferreira, A.G., *Critical review on analytical methods for biodiesel characterization*. Talanta, 2008. **77**(2): p. 593-605.
15. Os antioxidantes. *Food Ingredients Brasil*, 2009. **6**. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/>. Acesso em: 12/04/2012.
16. Domingos, A.K., Saad, E.B., Vechiatto, W.W.D., Wilhelm, H.M., and Ramos, L.P., *The influence of BHA, BHT and TBHQ on the oxidation stability of soybean oil ethyl esters (biodiesel)*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2007. **18**(2): p. 416-423.
17. Freire, L.M.D., dos Santos, I.M., de Carvalho, J.R., Cordeiro, A., Soledade, L.E.B., Fernandes, V.J., de Araujo, A.S., and de Souza, A.G., *Influence of the synthesis process on the properties of flow and oxidative stability of biodiesel from Jatropha curcas biodiesel*. Fuel, 2012. **94**(1): p. 313-316.
18. <http://www.chemicalize.org>, acesso em 12/01/2012.
19. Maia, E.C.R., Borsato, D., Moreira, I., Spacino, K.R., Rodrigues, P.R.P., and Gallina, A.L., *Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants*. Fuel Processing Technology, 2011. **92**(9): p. 1750-1755.
20. Tang, H.Y., De Guzman, R.C., Ng, K.Y.S., and Salley, S.O., *Effect of Antioxidants on the Storage Stability of Soybean-Oil-Based Biodiesel*. Energy & Fuels, 2010. **24**: p. 2028-2033.
21. Maga, J.T., A. T., ed. *Antioxidants*. 1995, Food additive toxicology New York: Marcel Dekker. 89-178.
22. de Araujo, T.A., Barbosa, A.M.J., Viana, L.H., and Ferreira, V.S., *Voltammetric determination of tert-butylhydroquinone in biodiesel using a carbon paste electrode in the presence of surfactant*. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 2010. **79**(2): p. 409-414.
23. Ramalho, V.C. and Jorge, N., *Antioxidants used in oils, fats and fatty foods*. Quimica Nova, 2006. **29**(4): p. 755-760.

24. Silva, R.d., *Estudo Termoanalítico de éster de sorbitan etoxilado*, in *Instituto de Química*. 2008, USP: São Paulo.
25. Ding, M.Z. and Zou, J.K., *Rapid micropreparation procedure for the gas chromatographic-mass spectrometric determination of BHT, BHA and TBHQ in edible oils*. Food Chemistry, 2012. **131**(3): p. 1051-1055.
26. Yang, M.H., Lin, H.J., and Choong, Y.M., *A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats*. Food Research International, 2002. **35**(7): p. 627-633.
27. Prasad, U.V., Divakar, T.E., Reddy, R.V.R., and Sastry, C.S.P., *Spectrophotometric determination of di-t-butylhydroquinone (TBHA) in oils*. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 1988. **25**(1): p. 42-43.
28. Toyoda, M., Ogawa, S., Tonogai, Y., Ito, Y., and Iwaida, M., *Gas-liquid-chromatographic determination of tertiary-butylhydroquinon (TBHQ) in dried fish, frozen shrimp, vegetable-oils, butter and margarine*. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 1980. **63**(5): p. 1135-1137.
29. Hammond, K.J., *Determination of butylated hydroxianisole (BHA) butylated hydroxytoluene (BHA) and individual gallate esters in fats and oils by high-performance liquid-chromatography*. Journal of the Association of Public Analysts, 1978. **16**(MAR): p. 17-24.
30. Page, B.D., *Liquid-chromatographic method for the determination of 9 phenolic antioxidants in butter oil - collaborative study*. Journal of Aoac International, 1993. **76**(4): p. 765-779.
31. Ammawath, W., Man, Y.B.C., Baharin, B.S., and Rahman, R.B.A., *A new method for determination of tert-butylhydroquinone (TBHQ) in RBD palm olein with FTIR spectroscopy*. Journal of Food Lipids, 2004. **11**(4): p. 266-277.
32. Sastry, C.S.P., Rao, S.G., and Sastry, B.S., *Spectrophotometric determination of butylated hydroxy anisole (BHA) in oils*. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 1992. **29**(2): p. 101-102.
33. Komaitis, M.E. and Kapel, M., *Spectrophotometric determination of BHA in edible fats and oils*. Journal of the American Oil Chemists Society, 1985. **62**(9): p. 1371-1372.

