



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia
Programa de Pós Graduação em Química – Mestrado



**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA SIMULTÂNEA DE
ANTIOXIDANTES EM BIODIESEL EMPREGANDO ELETRODOS
IMPRESSOS DE CARBONO/NANOTUBOS DE CARBONO**

Ricardo Pini Caramit

Orientador: Profº. Dr. Valdir Souza Ferreira
Coorientador: Profº. Dr. Magno A. G. Trindade

Campo Grande – 2012



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia
Programa de Pós Graduação em Química – Mestrado



DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA SIMULTÂNEA DE ANTIOXIDANTES EM BIODIESEL EMPREGANDO ELETRODOS IMPRESSOS DE CARBONO/NANOTUBOS DE CARBONO

Ricardo Pini Caramit

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química – Nível de
Mestrado – da Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul para obtenção do título
de Mestre em Química (área de
concentração: Físico-Química).

Orientador: Profº. Dr. Valdir Souza Ferreira
Coorientador: Profº. Dr. Magno A. G. Trindade

Campo Grande – 2012



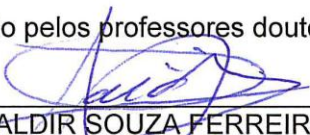
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL DE MESTRADO EM QUÍMICA

**TERMO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO
DE
RICARDO PINI CARAMIT**

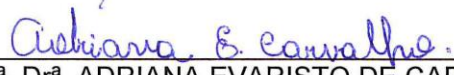
**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA E SIMULTÂNEA DE ANTIOXIDANTES EM
BIODIESEL EMPREGANDO ELETRODOS IMPRESSOS DE CARBONO/NANOTUBOS
DE CARBONO**

Dissertação de Mestrado em Química submetida à Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação – Nível de Mestrado em Química (**Resolução nº 8/2012**) da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Química.

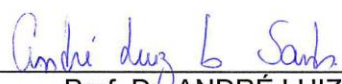
Aprovada com revisão pelos professores doutores:



Prof. Dr. VALDIR SOUZA FERREIRA
Orientador e Presidente da Comissão Examinadora
UFMS



Prof^a. Dr^a. ADRIANA EVARISTO DE CARVALHO
UFGD



Prof. Dr. ANDRÉ LUIZ DOS SANTOS
UFU

Campo Grande, 27 de fevereiro de 2012.

“Disse a flor para o pequeno príncipe: é preciso que eu suporte duas ou três larvas se quiser conhecer as borboletas.”

Antoine de Saint-Exupéry

Aos meus bens mais preciosos deste mundo, os meus pais,

Waldemar Caramit e Noemi Pini Caramit,

o meu amor, o meu carinho, a minha admiração e o meu muito
obrigado, por estarem todos esses anos ao meu lado, guiando-me em
todos os passos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

-  Primeiramente, ao Deus, a quem tem me ajudado nos momentos mais difíceis me protegendo com Sua santa mão, dando a mim o direito de viver todos os dias, com muita paz e saúde.
-  Ao Prof. Dr. Valdir Souza Ferreira, pela oportunidade, orientação, incentivo, amizade e pela grande confiança em mim depositada.
-  Ao Prof. Dr. Magno Trindade, pelo imenso apoio, coorientação, ajudas, discussões e pelo grande esforço demonstrado, por mais que longe, sempre presente de alguma forma.
-  A Prof. Dr^a. Tatiane Alfonso de Araújo, pelo imenso apoio no desenvolvimento deste trabalho e pela grande amizade conquistada.
-  Ao LABCOM, sob a coordenação do Prof. Dr. Luiz Henrique Viana, por fornecer as amostras de biodiesel para a realização deste trabalho.
-  Aos meus grandes amigos construídos no mestrado: Rodrigo Pereira, Juliana Jorge, Luna Venarusso.
-  A minha grande amiga desde a época da graduação, Daiane Santana (@juiceinbox), pela grande amizade.
-  A Adriana Garabini, por realizar os experimentos cromatográficos deste trabalho e por compartilhar os

*problemas enfrentados nesta pesquisa, que não foram poucos.
Muito Obrigado!*

-  *As amígdalas conquistadas no Grupo de Pesquisa de Eletroquímica e Eletroanalítica do Pantanal da UFMS.*
-  *Aos amigos especiais do LP5 como: Carô, Giselle, Dani, Joseane, Vanessa Oliveira, Vanessa Mayumi, Michelly, Jack, Hebert, Gemima e dentre outros.*
-  *Aos demais amigos do LP4 e LP6.*
-  *Aos professores do Departamento de Química da UFMS.*
-  *A Secretaria de Pós-Graduação em Química, pelo atendimento prestado durante os dois anos do mestrado.*
-  *A Capes, pela concessão das bolsas e ao CNPq e FUNDECT por fornecer os recursos para que este trabalho fosse desenvolvido.*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	<i>i</i>
LISTA DE TABELAS	<i>iv</i>
LISTA DE ESQUEMAS	<i>v</i>
LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS	<i>vi</i>
RESUMO	<i>ix</i>
ABSTRACT	<i>x</i>
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Tecnologia e produção do biodiesel.....	2
1.1.1. Fontes.....	2
1.1.2. Processos de produção do biodiesel.....	2
1.1.3. Reação de transesterificação.....	3
1.2. Efeito do uso de antioxidantes no controle da emissão de poluentes.....	4
1.3. Estabilidade Oxidativa.....	6
1.4. Antioxidantes	8
1.4.1. Antioxidantes Naturais	8
1.4.2. Antioxidantes Sintéticos	9
1.5. Antioxidantes em Biodiesel	10
1.6. Metodologias para determinação de antioxidantes	13
1.6.1. Cromatografia a Gás	13
1.6.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	14
1.6.3. Técnicas Eletroanalíticas	15

1.7. Surfactantes	17
1.8. Eletrodos Impressos	19
1.8.1. Aplicações de EIs em Eletroanalítica	20
1.9. Objetivos	22
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	23
2.1. Reagentes, Soluções e Amostra	23
2.1.1. Reagentes	23
2.1.2. Soluções	23
2.1.3. Amostra	24
2.2. Equipamentos	24
2.3. Procedimento Experimental	25
2.3.1. Experimentos Voltamétricos	25
2.3.2. Aditivação das amostras de biodiesel com antioxidantes	26
2.3.3. Determinação de TBHQ e BHA em amostras de biodiesel	26
2.3.4. Experimentos Cromatográficos	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
3.1. Comportamento voltamétrico dos antioxidantes TBHQ e BHA	29
3.2. Oxidação Eletroquímica de TBHQ e BHA a Partir do Uso de Diferente Técnicas Voltamétricas	32
3.3. Influência do tipo de surfactante	33
3.4. Efeito do pH do eletrólito de suporte	39
3.5. Estudo da concentração do surfactante	40
3.6. Curva Analítica	42
3.6.1 Ausência da matriz	42
3.6.2 Presença da matriz	44
3.7. Determinação de TBHQ e BHA em Amostras de Biodiesel	47

3.8. Comparação entre os resultados obtidos com a metodologia eletroanalítica e o método descrito na literatura usando a CLAE	51
CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS.....	54

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Estrutura química de alguns antioxidantes sintéticos [14]..... 10
- Figura 2 – Ilustração de eletrodo de carbono impresso em cerâmica (screen-printed electrode). R = eletrodo de referência (pseudo Ag), A = eletrodo auxiliar (tinta de Carbono), W = eletrodo de trabalho (tinta de Carbono) e C = contato elétrico 20
- Figura 3 – Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica de TBHQ e BHA sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito suporte; (b) $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de TBHQ; (c) $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de BHA; (d) $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de TBHQ e $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de BHA. $\nu = 150$ mV s⁻¹..... 30
- Figura 4 – Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica de $3,12 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de TBHQ e $2,88 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de BHA em meio de tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito suporte; (b) ECV; (c) EINC-PM. $\nu = 150$ mV s⁻¹..... 31
- Figura 5 – Voltamogramas de varredura linear **(A)** ($\nu = 150$ mV s⁻¹) e voltamogramas de onda quadrada **(B)** ($f = 40$ Hz, $E_{sw} = 30$ mV e $E_s = 5$ mV) registrados para oxidação eletroquímica de TBHQ e BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito suporte; (b) $3,12 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de TBHQ e $2,88 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de BHA 33
- Figura 6 – Estrutura química dos surfactantes: (a) aniônico: Dodecil sulfato de sódio (DSS), (b) neutro: Triton X-100 (TX-100) e (c) catiônico: Brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA) 34
- Figura 7 – Voltamogramas de varredura linear registrados para oxidação eletroquímica de $1,99 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito de suporte e (b) na presença de $1,09 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ DSS; (c) $1,99 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ BHA e (d) na presença de $1,09 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ DSS. $\nu = 150$ mV s⁻¹..... 35
- Figura 8 – Voltamogramas de varredura linear registrados para oxidação eletroquímica de $1,99 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito de suporte e (b) na presença de $1,14 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ TX-100; (c) $1,99 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ BHA e (d) na presença de $1,14 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ TX-100. $\nu = 150$ mV s⁻¹ 36
- Figura 9 – Voltamogramas de varredura linear registrados para oxidação eletroquímica de $1,99 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito de suporte e (b) na presença de $1,04 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ BCTA; (c) $1,99 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ BHA e (d) na presença de $1,04 \times 10^{-4}$

mol L ⁻¹ BCTA. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	37
Figura 10 – Influência do pH na resposta de I_{pa} em VVL para uma solução de (a) $4,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e (b) $5,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0 – 10,0) contendo 2% de metanol. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	38
Figura 11 – Influência do pH na resposta da corrente de pico (A) e do potencial de pico (B) para oxidação eletroquímica de (a) $4,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e (b) $5,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0 – 10,0) contendo 2% de metanol. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	40
Figura 12 – Influência do aumento da concentração de BCTA na resposta da corrente de pico (A) e do potencial de pico (B) para a oxidação eletroquímica de $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0 – 10,0) contendo 2% de metanol. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	41
Figura 13 – Voltamogramas de varredura linear registrados para a oxidação eletroquímica de TBHQ e BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 2% de metanol: (a) Eletrólito de suporte, (b) $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,45 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA e (c) na presença de $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ BCTA. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	41
Figura 14 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte, (b-i) $(0,8-10,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (A) TBHQ, mantendo a concentração do BHA constante em $3,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e (B) BHA, mantendo a concentração do TBHQ constante em $4,50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. (Inserção) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração do (A) TBHQ e (B) BHA. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	43
Figura 15 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte, (b-i) $(0,8-10,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e BHA. (Inserção) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração do TBHQ (A) e BHA (B) . $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	44
Figura 16 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol, 40 μ L de solução amostra do biodiesel não contaminado com antioxidantes (ver preparo seção 2.3.3) e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte, (b-l) $(0,5-10,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (A) TBHQ, mantendo a concentração do BHA constante em $4,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e (B) BHA, mantendo a concentração do TBHQ constante em $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. (Inserção) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração do (A) TBHQ e (B) BHA. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	45
Figura 17 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 2% de metanol, 40 μ L de solução amostra do biodiesel não contaminado com antioxidantes (ver preparo seção 2.3.3) e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte, (b-l) $(0,5-10,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e BHA. (Inserção) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração do TBHQ (A) e BHA (B) . $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$	46

Figura 18 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte e 40 μL da amostra de biodiesel sem contaminação dos antioxidantes; (b) 40 μL da amostra do biodiesel contaminada com 670 mg L^{-1} de TBHQ e 341 mg L^{-1} de BHA, (c-e) adições sucessivas de 30,0 μL da solução padrão $4,18 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e $1,93 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BHA. **(Inserção)** Curvas de adição de padrão do TBHQ (A) e BHA (B). $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$ 49

Figura 19 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte e 40 μL da amostra de biodiesel sem contaminação dos antioxidantes; (b) 40 μL da amostra do biodiesel contaminada com 330 mg L^{-1} do TBHQ e 642 mg L^{-1} do BHA, (c-e) adições sucessivas de 30,0 μL da solução padrão $1,98 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e $4,11 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BHA. **(Inserção)** Curvas de adição de padrão do TBHQ (A) e BHA (B). $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$ 49

Figura 20 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte e 40 μL da amostra de biodiesel sem contaminação dos antioxidantes; (b) 40 μL da amostra do biodiesel contaminada com 482 mg L^{-1} do TBHQ e 497 mg L^{-1} do BHA, (c-e) adições sucessivas de 30,0 μL da solução padrão $3,14 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e $2,70 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BHA. **(Inserção)** Curvas de adição de padrão do TBHQ (A) e BHA (B). $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$ 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Molécula de tocoferol com representação de seus, respectivos, isômeros [19]	9
Tabela 2 – Resumo de métodos voltamétricos disponíveis na literatura para determinação de antioxidantes em diversas amostras	16
Tabela 3 – Resumo de métodos voltamétricos disponíveis na literatura para determinação de antioxidantes em amostras de biodiesel	17
Tabela 4 – Parâmetros obtidos da curva analítica mostrada na Figura 17 para TBHQ ..	47
Tabela 5 – Parâmetros obtidos da curva analítica mostrada na Figura 17 para BHA	47
Tabela 6 – Resultados obtidos para as determinações de TBHQ e BHA em biodiesel empregando a metodologia eletroanalítica proposta utilizando EINC-PM na presença do surfactante BCTA, sob a técnica de voltametria varredura linear	51
Tabela 7 – Parâmetros analíticos obtidos dos cromatogramas da curva analítica para TBHQ e BHA	52
Tabela 8 – Resultados obtidos para as determinações de TBHQ e BHA em biodiesel empregando a metodologia cromatográfica	52

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Reação de transesterificação do triglicerídeo [3].....	3
Esquema 2 – Formação de óxido de nitrogênio pelo mecanismo de Zeldovich [10].....	5
Esquema 3 – Reação de oxidação do biodiesel [14, 15, 17, 19].....	7
Esquema 4 – Mecanismo da oxidação do antioxidante TBHQ proposto por De La Fuente e colaboradores [63] em meio de tampão 0,1 mol L ⁻¹ (pH 1,2) contendo 0,4% de metanol	30
Esquema 5 – Mecanismo da oxidação do antioxidante BHA proposto por De La Fuente e colaboradores [63] em meio de tampão 0,1 mol L ⁻¹ (pH 1,2) contendo 0,4% de metanol	30
Esquema 6 – Mecanismo da redução de TBQ proposto por De La Fuente e colaboradores [63] em meio de tampão 0,1 mol L ⁻¹ (pH 1,2) contendo 0,4% de metanol	32

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

2-ENH: 2-etil hexil nitrato

B5: mistura de 5% de biodiesel puro com 95% de diesel fóssil

B20: mistura de 20% de biodiesel puro com 80% de diesel fóssil

B100: biodiesel puro

B-R: Britton-Robinson

BCTA: brometo de cetiltrimetilamônio

BHA: 2-*t*-butil-4-metoxifenol

BHT: 2,6-di-*t*-butil-4-metilfenol

CG: cromatografia a gás

CG-EM: cromatografia a gás acoplada ao sistema de detecção espectrométrico

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

CO: monóxido de oxigênio

CO₂: dióxido de oxigênio

CT: catecol

CTMA: cloreto de tetrametilamonio

DPR: desvio padrão relativo

DSS: dodecil sulfato de sódio

E: potencial

ECC: eletrodo compósito de carbono

ECV: eletrodo de carbono vítreo

EDDB: eletrodo de diamante dopado com boro

EINC-PM: eletrodo impresso de carbono modificado nanotubo de carbono parede múltipla.

EIs: eletrodos impressos

E_s: incremento de aplicação dos pulsos

E_{sw}: amplitude de aplicação dos pulsos

f: frequência

GP: galato de propila

HAPs: hidrocarbonetos policíclico aromáticos

HMDE: eletrodo de mercúrio de gota pendente

HT: hidrocarbonetos totais

I: luz e calor

I_{pa}: corrente de pico anódica

LABCOM-MS: Laboratório de Combustíveis do Estado de Mato Grosso do Sul

N₂: nitrogênio atmosférico

MEFC: microeletrodos de fibra de carbono

nm: nanômetro

NO: óxido de nitrogênio

NO_x: óxidos de nitrogênio

O₂: oxigênio atmosférico

PTEA: perclorato de tetraetilamonio

PVC: policloreto de vinila

PG: pirogalol

RCOOR[·]: radical livre do ácido graxo

RCOORH: ácido graxo

SB-14: Solvent Blue 14

SO₂: dióxido de enxofre

T: tocoferóis

TBQ: *t*-butilquinona

TBHQ: *t*-butilhidroquinona

TX-100: Triton X-100

UME: ultramicroeletrodo

UV: ultravioleta

VOQ: voltametria de onda quadrada

VVL: voltametria de varredura linear

RESUMO

Neste trabalho é apresentado o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para detecção e quantificação simultânea de *t*-butilhidroquinona (TBHQ) e *t*-butilhidroxianisol (BHA) em biodiesel usando a voltametria de varredura linear e eletrodos impressos. A solução do eletrólito de suporte foi composta de tampão Britton-Robinson ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) contendo metanol (2,0%) e surfactante catiônico brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA). Na presença de surfactante catiônico, a intensidade da corrente de pico, para ambos os antioxidantes estudados, aumentou significativamente bem como a resolução voltamétrica. Usando as condições otimizadas, o método apresentou resposta linear no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para TBHQ ($r = 0,999$) e BHA ($r = 0,999$) com detecção limite de $3,40 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,76 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O método proposto foi aplicado com sucesso para a quantificação de TBHQ e BHA em amostra de biodiesel, após uma diluição em etanol, com recuperações entre 97,90 a 110,0 e 91,90 a 101,1 %, respectivamente. Os resultados obtidos foram satisfatórios quando comparados com os obtidos usando a cromatografia líquida de alta eficiência. Além disso, o método proposto pode ser adaptado para análises de campo.

Palavras-chaves: biodiesel; antioxidantes; surfactantes; eletroanálises; eletrodos impressos.

ABSTRACT

In this work is presented the development of an electroanalytical method for the simultaneous detection and quantification of *t*-butylhydroquinone (TBHQ) and *t*-butylhydroxyanisole (BHA) in biodiesel using voltammetric technique and screen-printed electrodes. The supporting electrolyte solution was composed by Britton–Robinson buffer (0.04 mol L^{-1}) containing methanol (2.0%) and the cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide. In the presence of cationic surfactant, the peak current intensity, for both studied antioxidants, increased significantly as well as the voltammetric resolution. Using the optimized condition, the method presented linear response in the concentration range of 5.0×10^{-7} to $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ for TBHQ ($r = 0.999$) and BHA ($r = 0.999$) with detection limit of $3.40 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ and $1.76 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectively. The proposed method was successfully applied for the quantification of TBHQ and BHA in biodiesel samples after a simple and rapid dilution sampling with recoveries value between 97.90 to 110.0 and 91.90 to 101.0 %, respectively. The obtained results were satisfactory when compared with those obtained using high-performance liquid chromatography. Additionally, the proposed method might be easily adapted for on-site analysis.

Keywords: biodiesel; antioxidants; surfactants; electroanalysis, screen-printed electrodes.

1. INTRODUÇÃO

Com o aumento dos preços de combustíveis fósseis, decorrente da prevista escassez desta fonte de energia não renovável, combinado com seus problemas poluentes, têm contribuído para discussão sobre a necessidade de novas fontes energéticas. As consequências ambientais causadas pelo aumento da emissão de compostos poluentes devido ao crescimento da frota de veículos automotores incentivaram a busca por fontes alternativas de energia, a fim de substituir o diesel derivado de petróleo [1-3].

O biodiesel é uma fonte alternativa de energia renovável, que permite a redução na emissão de gases poluentes, intensificadores do efeito estufa. Além disso, o biodiesel pode promover a inserção das comunidades rurais na economia, com a produção de recursos renováveis contribuindo para novas oportunidades de investimento [4-6].

A definição adotada pela Lei nº 11.097, de 13 de setembro de 2005, que introduziu o biodiesel na matriz energética brasileira é: *“biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”* [6].

Com o crescente interesse pelo grande potencial do biodiesel contribuir com a matriz energética global, tem se discutido normas que possam avaliar a qualidade deste biocombustível. Desta maneira, normas foram e estão sendo estabelecidas por diversos países: Estados Unidos (ASTM D 6751), Europa (EN 14214), Alemanha (DIN V 5106), Brasil, África do Sul entre outros [2, 5, 6].

1.1. Tecnologia e produção do biodiesel

1.1.1. Fontes

Atualmente, diversas fontes de óleos vegetais são encontradas para a produção de biodiesel. No Brasil, o óleo de soja é a fonte mais utilizada para a produção do biocombustível [3, 7]. No entanto, outras fontes, tais como: colza, girassol, dendê, babaçu, amendoim, algodão, óleo de palma e etc., também podem ser utilizados no processo produção do biodiesel [3].

Dentre as diversas fontes para a produção do biocombustível, diferentes composições de ácidos graxos podem ser encontradas na sua formação durante a reação de transesterificação. Essas diferentes composições podem ser obtidas quanto ao comprimento das cadeias, grau de insaturação ou presença de outras funções químicas nos ácidos graxos. Estas variedades de ácidos graxos podem influenciar significativamente na qualidade do biodiesel devido ao: índice de cetano, ponto de combustão, ponto de fusão, viscosidade entre outras propriedades físico-químicas [3, 7].

1.1.2. Processos de produção do biodiesel

A utilização de óleos vegetais diretamente nos motores a diesel pode causar alguns problemas como: diminuição na produção de energia e eficiência do motor, contaminação pela formação de gomas e depósitos de carbono. Outras desvantagens que são observadas pela utilização de gorduras de origem animal referem-se à alta viscosidade – 11 a 17 vezes maior do que o óleo diesel convencional – e a menor volatilidade, podendo provocar a formação de depósitos de carbono, devido à combustão incompleta desse biocombustível [3].

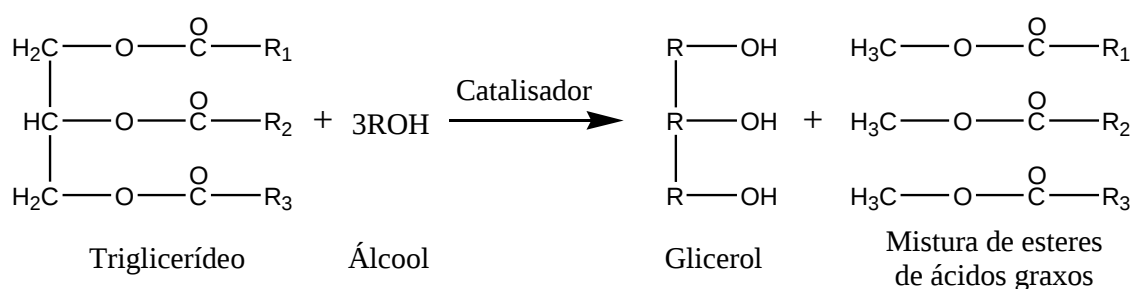
Atualmente, o método mais utilizado para a produção de biodiesel é a reação de transesterificação. Este método tem apresentado vantagens quanto a redução da viscosidade e o aumento da volatilidade do biodiesel, contribuindo decisivamente para uma melhor eficiência do motor bem como maior produção deste biocombustível [3, 7].