34. Garcia, C.D. and Camino, C.P., *Rapid method for bht and bha determination in oils and fats by gas-liquid-chromatography*. Grasas Y Aceites, 1983. **34**(3): p. 183-187.
35. Schwien, W.G., Miller, B.J., and Conroy, H.W., *Extraction cleanup and gas chromatographic determination of BHA e BHT in fats and oils*. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 1966. **49**(4): p. 809-&.
36. Takemoto, E., Teixeira, J., and Godoy, H.T., *Validation of methodology for the simultaneous determination of synthetic antioxidants in vegetables oils, margarine and vegetables hydrogenated fats by HPLC/*. Quimica Nova, 2009. **32**(5): p. 1189-1194.
37. Delgado-Zamarreno, M.M., Gonzalez-Maza, I., Sanchez-Perez, A., and Martinez, R.C., *Analysis of synthetic phenolic antioxidants in edible oils by micellar electrokinetic capillary chromatography*. Food Chemistry, 2007. **100**(4): p. 1722-1727.
38. de la Fuente, C., Acuna, J.A., Vazquez, M.D., Tascon, M.L., and Batanero, P.S., *Voltammetric determination of the phenolic antioxidants 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole and tert-butylhydroquinone at a polypyrrole electrode modified with a nickel phthalocyanine complex*. Talanta, 1999. **49**(2): p. 441-452.
39. Almeida, E.S., Monteiro, M., Montes, R.H., Mosquetta, R., Coelho, N.M.M., Richter, E.M., and Munoz, R.A.A., *Direct Determination of Copper in Biodiesel Using Stripping Analysis*. Electroanalysis, 2010. **22**(16): p. 1846-1850.
40. Farrington, A.M. and Slater, J.M., *Monitoring of engine oil degradation by voltammetric methods utilizing disposable solid wire microelectrodes*. Analyst, 1997. **122**(6): p. 593-596.
41. Munoz, R.A.A., Banks, C.E., Davies, T.J., Angnes, L., and Compton, R.G., *The electrochemistry of tetraphenyl porphyrin iron(III) within immobilized droplets supported on platinum electrodes*. Electroanalysis, 2006. **18**(7): p. 649-654.
42. Munoz, R.A.A., Correia, P.R.M., Nascimento, A.N., Silva, C.S., Oliveira, P.V., and Angnes, L., *Electroanalysis of crude oil and petroleum-based fuel for trace metals: Evaluation of different microwave-assisted sample decompositions and stripping techniques*. Energy & Fuels, 2007. **21**(1): p. 295-302.