A transesterificação consiste na reação de óleos vegetais (triglicerídeos) – na presença de catalisadores básicos ou ácidos – e um álcool de cadeia pequena que, na maioria das vezes, é usado o metanol. Após a reação, os produtos formados consistem de uma mistura de ésteres de ácidos graxos, glicerol, álcool, catalisador e uma baixa porcentagem de tri-, di- e monoglicerídeos [3, 7].

A nomenclatura dada ao biodiesel puro (100% de ésteres de ácidos graxos) é B100. Em misturas de biodiesel com o óleo diesel a designação indica a quantidade de B100 na mistura, por exemplo, B5 (já adotado por vários países) contem uma mistura de 5% de B100 com 95% de diesel fóssil [3, 7].

1.1.3. Reação de transesterificação

Tal como mencionado anteriormente, a produção de biodiesel é realizada a partir de uma reação de transesterificação de óleos vegetais (triacilgliceróis) ou gordura animal na presença de um catalisador, ácido ou básico, levando a formação de ácidos graxos (**Esquema 1**). Um excesso de álcool é utilizado para deslocar a reação para a formação de ésteres [1]. O glicerol, subproduto da reação, é retirado no processo de produção, pois pode provocar danos no motor além de contribuir para emissões de gases poluentes [7]. No entanto, mesmo sendo indesejável, pequenas quantidades de glicerol (limite permitido por diversas legislações: 0,25% m/m) são encontradas no produto final da reação do biodiesel, assim como os produtos intermediários [2, 5].



Esquema 1 – Reação de transesterificação do triglicerídeo [3].

Embora, os catalisadores utilizados nas reações de transesterificação possam ser ácidos ou básicos [3], geralmente utiliza-se uma base forte com sódio. Porém, por

questões econômicas, o hidróxido de potássio é mais utilizado por ter um baixo custo em relação aos outros catalisadores [2-3, 7].

A reação pode ser influenciada por diversos fatores, tais como, razão molar de óleo vegetal/catalisador, temperatura, tempo de reação, presença de água (que pode ser absorvida durante o armazenamento do biocombustível) e ácidos livres. Entretanto, dentre os fatores apresentados, é observado uma maior influência na reação de transesterificação para quantidade razão molar do triglicerídeo com o álcool [2-3]. A temperatura também tem sido um fator importantíssimo durante a reação de produção do biodiesel. Temperaturas superiores a 35°C causam a perda do catalisador, devido à saponificação [2, 3]. Além disso, a presença de água pode promover o crescimento microbiano, levando a uma possível corrosão do tanque, contribuindo para a formação de emulsões, bem como causar hidrólise e oxidação hidrolítica [2, 7].

1.2. Efeito do uso de antioxidantes no controle da emissão de poluentes

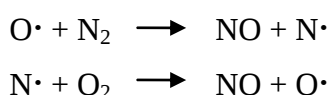
Nos últimos anos, muitos pesquisadores têm se preocupado em encontrar soluções para os problemas relacionados à poluição causada pelo uso de combustíveis fósseis. Exigências de órgãos governamentais têm sido cada vez mais rigorosas a respeito das emissões de gases relacionadas à queima de combustível [3]. Desta forma, estudos têm avaliado a emissão destes compostos a partir da combustão do óleo diesel e biodiesel [8-9].

Os principais poluentes que são formados pela combustão de diesel fóssil são: formaldeído, acroleína, dióxido de enxofre (SO₂), monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO₂), óxidos de nitrogênio (NO_x), hidrocarbonetos totais (HT), hidrocarbonetos policíclico aromáticos (HAPs), benzeno, sulfato e entre outros, os quais também podem causar efeitos carcinogênicos na população. Dentre todos os combustíveis disponíveis no mercado, o óleo diesel, é o que provoca a maior emissão desses compostos poluentes [3, 8-9].

A busca por combustíveis alternativos, a fim de reduzir os impactos ambientais causados pela emissão de gases poluentes pela queima de combustíveis derivados do petróleo, teve um aumento considerável nos últimos anos. Desta forma, aumentou-se o interesse pelos biocombustíveis, devido à redução considerável na emissão de produtos

formados pela combustão, tais como: HAPs, CO, CO₂, SO₂ e HT [3, 9]. Na literatura são encontrados diversos estudos comprovando que a queima do biodiesel, puro ou em misturas com diesel fóssil, pode reduzir significativamente a emissão de compostos que afetam a qualidade do ar. Entretanto, alguns estudos reportam que, mesmo o biodiesel apresentando estas características vantajosas, ainda há emissão considerável de compostos a base de NO_x, quando o biocombustível é utilizado na ausência de antioxidantes. Neste sentido, há uma preocupação em controlar a emissão destes compostos, principalmente, em áreas que estão sujeitas a regulamentações governamentais mais rígidas, nas quais visam melhorar a qualidade do ar em áreas urbanizadas e em parques nacionais. Desta forma, é necessário alternativas que possibilitem reduzir a emissão de compostos a base de NO_x a níveis comparáveis àqueles emitidos pelo diesel fóssil [3, 9-10].

Hess e colaboradores [10] estudaram a emissão de compostos NO_x na combustão de biodiesel. Os autores propuseram dois mecanismos (Zeldovich e Fenimore) para explicar a formação dos compostos NO_x. Porém, o mecanismo de Fenimore, se trata de reações mais complexas, no qual envolve várias etapas. No mecanismo de Zeldovich, o óxido de nitrogênio (NO) é formado pela oxidação de nitrogênio (N₂) e oxigênio (O₂) atmosférico com radicais livres de oxigênio e nitrogênio, respectivamente, cujos mecanismos podem ser visualizados no **Esquema 2** [10].



Esquema 2 – Formação de óxido de nitrogênio pelo mecanismo de Zeldovich [10].

Em temperaturas mais elevadas, é observada uma maior emissão de compostos de monóxido de nitrogênio (NO), devido ao aumento da taxa de dissociação de oxigênio atmosférico (O₂) [10].

Na literatura são encontrados diversos estudos que analisaram o aumento e o controle da emissão de NO_x com a adição de antioxidantes ao biodiesel [8, 10-11]. Os antioxidantes inibem a oxidação do biodiesel, bloqueando reação que promove a formação de radicais livres, impossibilitando a formação de compostos nitrogenados [10-11].

Em vista de tais problemas, McCormick e colaboradores [11], estudaram os efeitos da redução da emissão de NO_x, quando antioxidantes foram adicionados em

biodiesel. Os autores observaram que a estabilização do biodiesel com a adição do antioxidante *t*-butilhidroquinona (TBHQ), reduz a emissão de NO_x, gerados pela combustão do biodiesel, e concluíram que o uso de antioxidantes pode ser uma alternativa eficiente para a redução na emissão destes compostos poluentes [11].

Hess e colaboradores [10], também avaliaram a redução da emissão de NO_x com a adição de antioxidantes em biodiesel. Os autores estudaram a influência de diversos antioxidantes em amostras de B20 (mistura de 20% de biodiesel puro B100 e 80% de diesel fóssil) e observaram a redução da emissão de compostos nitrogenados. Os antioxidantes que proporcionaram uma maior redução foram 2-*t*-butil-4-metoxifenol (BHA) e 2-etil-hexil-nitrato (2-EHN). Antioxidantes como α -tocoferol e difenilamina, não foram eficientes e contribuíram para uma maior emissão de compostos de NO_x. O efeito de sinergismo dos antioxidantes também foi avaliado pelos autores, no qual concluíram que a adição conjunta de TBHQ (500 mg L⁻¹) e BHA (500 mg L⁻¹) proporcionam uma redução efetiva na emissão de compostos nitrogenados a base de NO_x [10].

1.3. Estabilidade Oxidativa

O uso do biodiesel adicionado ao diesel fóssil tem crescido em todo o mundo bem como no Brasil, porém, o armazenamento deste biocombustível deve ser condicionado a alguns fatores, para que desta forma, seja garantida a qualidade do mesmo.

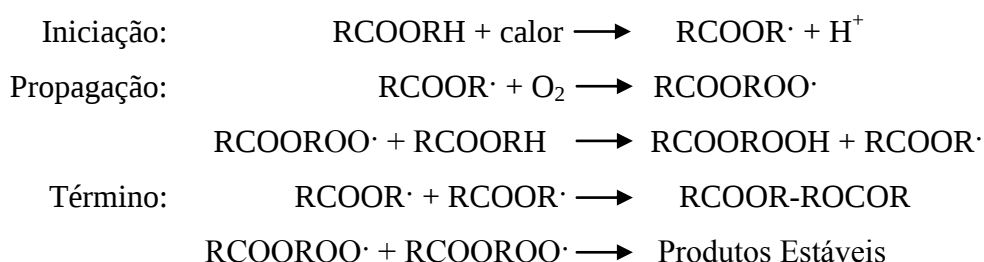
Portanto, a estocagem tem sido um dos problemas principais para garantir a qualidade do biodiesel – devido ao fato de que durante esse tempo – o mesmo tende a sofrer alterações nas suas propriedades físicas e químicas, devido a reações de natureza hidrolítica, microbiológica e oxidativa [7, 12].

Os processos de degradação do biodiesel podem ocorrer na presença de luz, ar, pró-oxidantes (hidroperóxidos e metais), altas temperaturas e materiais contaminantes diversos [2, 5, 7, 14-15], levando a formação de produtos indesejáveis, tais como: aldeídos, hidroperóxidos, ésteres, cetonas, ácidos e alcoóis. Esses produtos formados alteram as propriedades do biodiesel, como por exemplo: aumento no índice de acidez, índice de peróxidos, viscosidade cinemática, densidade, índice de iodo e o teor de polímeros [4-7, 14, 15]. Estes fenômenos podem acarretar diversos problemas ao motor, entre estes, o

entupimento dos filtros de combustível, sistema de injeção e a corrosão das partes metálicas do sistema [5, 14, 16].

A oxidação depende da natureza da matéria prima em que foi utilizada para a produção do biodiesel, devido aos diferentes tipos de ácidos graxos formados no final do processo. Desta forma, quanto maior o número de ligações duplas encontradas nos ácidos graxos (biodiesel), maior será a suscetibilidade a degradação [5, 14]. O mecanismo do processo de oxidação do biodiesel, descrito por vários autores, é composto por três etapas, as quais são enumeradas a seguir e mostradas no **Esquema 3** [14-15, 18].

- Iniciação – ocorre à formação dos radicais livres do ácido graxo ($\text{RCOOR}\cdot$) devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo (RCOORH), em condições favorecidas por luz e calor (I) [14, 18].
- Propagação – os radicais livres ($\text{RCOOR}\cdot$) que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico (O_2), são transformados em outros radicais, gerando produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura química depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico [14, 18].
- Término – radicais livres ($\text{RCOOR}\cdot$) combinam-se para formar produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por separação e rearranjo dos peróxidos [14, 18].



Esquema 3 – Reação de oxidação do biodiesel [14, 15, 17, 19].

A oxidação pode ser controlada com a adição de antioxidantes (sintéticos ou naturais) ao biodiesel, minimizando ou suprimindo os processos de degradação do biocombustível. Adicionalmente, é possível encontrar em literaturas específicas, vários trabalhos reportando os efeitos dos antioxidantes no controle da qualidade do biodiesel via processos oxidativos [12].

1.4. Antioxidantes

Antioxidantes são compostos químicos normalmente empregados com o objetivo de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Os antioxidantes podem ser classificados em dois tipos de fontes: naturais e sintéticos [18].

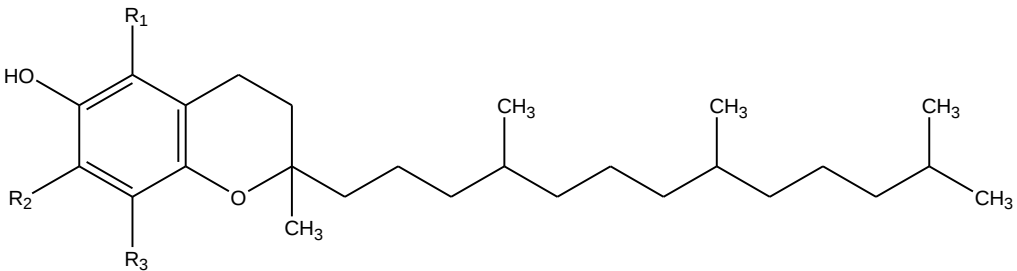
1.4.1. Antioxidantes Naturais

Entre os antioxidantes naturais mais conhecidos podem ser citados: tocoferóis e ácidos fenólicos [18].

Tocoferóis (T) são compostos fenólicos amplamente aplicados como meio para prevenir a oxidação de óleos e gorduras comestíveis, inibindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados, por ser um dos melhores dentre os antioxidantes naturais. Os tocoferóis estão presentes na maioria dos óleos vegetais, em alguns tipos de pescado e, atualmente, podem ser obtidos a partir de síntese orgânica [14, 18]

Estes compostos podem existir em quatro isômeros, os quais são classificados segundo a localização dos grupos metila no anel: α , β , γ , δ (**Tabela 1**). A atividade antioxidante dos tocoferóis é devido à capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a propagação das reações radicalares em cadeia [14, 18].

Tabela 1 – Molécula de tocoferol com representação de seus, respectivos, isômeros [19].

			
	R ₁	R ₂	R ₃
α - tocoferol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β - tocoferol	CH ₃	CH ₃	H
γ - tocoferol	H	CH ₃	CH ₃
δ - tocoferol	H	H	CH ₃

1.4.2. Antioxidantes Sintéticos

Os principais antioxidantes sintéticos utilizados nos estudos para análise da estabilidade oxidativa de biodiesel são: 2-*t*-butil-4-metoxifenol (BHA), 2,6-di-*t*-butil-4-metilfenol (BHT), galato de propila (GP) e *t*-butilhidroquinona (TBHQ).

A estrutura fenólica destes compostos (**Figura 1**) 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. Dessa maneira, estes antioxidantes transformam-se em radicais livres, entretanto, estes radicais podem se estabilizar sem promover ou propagar as reações de oxidação. O conhecimento da eficiência destes antioxidantes na preservação da qualidade de óleos insaturados de vegetais e sementes tem sido muito estudado na literatura, além disso, estudos recentes têm mostrado a eficiência destes antioxidantes em amostras de biodiesel [7, 14, 15, 18, 20-21].

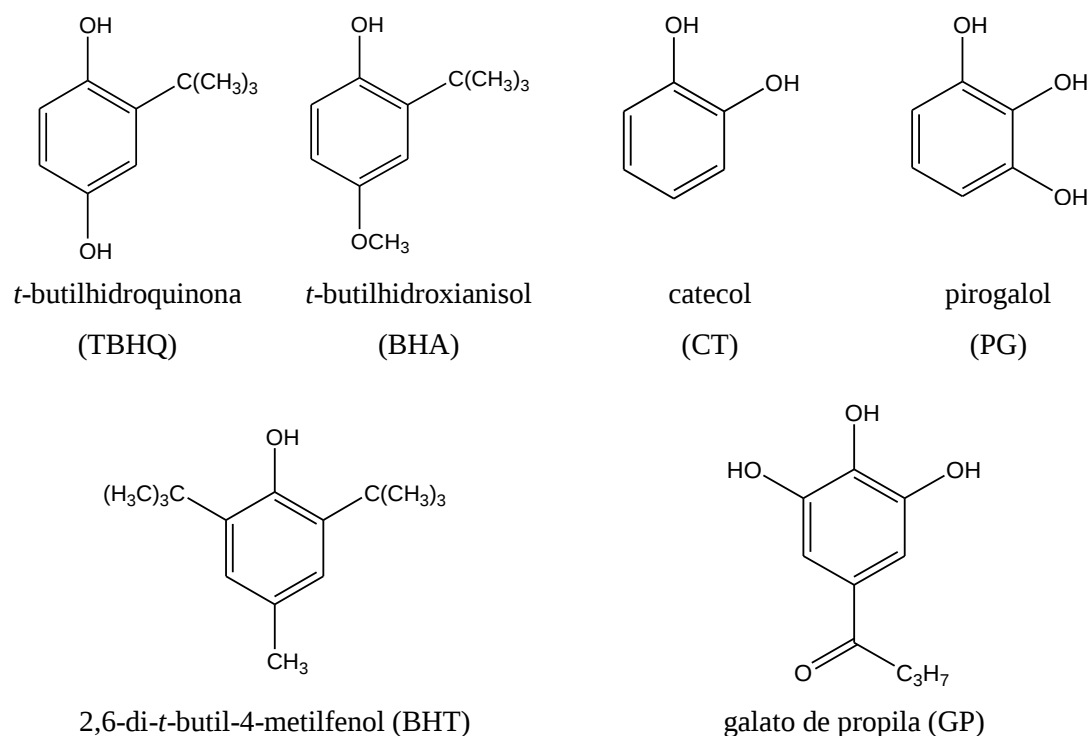


Figura 1 – Estrutura química de alguns antioxidantes sintéticos [14].

1.5. Antioxidantes em Biodiesel

Como anteriormente citado, diversos estudos avaliando o efeito de antioxidantes sintéticos no controle da estabilidade oxidativa do biodiesel são encontrados na literatura [7, 15, 20-21].

A legislação Europeia prevê a análise da estabilidade oxidativa do biodiesel a partir do método Rancimat (EN 14112). Este método consiste no aquecimento da amostra do biodiesel em uma célula a uma temperatura específica (110°C), com fluxo de ar constante, até a formação de compostos voláteis devido à sua degradação. Inicialmente, a oxidação é lenta e a condutividade constante, porém, devido à formação dos produtos de oxidação do biocombustível, é observado um aumento da condutividade, momento em que é caracterizado pelo “Período de Indução”. Este método, geralmente é utilizado para medir a eficiência de um antioxidante no controle da degradação do biodiesel [5, 7, 13, 15].

Sendo assim, antioxidantes tais como, pirogallol (PG), GP, BHA, BHT, TBHQ, tocoferóis, entre outros, têm sido empregados como aditivos retardantes do efeito de oxidação do biodiesel, garantindo uma maior estabilidade e prevenindo as mudanças de

suas propriedades físico-químicas [7, 20-21]. Considerando essa importância, a seguir serão apresentados alguns trabalhos destinados a este propósito.

Para exemplificar tais aplicações, Chaithongdee e colaboradores [15], avaliaram o efeito de antioxidantes sintéticos na estabilidade oxidativa do biodiesel obtido a partir do óleo de *Jatropha*, utilizando o método de Rancimat, comparando com o padrão Europeu (EN 14112). Os antioxidantes avaliados por esta metodologia foram: TBHQ, BHA e GP. De acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que o GP foi o melhor antioxidante, nas concentrações de 50 mg L⁻¹ a 750 mg L⁻¹. Resultados considerados satisfatórios se considerado que, a adição de 150 mg L⁻¹ de GP, foi a que resultou em propriedades aceitáveis pelas normas estabelecidas pela comunidade Europeia e normas norte-americana [15].

Mittelbach e Schober [22] estudaram a influência de diferentes antioxidantes sintéticos e naturais na estabilidade de oxidação do biodiesel (produzido a partir de diversas fontes de óleos vegetais). Os quatro antioxidantes sintéticos que foram utilizados foram: PG, GP, TBHQ e BHA, os quais mostraram um aumento no período de indução a partir da análise pelo método de Rancimat. De acordo com os autores, o antioxidante BHT não forneceu resultados satisfatórios na estabilidade de oxidação do biodiesel.

Dunn e colaboradores [23], também examinaram a eficácia de antioxidantes sintéticos e naturais em biodiesel de soja empregando o método de Rancimat. Os resultados apresentados mostraram maior atividade dos antioxidantes na estabilidade oxidativa do biodiesel com o aumento da concentração do antioxidante. Além disso, os antioxidantes sintéticos apresentaram melhores resultados que os antioxidantes naturais. Em outro trabalho, o mesmo autor estudou o efeito dos antioxidantes sintéticos e concluiu que TBHQ e BHA (em concentrações de até 3000 mg L⁻¹) contribuíram para uma melhor proteção do biodiesel frente aos processos oxidativos durante o período de estocagem [23-24].

Tang e colaboradores [25] analisaram a influência de antioxidantes sintéticos e naturais em biodiesel de soja. Novamente, o método Rancimat foi empregado para avaliar os processos de oxidação degradativa, uma vez que este é o método padrão recomendado pela legislação Europeia (EN 14112). Os resultados mostraram que os antioxidantes podem controlar a estabilidade oxidativa, sendo a combinação mais eficiente, a de TBHQ e BHA na concentração de 500 mg L⁻¹ [25].

Maia e colaboradores [26] avaliaram o efeito de: TBHQ, BHA e BHT na estabilidade oxidativa do biodiesel de soja, utilizando o método de Rancimat. Os resultados indicaram que os antioxidantes usados, separadamente, inibiram a oxidação do biodiesel por mais de 6 horas, tempo de indução exigido pela norma Europeia (EN 14112).

Guzman e colaboradores [27] examinaram a eficácia de antioxidantes sintéticos e o sinergismo na estabilidade oxidativa do biodiesel de soja. Os resultados mostram que os antioxidantes (BHA, GP, PG e TBHQ) apresentaram maior período de indução em biodiesel com quantidade menor de compostos poliinsaturados. O sinergismo dos antioxidantes variou de acordo com a matéria-prima utilizada para produção do biocombustível. O melhor efeito sinérgico dos antioxidantes, observado na estabilidade dos processos oxidativos do biodiesel de soja, foi encontrado para a mistura de TBHQ e BHA na proporção de 2:1 em concentração total de 1000 mg L⁻¹ [27].

O efeito de antioxidantes sintéticos também foi estudado por Domingos e colaboradores [28]. Neste caso, foi avaliado o período de indução de uma amostra de ésteres etílicos de óleo de soja de baixa estabilidade à oxidação, empregando o método Rancimat (EN14112). Dentre os antioxidantes sintéticos avaliados, o BHT apresentou maior eficiência nas concentrações compreendidas entre 200 e 7000 mg L⁻¹. O TBHQ apresentou maior potencial estabilizador quando utilizado em concentrações mais elevadas, enquanto que o BHA mostrou-se pouco efetivo, neste estudo, com as amostras analisadas [28].

Ferrari e Souza [20] apresentaram um estudo no qual foi investigado a estabilidade do biodiesel produzido a partir de óleo de girassol. Neste trabalho, a influência dos antioxidantes BHA, BHT e TBHQ, foi estudada utilizando o teste de oxidação acelerada em estufa, índice de peróxido e estabilidade oxidativa a partir do teste de degradação em Rancimat. De acordo com os resultados obtidos o antioxidante TBHQ proporcionou melhores resultados e, portanto, foi indicado para preservação de ésteres etílicos de óleo de girassol.