43. Munoz, R.A.A., Banks, C.E., Davies, T.L., Angnes, L., and Compton, R.G., *Electrochemistry inside microdroplets of kerosene: Electroanalysis of (methylcyclopentadienyl) manganese(I) tricarbonyl(I)*. *Electroanalysis*, 2006. **18**(6): p. 621-626.
44. de Araujo, T.A., Barbosa, A.M.J., Viana, L.H., and Ferreira, V.S., *Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples*. *Fuel*, 2011. **90**(2): p. 707-712.
45. Wang, J., Lu, J.M., Anik, U., Hocevar, S.B., and Ogorevc, B., *Insights into the anodic stripping voltammetric behavior of bismuth film electrodes*. *Analytica Chimica Acta*, 2001. **434**(1): p. 29-34.
46. Ni, Y.N., Wang, L., and Kokot, S., *Voltammetric determination of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, propyl gallate and tert-butylhydroquinone by use of chemometric approaches*. *Analytica Chimica Acta*, 2000. **412**(1-2): p. 185-193.
47. Medeiros, R.A., Rocha, R.C., and Fatibello, O., *Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants in food using a boron-doped diamond electrode*. *Food Chemistry*, 2001. **123**(3): p. 886-891.
48. Medeiros, R.A., Lourencao, B.C., Rocha, R.C., and Fatibello, O., *Simple Flow Injection Analysis System for Simultaneous Determination of Phenolic Antioxidants with Multiple Pulse Amperometric Detection at a Boron-Doped Diamond Electrode*. *Analytical Chemistry*, 2010. **82**(20): p. 8658-8663.
49. Jayasri, D. and Narayanan, S.S., *Manganese(II) hexacyanoferrate based renewable amperometric sensor for the determination of butylated hydroxyanisole in food products*. *Food Chemistry*, 2007. **101**(2): p. 607-614.
50. Skoog, D.A.H., F.J.; Nieman, T. A., *Princípios de Análise Instrumental*. 5ª Edição, ed. E. Bookman. Vol. cap. 25. 2002.
51. Pleskov, Y.V., *Electrochemistry of diamond: A review*. *Russian Journal of Electrochemistry*, 2002. **38**(12): p. 1275-1291.
52. Xu, J.S., Granger, M.C., Chen, Q.Y., Strojek, J.W., Lister, T.E., and Swain, G.M., *Boron-doped diamond thin-film electrodes*. *Analytical Chemistry*, 1997. **69**(19): p. A591-A597.

53. Alfaro, M.A.Q., Ferro, S., Martinez-Huitle, C.A., and Vong, Y.M., *Boron doped diamond electrode for the wastewater treatment*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2006. **17**(2): p. 227-236.
54. Pleskov, Y.V., *Synthetic diamond, a new electrode material for electroanalysis*. Journal of Analytical Chemistry, 2000. **55**(11): p. 1045-1050.
55. Swain, G.M., ed. *Electroanalytical Chemistry*. ed. B.A.J.R. I. Vol. 22. 2004: New York: Marcel Dekker.
56. Guo, Q.H., Huang, J.S., Chen, P.Q., Liu, Y., Hou, H.Q., and You, T.Y., *Simultaneous determination of catechol and hydroquinone using electrospun carbon nanofibers modified electrode*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2012. **163**(1): p. 179-185.
57. Mabbott, G.A., *An introduction to cyclic voltammetry*. Journal of Chemical Education, 1983. **60**(9): p. 697-702.
58. Quintino, M.d.S.M., *Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (BIA) para aplicações analíticas*, in Instituto de Química. 2003, USP: São Paulo.
59. Brett A. M. O., B.C.M.A., *Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*, ed. L. Almedina. 1996, Coimbra.
60. dos Santos, W.T.P., de Almeida, E.G.N., Ferreira, H.E.A., Gimenes, D.T., and Richter, E.M., *Simultaneous flow injection analysis of paracetamol and ascorbic acid with multiple pulse amperometric detection*. Electroanalysis, 2008. **20**(17): p. 1878-1883.
61. dos Santos, W.T.P., Gimenes, D.T., de Almeida, E.G.N., Eiras, S.D., Albuquerque, Y.D.T., and Richter, E.M., *Simple Flow Injection Amperometric System for Simultaneous Determination of Dipyrone and Paracetamol in Pharmaceutical Formulations*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2009. **20**(7): p. 1249-1255.
62. A. J. Bard, J.W.S., *Electrochemical Methods*. 1980, New York.
63. Trojanowicz, M., *Recent developments in electrochemical flow detections-A review Part I. Flow analysis and capillary electrophoresis*. Analytica Chimica Acta, 2009. **653**(1): p. 36-58.