Portanto, prevenir a oxidação do biodiesel é uma grande preocupação, como mostrado em trabalhos citados nesta breve revisão. Neste contexto, o uso dos antioxidantes em biodiesel tem se tornado uma importante alternativa para resolver o problema da estabilidade oxidativa, possibilitando o armazenamento do biocombustível por um longo período sem comprometer a sua qualidade.

1.6. Metodologias para determinação de antioxidantes

Considerando a importância dos antioxidantes sintéticos para prevenir os processos oxidativos não somente do biodiesel, mas também outras matrizes, como por exemplo: óleos e gorduras, produtos alimentícios dentre outros, metodologias analíticas para avaliar quantitativamente estes compostos tem seu papel de destaque na qualidade do biodiesel. Devido a este fator, vários trabalhos também têm sido dedicados com a finalidade de se estabelecer metodologias que permitam identificar e determinar as concentrações destes antioxidantes. A seguir serão, sucintamente, resumidos alguns trabalhos descritos na literatura para determinação de antioxidantes naturais e sintéticos em diversos tipos de matrizes.

1.6.1. Cromatografia a Gás

A técnica de cromatografia a gás (CG) tem sido adotada por pesquisadores para o desenvolvimento de metodologias analíticas que possibilitam a determinação de antioxidantes em diversas amostras [29, 30]. Em geral, é acoplado a esta técnica, o detector por ionização em chama. Cita-se, inicialmente, o trabalho de Yang e colaboradores [31], que propuseram uma metodologia para determinação de TBHQ, BHA e BHT em diversas matrizes oleaginosas e gorduras comestíveis. Semelhantemente, Suh e colaboradores [32] desenvolveram uma metodologia para determinação dos mesmos antioxidantes com ênfase em amostras de óleos e gorduras comestíveis.

Alguns autores têm desenvolvido metodologias utilizando a cromatografia a gás acoplada ao sistema de detecção espectrométrico (CG-EM), cujo objetivo é determinar BHT em água potável. Estes estudos podem ser encontrados nos trabalhos realizados por Tombesi & Freije [33] e tubo de PVC por Hill e colaboradores [34], respectivamente.

1.6.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) tem sido amplamente utilizada por muitos pesquisadores para o desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de antioxidantes em diversos tipos de amostras, uma vez que esta técnica oferece seletividade, sensibilidade, rapidez e confiabilidade de análise. [29-30, 35-36].

Com o uso da técnica CLAE acoplado ao detector UV, Perrin e Meyer [37] publicaram um trabalho no qual determinaram BHA, BHT, TBHQ, PG, galato de octila em produtos alimentícios (óleos e gorduras); Pinho e colaboradores [38], propuseram uma metodologia analítica para determinação de BHA, BHT, TBHQ, GP, galato de octila em produtos de carne e Devi e colaboradores [39] publicaram uma metodologia para determinação de tocoferóis em produtos de cereais.

A CLAE também tem sido acoplada a outros tipos de detectores para determinação de antioxidantes. Dopico-García e colaboradores [40] utilizando a CLAE acoplada a um detector de arranjo de diodos ($\lambda=276\text{nm}$) e quantificaram os antioxidantes BHA e BHT, em produtos alimentícios. Hao e colaboradores [41] determinaram TBHQ em óleos vegetais comestíveis empregando a CLAE juntamente com um espectrômetro de massa por captura de íons.

Entretanto, considerando os estudos já relatados na literatura, os quais concluem a importante capacidade dos antioxidantes em inibir e controlar a rancidez oxidativa, proporcionando uma maior estabilidade a este biocombustível, é de fundamental importância controlar a presença destes antioxidantes no biodiesel. Após uma revisão bibliográfica detalhada nas ferramentas disponíveis na internet, encontrou-se um trabalho, publicado por Tagliabue e colaboradores [42] que propuseram uma metodologia utilizando a CLAE com detecção ultravioleta em 254 e 280 nm para determinação qualitativa e quantitativa de seis antioxidantes sintéticos (PG, pirocatecol, GP, TBHQ, BHT e ascorbil palmitato) em amostras de biodiesel.

1.6.3. Técnicas Eletroanalíticas

Por sua rapidez, sensibilidade e baixo custo, os métodos eletroquímicos de análises são empregados na determinação quantitativa de antioxidantes presentes em diversos tipos de amostras, bem como o estudo cinético dos antioxidantes [19, 43-62]. Os trabalhos têm mostrado a utilização de diferentes tipos de eletrodos de trabalho para o estudo destes antioxidantes como: microeletrodos de fibra de carbono [43-45], ultramicroeletrodos [46-49] carbono vítreo [50-53], platina [19, 54-55], diamante dopado com boro [56-59], pasta de carbono [60-63].

A **Tabela 2** apresenta um resumo com informações adicionais referentes aos métodos eletroanalíticos disponíveis na literatura, os quais foram especialmente desenvolvidos para detecção e quantificação de alguns antioxidantes em diversas amostras.

Tabela 2 – Resumo de métodos voltamétricos disponíveis na literatura para determinação de antioxidantes em diversas amostras.

Antioxidante ^a	Amostra	Eletrodo ^b	Eletrólito ^c	pH	LQ (mol L ⁻¹)	Ref.
Tocoferol	Óleo vegetal	Platina	LiClO ₄	3,0	-	[19]
BHA , BHT	Batata palha	MEFC	PTEA	-	1,3×10 ⁻⁶ 1,0×10 ⁻⁶	[43]
GP	Sopa desidratada	MEFC	H ₃ PO ₄ /H ₂ PO ₄ ⁻	2,0	2,5×10 ⁻⁷	[44]
BHA , BHT	Óleo de milho	UME	ACN/0,1 M NaClO ₄	-	-	[46]
BHA , BHT	Óleo vegetal	UME	Ácido Sulfúrico	-	-	[47]
GP, BHA , BHT	Gorduras e óleos vegetais	UME	Vários eletrólitos	-	-	[48]
BHA , BHT	Óleos vegetais	UME	0,1 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄ /ACN	-	-	[49]
Tocoferol	Óleo vegetal	ECV	CTMA	2,9	-	[52]
BHT	Óleo	Platina	ACN/PTEA	-	-	[54]
TBHQ	Óleo comestível	Platina	-	-	-	[55]
BHA , BHT	Maionese, margarina	EDDB	Nitrato de Potássio	1,5	-	[56]
TBHQ , BHA	Creme, biscoito	UME	Britton-Robinson	1,1	2,5×10 ⁻⁵ 3,4×10 ⁻⁴	[63]
TBHQ , BHA , BHT	Maionese	Platina e ECV	HCl 0,1 mol L ⁻¹	2,0	-	[64]
BHA , BHT	Maionese	ECC	0,10 mol L ⁻¹ KNO ₃ /etanol	6,7	-	[65]

^a BHA: 2-*t*-butil-4-metoxifenol; BHT: 2,6-di-*t*-butil-4-metilfenol; TBHQ: *t*-butilhidroquinona; GP: galato de propila.

^b MEFC: microeletrodos de fibra de carbono; UME: ultramicroeletrodo; EDDB: eletrodo de diamante dopado com boro; ECV: eletrodo de carbono vítreo; ECC: eletrodo compósito de carbono.

^c PTEA: perclorato de tetraetilamonio; CTMA: cloreto de tetrametilamonio.

A determinação de antioxidantes em amostras de biodiesel utilizando as técnicas voltamétricas também é reportada na literatura [58-59, 61-62]. Araújo e colaboradores [61] propuseram uma metodologia eletroanalítica para a determinação de TBHQ em amostras de biodiesel de soja produzidas pelo Laboratório de Combustíveis do Estado de Mato Grosso do Sul (LABCOM-MS), empregando eletrodo de pasta de carbono. Os mesmos autores, em 2011, publicaram um trabalho no qual determinaram o mesmo antioxidante utilizando eletrodo de mercúrio de gota pendente, HMDE, [62]. Tormin e colaboradores [58] determinaram TBHQ em amostras de biodiesel de soja utilizando detecção amperométrica de múltiplos pulsos. Os mesmos autores em 2011 propuseram uma metodologia para determinação de BHA utilizando condições semelhantes ao trabalho publicado em 2010 [59].

Para uma melhor exemplificação, a **Tabela 3** apresenta uma compilação com informações adicionais referentes aos trabalhos desenvolvidos pelos pesquisadores citados acima, os quais se dedicam apenas às metodologias eletroanalíticas para a determinação de antioxidantes em amostras de biodiesel.

Tabela 3 – Resumo de métodos voltamétricos disponíveis na literatura para determinação de antioxidantes em amostras de biodiesel.

Antioxidante ^a	Eletrodo ^b	Eletrólito	pH	LD (mol L ⁻¹)	LQ (mol L ⁻¹)	Ref.
TBHQ	EPC	Britton-Robinson	5,0	$7,1 \times 10^{-8}$	$2,4 \times 10^{-7}$	[61]
TBHQ	HMDE	Britton-Robinson	8,0	$3,4 \times 10^{-8}$	$1,1 \times 10^{-7}$	[62]
TBHQ	ECV	Etanol/HClO ₄	-	$5,0 \times 10^{-6}$	-	[58]
BHA	EDDB	Etanol/HClO ₄	-	$5,0 \times 10^{-7}$	-	[59]

^a BHA: 2-*t*-butil-4-metoxifenol; TBHQ: *t*-butilhidroquinona.

^b EPC: eletrodo de pasta de carbono; HMDE: eletrodo de mercúrio de gota pendente; ECV: eletrodo de carbono vítreo; EDDB: eletrodo de diamante dopado com boro

1.7. Surfactantes

Nas últimas décadas, tem se observado um crescente interesse, por parte dos pesquisadores que atuam em áreas da eletroquímica e eletroanalítica, pelo uso de soluções micelares [44, 66-71]. A literatura dispõe de diversos trabalhos que relatam estudos eletroquímicos da interação que ocorre entre surfactante e a espécie eletroativa, bem como as interações e/ou adsorções entre eletrodo/surfactante [44, 69-84]. Dentre esses trabalhos,

alguns também reportam a importância do uso de surfactantes para minimizar, ou até suprimir, a inativação da superfície eletródica ocasionada pela adsorção de produtos eletrogerados ou, até mesmo, do próprio reagente [76-80]. Este problema é ainda mais grave quando espécies interferentes presentes em matrizes mais complexas também adsorvem na superfície eletródica, inativando-a totalmente ou parcialmente. Com isso, entre os métodos utilizados para suprimir a perda da atividade de eletrodos sólidos pela adsorção destacam-se o uso de agentes tensoativos [76-80].

Surfactantes ou tensoativos são moléculas anfipáticas, anfifílicas, ou seja, substâncias constituídas por uma parte polar (região hidrofílica) e outra parte apolar (região hidrofóbica) [66-68]. A parte apolar é frequentemente uma cadeia de hidrocarboneto variando de 6 a 22 átomos de carbono (normalmente linear). Por outro lado, a parte polar é classificada de acordo com sua porção hidrofílica, que pode ser iônica (catiônica ou aniônica), não iônica e anfótera [66, 68].

Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces entre fases com diferentes graus de polaridade (óleo/água e água/óleo). A formação de um filme molecular, ordenado nas interfaces, reduz a tensão interfacial e superficial, sendo responsável pelas propriedades únicas dos surfactantes. Estas propriedades permitem que os surfactantes sejam adequados para uma ampla gama de aplicações industriais envolvendo: detergência, emulsificação, lubrificação, solubilização, dispersão de fases e em experimentos eletroquímicos [66, 68].

A adsorção de surfactante na superfície do eletrodo de trabalho e a formação de agregados micelares pode alterar de modo significativo os valores de potencial e de corrente de pico de oxidação e/ou redução das espécies eletroativas, coeficientes de transferência eletrônica e de difusão, contribuindo para uma melhor sensibilidade das espécies eletroativas [70-71].

Cardoso e colaboradores [82] observaram que a adição de surfactante catiônico, segundo os autores, permite a quantificação de três substâncias utilizadas em protetores solares. Araujo e colaboradores [61] estudaram a oxidação eletroquímica do antioxidante TBHQ empregando eletrodo de pasta de carbono na presença do surfactante catiônico (BCTA). Os resultados apresentados possibilitaram a quantificação do antioxidante em amostras de biodiesel, contribuindo para um melhor perfil voltamétrico do

TBHQ. Resultados semelhantes foram observados pelos mesmos autores, na quantificação do antioxidante TBHQ em amostras de biodiesel empregando eletrodo de mercúrio gota pendente [62].

1.8. Eletrodos Impressos

Atualmente, a busca por metodologias analíticas cada vez mais simplificadas tem contribuído para o desenvolvimento de dispositivos com grande diversidade de materiais eletródicos, os quais permitem maior praticidade nas determinações eletroanalíticas. Sendo assim, as adaptações no tamanho e arranjo desses materiais de eletrodos têm permitido sua utilização principalmente para análises em campo. Estes procedimentos têm oferecido ao analista não só instrumentos mais versáteis, como também respostas sensíveis e seletivas, além da facilidade de uso e simplicidade na medida da resposta [85].

Devido a sua simplicidade, a eletroanalítica tem se revelado o ramo da química analítica com maior diversidade de técnicas disponíveis com inúmeras vantagens na determinação de compostos orgânicos, inorgânicos e organometálicos, nas mais diversas matrizes, com possibilidade de monitoramento do analito em solventes aquosos e não aquosos. Além de oferecer sensores eletroquímicos versáteis com capacidade de identificar e determinar os mais diversos analitos em concentrações bastante variáveis, o desenvolvimento de eletrodos impressos como eletrodo descartável tem merecido muita atenção nos anos mais recentes [86].

O eletrodo de carbono impresso consiste basicamente no depósito de um filme de carbono ou outro material condutor sobre um suporte inerte, geralmente de vidro, cerâmica ou PVC [87-88]. Este filme é parcialmente coberto por uma segunda camada fina de um material isolante para definir uma área de contato elétrico numa extremidade e outra área para ser a superfície do eletrodo na outra extremidade, como exemplifica a **Figura 2** [85].

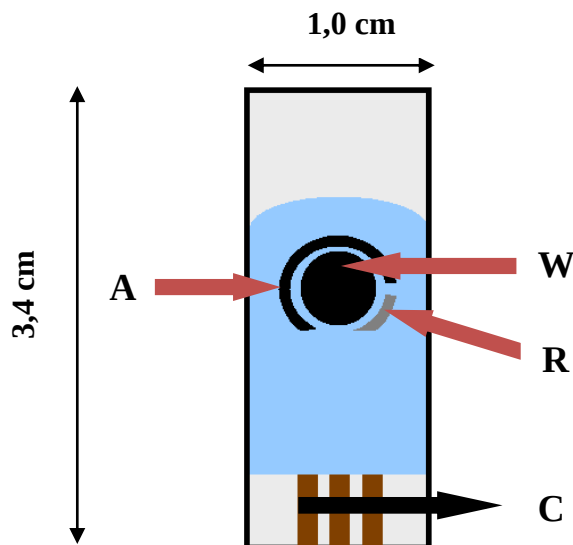


Figura 2 - Ilustração de eletrodo de carbono impresso em cerâmica (screen-printed electrode). R = eletrodo de referência (pseudo Ag), A = eletrodo auxiliar (tinta de Carbono), W = eletrodo de trabalho (tinta de Carbono) e C = contato elétrico.

Estes eletrodos estão disponíveis comercialmente em diversas companhias, no entanto, são passíveis de fabricação em máquinas de screen também comercializadas. Contudo, a maioria dos modelos de eletrodos com tintas condutoras e isolantes comerciais são de custo relativamente baixo para o fabricante e quase sempre patenteada, cuja fabricação não é revelada apropriadamente [85].

Uma das principais vantagens deste tipo de eletrodos é a facilidade de utilização, com apresentação de um sistema completo, contendo os eletrodos de trabalho, auxiliar e referência, impressos no mesmo suporte em área bastante reduzida [85-89]. Adicionalmente, estes eletrodos são de fácil fabricação, possibilitando a produção de um grande número em tempo curto [85, 90-91]. Além disso, estes eletrodos têm apresentado sensibilidade, seletividade, estabilidade, precisão, resposta rápida, reprodutibilidade, facilidade de uso e robustez, requisitos básicos para análise rotineira em um processo industrial [85, 90-91].

1.8.1. Aplicações de EIs em Eletroanalítica

Recentemente, muitos trabalhos vêm sendo realizados com o uso de eletrodos impressos para quantificação de diferentes espécies, orgânicas e inorgânicas, cujos

resultados tem sido satisfatórios, estimulando desta forma, a aplicação destes dispositivos em sistemas de detecção e desenvolvimento de metodologias analíticas. A seguir, são apresentados alguns trabalhos com o uso de eletrodos impressos para metodologias analíticas.

Trindade e Zaroni [88] desenvolveram um método para quantificação do corante Solvent Blue 14 (SB-14) em amostras de combustíveis usando as técnicas eletroquímicas. Os autores utilizaram eletrodos de carbono impresso para a detecção de SB-14 na presença de surfactante. O método proposto foi aplicado com sucesso para a determinação do corante nas amostras de combustíveis além de oferecer um limite de detecção satisfatório, da ordem de $9,30 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

Fanjul-Bolado e colaboradores [89] desenvolveram um metodologia eletroanalítica para determinar paracetamol em formulações farmacêuticas. Os autores usaram eletrodos impressos de nanotubos de carbono para detecção do analito em um sistema em fluxo. Nesta condição, o método foi aplicado com sucesso para determinação de paracetamol com limite de detecção de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

A superfície eletródica dos eletrodos de carbono impressos também pode ser modificada, possibilitando a interação da modificação química com o analito de interesse. Shih e colaboradores [90] desenvolveram um método para determinar codeína em formulações farmacêuticas. Os autores usaram eletrodos de carbono impressos modificados com argila nontronita para detecção de codeína em solução estacionária e em um sistema em fluxo. Na metodologia proposta, os autores observaram que a modificação na superfície do eletrodo de trabalho com a argila nontronita proporcionou um aumento da corrente de pico de oxidação, quando comparado com o eletrodo de carbono impresso sem a modificação. O método foi aplicado com sucesso para a determinação de codeína em formulações farmacêuticas disponíveis comercialmente [90].

A literatura disponibiliza ainda outros trabalhos que reportam o desenvolvimento de métodos de análises utilizando eletrodos impressos nos quais mostram o sucesso do uso destes dispositivos em aplicações eletroanalítica [87, 92-94].

1.9. *Objetivos*

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um método eletroanalítica para a determinação simultânea dos antioxidantes TBHQ e BHA.

Para atender este objetivo, será estudado a oxidação eletroquímica simultânea dos antioxidantes selecionados, usando técnicas voltamétricas sobre eletrodos convencionais de carbono vítreo e eletrodos de carbono impressos modificados com nanotubos de carbono.

Após os estudos voltamétricos desses antioxidantes, serão desenvolvidos métodos eletroanalíticos, monitorando-se a oxidação destes antioxidantes em meio aquoso empregando eletrodos de carbono impressos modificados com nanotubos de carbono. Os resultados de eficiência da metodologia eletroanalítica proposta serão comparados com os resultados obtidos com a técnica de CLAE com detecção de arranjo de diodos.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Reagentes, Soluções e Amostra

2.1.1. Reagentes

Os padrões dos antioxidantes (grau analítico) utilizados nos experimentos foram: *t*-butilhidroquinona (TBHQ) e 2-*t*-butil-4-metoxifenol (BHA) obtidos da Acros Organics, com grau de pureza de 97,0 e 96,0%, respectivamente. Todos estes antioxidantes foram usados sem purificação prévia. As soluções de ambos os antioxidantes e das amostras de biodiesel foram preparadas em etanol (Dinâmica) com grau de pureza analítica.

Os reagentes, ácido acético (Acros Organics), ácido bórico (Acros Organics), ácido ortofosfórico (Acros Organics), hidróxido de sódio (Acros Organics), metanol (Quimex) todos de grau de pureza analítico, foram utilizados no preparo das soluções de eletrólito de suporte.

Os surfactantes brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA) (SERVA), Triton X-100 (TX-100) (Acros Organics) e dodecil sulfato de sódio (DSS) (Sigma), foram utilizados nos experimentos eletroquímicos.

A água utilizada nos experimentos foi ultrapurificada (condutividade $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) com um sistema de purificação Milli-Q Plus (Millipore).

2.1.2. Soluções

Soluções estoque de TBHQ e BHA foram preparadas a partir da dissolução de quantidades apropriadas dos antioxidantes em etanol, momentos antes do seu uso. Soluções diluídas de TBHQ e BHA na concentração desejada (entre $1,00 \times 10^{-4}$ e $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) foram preparadas imediatamente antes das análises, por diluição de alíquotas da

solução estoque ou por adição de alíquotas da solução estoque diretamente na célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte. Todas as soluções estoque foram preparadas momentos antes do seu uso.

Soluções dos surfactantes foram preparadas a partir da pesagem direta em balão volumétrico e, a seguir, dissolução com água ultrapurificada até a concentração desejada.

As soluções do tampão Britton-Robinson (B-R), usadas como eletrólito suporte, foram preparadas a partir da mistura de ácido acético $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (Acros Organics), ácido ortofosfórico $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (Acros Organics) e ácido bórico $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (Acros Organics). O ajuste do pH desejado foi realizado com hidróxido de sódio $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ (Acros Organics). Quantidades apropriadas de metanol (Quimex) foram adicionadas ao eletrólito de suporte para uma melhor solubilidade dos antioxidantes [64].

2.1.3. Amostra

As amostras de biodiesel utilizadas nos estudos foram preparadas pelo Laboratório de Combustíveis do estado de Mato Grosso do Sul, LABCOM-MS, por um procedimento de transesterificação, com etanol, do óleo vegetal de soja, utilizando como catalisador o hidróxido de sódio.

2.2. Equipamentos

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando-se um potenciostato portátil PalmSens modelo 4.1 (PalmSens BV, Houten, The Netherlands), interfaceado a um microcomputador e controlado pelo software PSLite 1.7.3 para aquisição dos dados. Foi utilizado um conector específico DropSens (ref. CAC) que permitiu a conexão dos eletrodos impressos ao potenciostato.

O conjunto dos eletrodos impressos de nanotubo de carbono foram adquiridos da empresa DropSens. O arranjo destes eletrodos impressos (descrito na seção 1.8) de $3.4 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm} \times 0.05 \text{ cm}$ (comprimento $\times$ largura $\times$ altura) consiste de três partes que são compostas por um contra-eletródo de carbono, um eletródo pseudo-referência de prata e

um eletrodo de trabalho (4,0 mm de diâmetro) de nanotubos de carbono funcionalizados com íons carboxílicos em parede múltipla (SPE-MWCNTs, ref. 110).