64. Felix, F.S. and Angnes, L., *Fast and Accurate Analysis of Drugs Using Amperometry Associated With Flow Injection Analysis*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010. **99**(12): p. 4784-4804.
65. Wang, J. and Taha, Z., *Batch Injection-Analysis*. Analytical Chemistry, 1991. **63**(10): p. 1053-1056.
66. Quintino, M.S.M. and Angnes, L., *Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool*. Electroanalysis, 2004. **16**(7): p. 513-523.
67. Trojanowicz, M., Kozminski, P., Dias, H., and Brett, C.M.A., *Batch-injection stripping voltammetry (tube-less flow-injection analysis) of trace metals with on-line sample pretreatment*. Talanta, 2005. **68**(2): p. 394-400.
68. Wang, J., Chen, L., Angnes, L., and Tian, B.M., *Computerizes pipettes with programmable dispensation for batch injection-analysis*. Analytica Chimica Acta, 1992. **267**(1): p. 171-177.
69. Suffredini, H.B., Pedrosa, V.A., Codognoto, L., Machado, S.A.S., Rocha, R.C., and Avaca, L.A., *Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment*. Electrochimica Acta, 2004. **49**(22-23): p. 4021-4026.
70. Pedrotti, J.J., Angnes, L., and Gutz, I.G.R., *Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions*. Electroanalysis, 1996. **8**(7): p. 673-675.
71. Quintino, M.S.M., Araki, K., Toma, H.E., and Angnes, L., *Batch injection analysis utilizing modified electrodes with tetraruthenated porphyrin films for acetaminophen quantification*. Electroanalysis, 2002. **14**(23): p. 1629-1634.
72. Granger, M.C., Witek, M., Xu, J.S., Wang, J., Hupert, M., Hanks, A., Koppang, M.D., Butler, J.E., Lucazeau, G., Mermoux, M., Strojek, J.W., and Swain, G.M., *Standard electrochemical behavior of high-quality, boron-doped polycrystalline diamond thin-film electrodes*. Analytical Chemistry, 2000. **72**(16): p. 3793-3804.
73. Brett, C.M.A., Brett, A.M.O., and Mitoseriu, L.C., *Amperometric batch injection-analysis - theoretical aspects of current transients and comparison with wall-jet electrodes in continuous-flow*. Electroanalysis, 1995. **7**(3): p. 225-229.
74. Gunasingham, H., Tay, B.T., and Ang, K.P., *Amperometric detection in normal-phase high-performance liquid-chromatography with a large volume wall jet*

- cell and AG/AG⁺ reference system*. Analytical Chemistry, 1984. **56**(13): p. 2422-2426.
75. Garcia, C.D. and Ortiz, P.I., *BHA and TBHQ quantification in cosmetic samples*. Electroanalysis, 2000. **12**(13): p. 1074-1076.
76. Chylkova, J., Tomaskova, M., Mikysek, T., Selesovska, R., and Jehlicka, J., *Voltammetric Determination of BHT Antioxidant at Gold Electrode in Biodiesel*. Electroanalysis, 2011. **24**(6): p. 1374-1379.
77. Gimenes, D.T., dos Santos, W.T.P., Tormin, T.F., Munoz, R.A.A., and Richter, E.M., *Flow-Injection Amperometric Method for Indirect Determination of Dopamine in the Presence of a Large Excess of Ascorbic Acid*. Electroanalysis, 2010. **22**(1): p. 74-78.
78. Silva, W.C., Pereira, P.F., Marra, M.C., Gimenes, D.T., Cunha, R.R., da Silva, R.A.B., Munoz, R.A.A., and Richter, E.M., *A Simple Strategy for Simultaneous Determination of Paracetamol and Caffeine Using Flow Injection Analysis with Multiple Pulse Amperometric Detection*. Electroanalysis, 2011. **23**(12): p. 2764-2770.