Um sistema de três eletrodos foi utilizado para realizar testes com outra superfície eletródica, consistindo de um eletrodo de referência de prata/cloreto de prata saturado ($\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$ 3,0 mol L⁻¹), um fio de platina como eletrodo auxiliar e um eletrodo de trabalho (carbono vítreo), com área superficial de 8,26 mm².

Todas as medidas de pH foram realizadas em pH-metro digital (Tecnopon/ Modelo MPA-20) acoplado a um agitador magnético TM 125 Shott.

Um banho ultra-som (UNIQUE) e uma mesa agitadora (Certomat - Modelo II) foram utilizados para dissolução e homogeneização dos reagentes e para a aditivação das amostras de biodiesel.

As medidas cromatográficas foram realizadas utilizando um cromatógrafo Shimadzu (modelo Prominence) equipado com bombas multicanais (LC 20AT) e detector de arranjo de diodos (DAD SPD 20A). A injeção da amostra foi realizada a partir de um injetor automático (Sil 20A). A coluna utilizada foi de fase reversa C-18 Zorbax Stable Bond (150 mm x 4,6 mm x 5 µ) (Agilent HP) mantida a 25°C.

2.3. Procedimento Experimental

2.3.1. Experimentos Voltamétricos

Os estudos iniciais com eletrodo de carbono vítreo (ECV) e eletrodo impresso de carbono modificado nanotubo de carbono parede múltipla (EINC-PM), foram realizados transferindo-se 10,0 mL da solução do eletrólito suporte (pH 2,0) para a célula eletroquímica e submetendo-a a desaeração por 10 minutos, com nitrogênio (White Martins). Em seguida, foram registradas as medidas voltamétricas, mediante varredura em um intervalo de potencial desejado.

Depois de registradas as medidas para o eletrólito suporte (branco), uma alíquota da solução estoque do(s) antioxidante(s) e/ou surfactante foi adicionada à célula, registrando os voltamogramas, conforme o mesmo procedimento citado acima. Antes de cada medida experimental, a superfície do eletrodo de carbono vítreo foi polida com uma

solução de alumina 1,00 μm e, em seguida, enxaguada com água deionizada. Para os eletrodos impressos (EIs), a superfície do eletrodo de trabalho foi regenerada por lavagem com etanol (Dinâmica), e deixado em repouso por, aproximadamente, 300 segundos.

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em triplicata e em todo trabalho, os resultados apresentados equivalem à média aritmética referente a essas medidas.

2.3.2. Aditivação das amostras de biodiesel com antioxidantes

O procedimento para aditivação das amostras de biodiesel foi adotado a partir de adaptações do trabalho desenvolvido anteriormente por Araujo e colaboradores [61].

As massas dos padrões de TBHQ e BHA foram pesadas de acordo com o nível de aditivação do biodiesel em estudo. Em um balão volumétrico de 10 mL adicionou-se aproximadamente 9,5 mL de biodiesel e quantidade apropriada dos antioxidantes. A mistura resultante foi submetida à agitação em mesa agitadora por, aproximadamente, 30 minutos para a completa homogeneização e, em seguida, levada ao banho ultra-som, deixado por mais 20 minutos em temperatura abaixo de 10°C, para dissolução dos antioxidantes. Depois desse processo, o volume foi ajustado com biodiesel e o material novamente submetido à agitação em mesa agitadora e em banho ultra-som por um período de 20 minutos para cada processo.

2.3.3. Determinação de TBHQ e BHA em amostras de biodiesel

O procedimento para determinação dos antioxidantes nas amostras de biodiesel também foi adaptado a partir de vários trabalhos encontrados na literatura [61, 95].

As amostras foram preparadas a partir da diluição do biodiesel de acordo com o nível de aditivação desejado em etanol. Para o preparo destas soluções, alíquotas de 500 μL do biodiesel foram transferidas para balões volumétricos de 5 mL com a utilização de micropipetas (Labmate). Em seguida ajustou-se o volume do balão volumétrico com etanol, submetendo-o à agitação em mesa agitadora (por 15 minutos) e em banho ultra-som (por 30 minutos) em temperatura abaixo de 10°C.

Para as medidas eletroanalíticas, alíquotas de 40 μL da solução amostra foram transferidas diretamente para a célula eletroquímica (contendo 10 mL do eletrólito de suporte e surfactantes) e os voltamogramas foram registrados. Alíquotas de 30 μL da solução padrão dos antioxidantes foram adicionadas, e a cada adição, foram registrados novos voltamogramas. A quantificação de TBHQ e BHA na amostra foi realizada pelo método da adição do padrão.

2.3.4. Experimentos Cromatográficos

Os experimentos cromatográficos foram realizadas com objetivo de obter uma comparação dos resultados encontrados a partir da metodologia eletroanalítica proposta neste trabalho.

As soluções das amostras de biodiesel foram preparadas de modo similar (seção 2.3.2), alterando-se apenas o grau de pureza do metanol (grau cromatográfico) utilizado na diluição da mesma, assim como a alíquota de biodiesel utilizada no preparo da solução amostra.

O procedimento utilizado foi adaptado a partir de metodologias encontradas na literatura para determinação de antioxidantes em amostras de biodiesel [42] e matrizes oleaginosas [95]; sendo os experimentos cromatográficos realizados pela aluna de mestrado Adriana Garabini, do Grupo de Pesquisa Eletroquímica e Eletroanalítica do Pantanal. As medidas cromatográficas foram realizadas utilizando como fase móvel um sistema binário composto pelos solventes metanol e água acidificada com ácido acético 1% (v/v) com eluição em modo gradiente. A condição de trabalho otimizada para as análises cromatográficas foi: eluição foi realizada entre 0 e 3,0 min com (55:45, v/v) metanol : água acidificada com ácido acético 1% (v/v), um aumento para 100% de metanol entre 3,0 e 6,0 min permanecendo até 12,0 min. A condição inicial foi restabelecida entre 12,0 e 13,0 min permanecendo até 18,0 min. As demais condições utilizadas foram: vazão de 1,00 mL min⁻¹ e detecção em 290 nm. Todas as análises cromatográficas foram realizadas em triplicata.

Os experimentos cromatográficos constituíram-se da obtenção dos cromatogramas das soluções de padrão dos antioxidantes estudados em diferentes concentrações, para construção das curvas analítica. Após a construção destas curvas foram obtidos os cromatogramas referentes às amostras de biodiesel aditivadas com

antioxidantes. A determinação da concentração dos antioxidantes presentes nesta amostras foi realizada empregando o método de padrão externo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Comportamento voltamétrico dos antioxidantes TBHQ e BHA

Inicialmente, foi estudado o comportamento voltamétrico dos antioxidantes TBHQ e BHA sobre a superfície de eletrodos impressos de nanotubos de carbono de parede múltipla (EINC-PM) empregando tampão Britton-Robinson (B-R) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol [64], como eletrólito suporte. Na **Figura 3**, observa-se os voltamogramas cíclicos registrados – após varredura na direção anódica de -0,2 a 0,6 V a uma velocidade de varredura de 150 mV s^{-1} – para o branco e as, respectivas, adições dos antioxidantes a célula eletroquímica. Como pode ser observado, TBHQ e BHA exibem um pico de oxidação em 0,14 V (**Fig. 3b**) e 0,33 V (**Fig. 3c**), respectivamente. A análise simultânea da presença de ambos os antioxidantes é observada pela **Fig. 3d**, sendo o primeiro pico de oxidação em 0,14 V vs. (pseudo-referência de Ag) atribuído a oxidação do grupo hidroquinona presente no antioxidante TBHQ, formando o derivado quinona (TBQ), cujo processo envolve dois elétrons, **Esquema 1**, [63]. O segundo pico em 0,33 V, é atribuído a oxidação do grupo hidroxianisol, presente na molécula do BHA, para formar o derivado quinona (TBQ), no qual, novamente, envolve dois elétrons, **Esquema 2** [63]. Os estudos iniciais foram realizados, empregando eletrólito de suporte (pH 2,0), onde é considerado por vários autores como o melhor pH para a quantificação de antioxidantes [44, 58, 59].

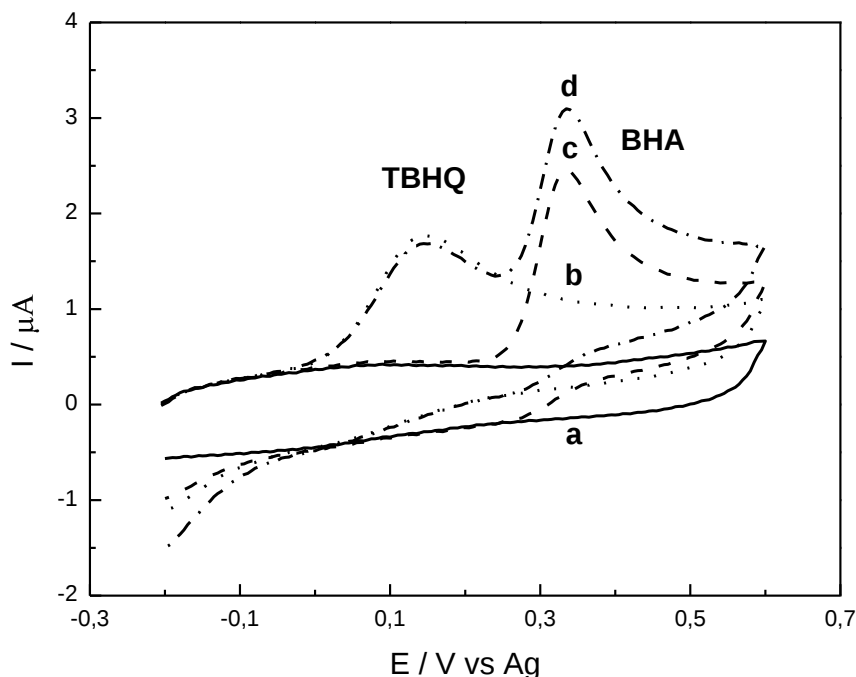
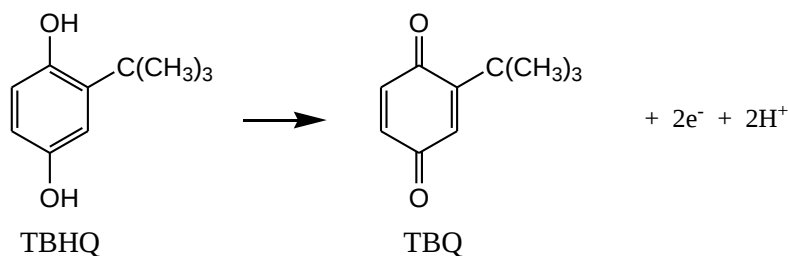
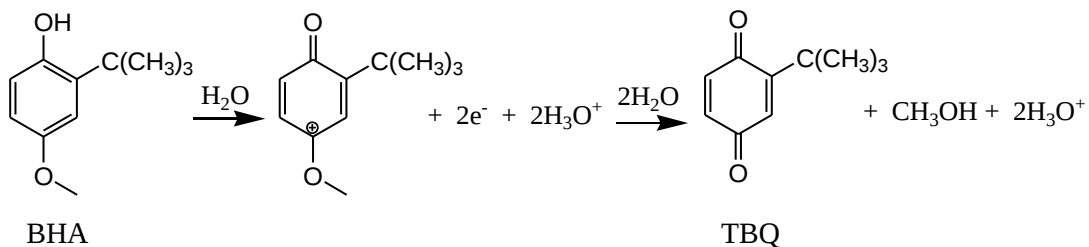


Figura 3 – Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica de TBHQ e BHA sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito suporte; (b) $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ; (c) $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de BHA; (d) $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ e $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de BHA. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$.