CAPÍTULO 6

TRABALHOS REALIZADOS DURANTE O **MESTRADO**

6.1. PUBLICAÇÕES EM REVISTAS CIENTÍFICAS

1. Tormin, T.F., Gimenes, D.T., Richter, E.M, Muñoz, R.A.A. *Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection. Talanta, 85, (2011), 1274-1278.*
2. Silva, R.A.B., Gimenes, D.T., Tormin, T.F., Muñoz, R.A.A., Richter, E.M. *Batch Injection Analysis with Amperometric Detection: Application for Simultaneous Analysis Using a Single Working Electrode. Analytical Methods, 3, (2011), 2804-2808.*
3. Tormin, T. F., Cunha, R.R., Richter, E.M., Muñoz, R.A.A. *Fast simultaneous of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis with pulsed-amperometric detection. Talanta, (2012), 527-531.*
4. Tormin, T. F., Cunha, R. R., Richter, E. M., Muñoz, R. A. A. *Determinação rápida de hidroquinona usando análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica. Artigo em análise para publicação. Química Nova, (2012).*

6.2. TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

1. Duarte, A. P. S., Marra, M. C., Tormin, T.F., Gimenes, D. T., Muñoz R. A. A., Richter E. M. *Determinação de aspirina, ácido salicílico e cafeína em formulações farmacêuticas usando BIA com detecção amperométrica. (Apresentação na forma de pôster). 34ª Reunião Anual da SBQ. Fortaleza – CE / 23 a 26 de maio de 2011.*
2. Tormin, T. F., Gimenes, D. T., Richter E. M., Muñoz R. A. A. *Determinação rápida e direta de butil-hidróxi-anisol (BHA) em biodiesel por análise por injeção em batelada com detecção amperométrica. (Apresentação oral). XVIII SIBEE. Bento Gonçalves – RS / 28 ago. a 01 de setembro de 2011.*
3. Gimenes, D. T., Pereira, P. F., Tormin, T. F., Freitas, J. M., Muñoz R. A. A., Richter E. M. *Determinação rápida e simultânea de diclofenaco e codeína usando FIA com detecção amperométrica pulsada. (Apresentação oral). XVIII SIBEE. Bento Gonçalves – RS / 28 ago. a 01 de setembro de 2011.*

4. Cunha, R. R., Tormin, T. F., Richter E. M., Muñoz R. A. A. *Determinação rápida e direta de Hidroquinona (HQ) na presença de Bissulfito de Sódio (BS) e Ácido Ascórbico (AA) por BIA com detecção amperométrica. (Apresentação oral).* XVIII SIBEE. Bento Gonçalves – RS / 28 ago. a 01 de setembro de 2011.
5. Silva R. A. B., Gimenes D. T., Tormin T. F., Muñoz R. A. A., Richter E. M. *“Batch Injection Analysis” com determinação amperometria pulsada: aplicação em determinações simultâneas. (Apresentação oral).* XVIII SIBEE. Bento Gonçalves – RS / 28 ago. a 01 de setembro de 2011.
6. Montes, R. H. O., Tormin, T. F., Castro, F. M., Richter E. M., Muñoz R. A. A. *Desenvolvimento de método amperométrico para determinação seletiva de sulfito. . (Apresentação na forma de pôster).* 16º Encontro Nacional de Química Analítica. Campos do Jordão – SP / 23 a 26 de outubro de 2011.
7. Silva, L. A. J., Tormin, T. F., Muñoz R. A. A., Richter E. M., Oliveira, A. C. *Estudos iniciais para a determinação amperométrica em amostras de chá utilizando análise por injeção em batelada (BIA) e eletrodo de diamante dopado com boro. (Apresentação na forma de pôster).* XX Congresso da Sociedade Iberoamericana de Eletroquímica. Fortaleza – CE / 26 a 30 de março de 2012.