Esquema 4 – Mecanismo da oxidação do antioxidante TBHQ proposto por De La Fuente e colaboradores [63] em meio de tampão $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,2) contendo 0,4% de metanol.



Esquema 5 – Mecanismo da oxidação do antioxidante BHA proposto por De La Fuente e colaboradores [63] em meio de tampão $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,2) contendo 0,4% de metanol.

O comportamento voltamétrico dos antioxidantes TBHQ e BHA também foi investigado sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (ECV). Na **Figura 4**, podem ser observados os voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação eletroquímica sobre a superfície do ECV (**Fig. 4b**) e EINC-PM (**Fig. 4c**). De acordo com estes voltamogramas, observa-se uma melhor resolução e definição dos picos de oxidação para os antioxidantes quando utilizado o EINC-PM.

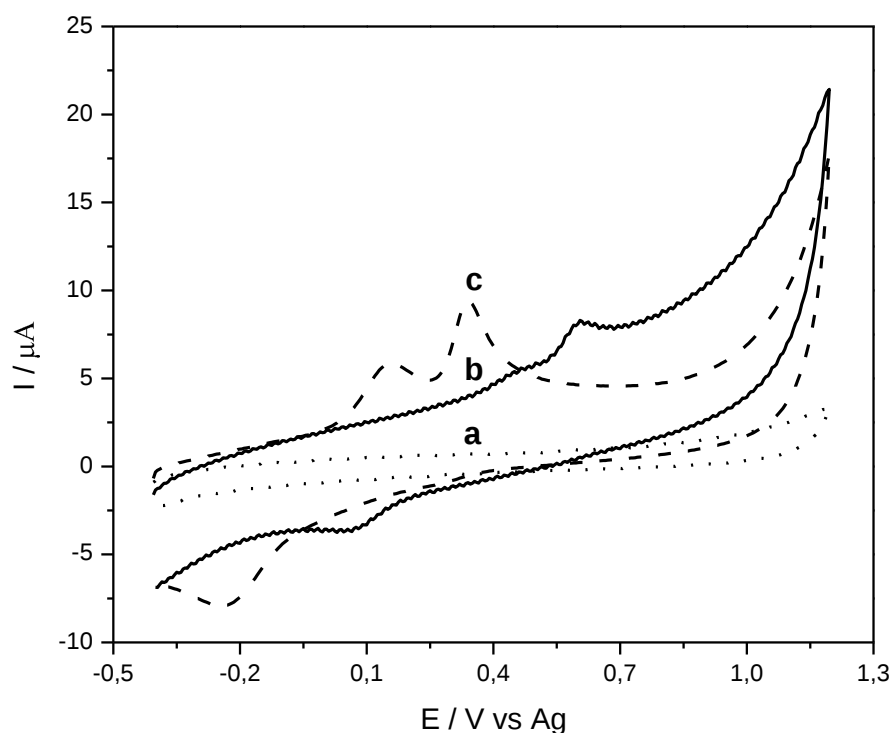
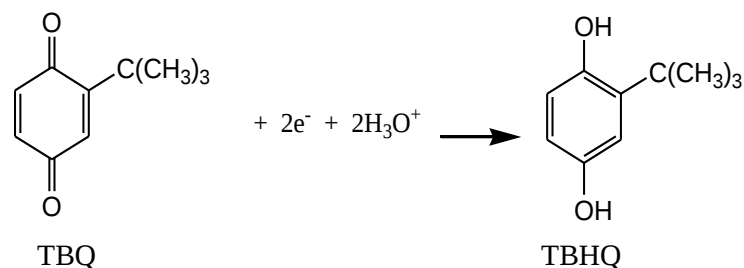


Figura 4 – Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica de $3,12 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ e $2,88 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de BHA em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito suporte; (b) ECV; (c) EINC-PM. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

Analisando os voltamogramas obtidos para uma solução $3,12 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ e $2,88 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de BHA em tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol, observa-se a presença de um pico na direção catódica em 0,1 V (ECV) e -0,2 V (EINC-PM). Este comportamento voltamétrico também foi observado por De La Fuente e colaboradores [63], os quais concluíram que estes picos correspondem à redução de TBQ, **Esquema 6**, formado durante a oxidação eletroquímica de TBHQ e BHA (**Esquema 4 e 5**).



Esquema 6 – Mecanismo da redução de TBQ proposto por De La Fuente e colaboradores [63] em meio de tampão $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,2) contendo 0,4% de metanol.

3.2. *Oxidação Eletroquímica de TBHQ e BHA a Partir do Uso de Diferentes Técnicas Voltamétricas*

A oxidação eletroquímica de TBHQ ($2,88 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e BHA ($3,12 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) também foi investigada sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol, empregando as técnicas de voltametria de varredura linear (VVL) e voltametria de onda quadrada (VOQ). Neste caso, o objetivo foi avaliar a detectabilidade destas técnicas frente aos diferentes modos de perturbação do eletrodo de trabalho, permitindo selecionar qual técnica seria adotada no desenvolvimento da metodologia para detecção simultânea dos antioxidantes TBHQ e BHA.

Na **Figura 5** são apresentados os voltamogramas obtidos empregando as técnicas de VVL e VOQ, os quais evidenciam que a técnica de varredura linear (**Figura 5A**), apresenta um melhor perfil voltamétrico, cujos picos correspondente oxidação eletroquímica dos antioxidantes são satisfatoriamente resolvidos. Como descrito anteriormente na **Seção 3.1**, o pico em 0,14 V, foi atribuído a oxidação do TBHQ e o pico em 0,33 V atribuído a oxidação do BHA.

Por outro lado, o voltamograma obtido empregando a técnica de voltametria de onda quadrada (**Figura 5B**), não apresentou um perfil voltamétrico satisfatório, no qual os picos dos respectivos antioxidantes não foram nitidamente definidos. Além disso, houve um considerável comprometimento do perfil voltamétrico, facilmente visível nos voltamogramas, implicando em um ligeiro aumento da linha base e uma baixa resolução voltamétrica. Portanto, considerando que o voltamograma obtido com a técnica de VVL, possibilita uma melhor discriminação da relação sinal/ruído e uma melhor resolução voltamétrica, esta foi adotada para estudos futuros para fins analíticos quantitativos.

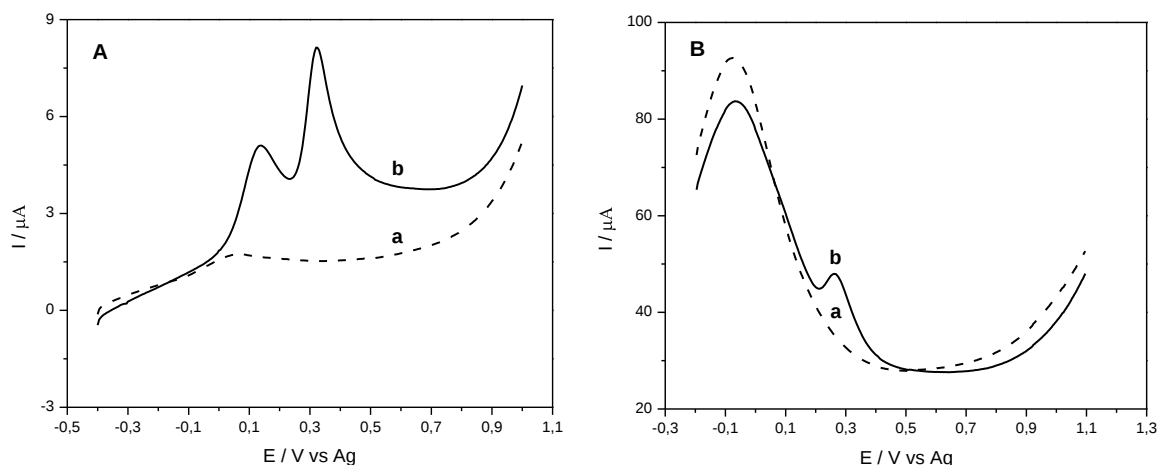


Figura 5 – Voltamogramas de varredura linear **(A)** ($v = 150 \text{ mV s}^{-1}$) e voltamogramas de onda quadrada **(B)** ($f = 40 \text{ Hz}$, $E_{\text{sw}} = 30 \text{ mV}$ e $E_s = 5 \text{ mV}$) registrados para oxidação eletroquímica de TBHQ e BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito suporte; (b) $3,12 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ e $2,88 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de BHA.

3.3. Influência do tipo de surfactante

Após a escolha da melhor técnica para a detecção simultânea dos antioxidantes e com o objetivo de melhorar a sensibilidade na resposta eletroquímica bem como melhorar a solubilidade desses antioxidantes no meio aquoso/orgânico, surfactantes catiônico, aniônico e neutro foram utilizados. Com base nos resultados reportados na literatura [44, 61-62, 70, 71, 75, 82-84], os quais divulgam que o uso de agentes tensoativos tem propiciado satisfatórios resultados em termos de intensidade de corrente, solubilidade, melhora na resposta eletroquímica, além de propiciar diminuir o efeito de matriz que causa inativação da superfície eletródica. Desta forma, o efeito da adição de diferentes tipos de surfactante (**Figura 6**) foi avaliado, registrando voltamogramas de varredura linear em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% metanol.

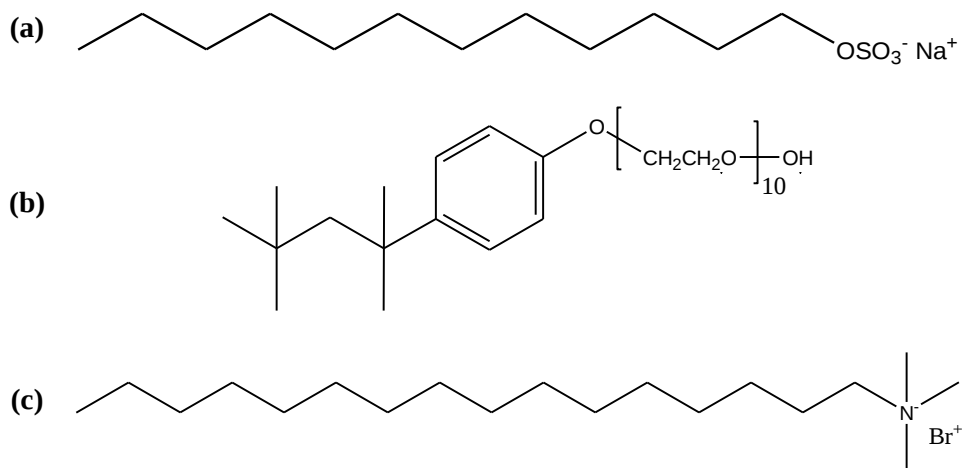


Figura 6 – Estrutura química dos surfactantes: (a) aniônico: Dodecil sulfato de sódio (DSS), (b) neutro: Triton X-100 (TX-100) e (c) catiônico: Brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA).

Na **Figura 7**, são apresentados os voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica dos antioxidantes na presença e ausência de surfactante aniônico (DSS). Como pode ser observado, o voltamograma registrado para o eletrólito suporte na ausência (**Figura 7a**) e na presença de surfactante (**Figura 7b**) não apresentam picos correspondentes a oxidação de espécies eletroativas. Contudo, o registro de voltamogramas para oxidação eletroquímica dos antioxidantes na presença e ausência do surfactante DSS (**Fig. 7c e 7d**), mostrou que não houve mudanças significativas na corrente de pico para ambos os antioxidantes.

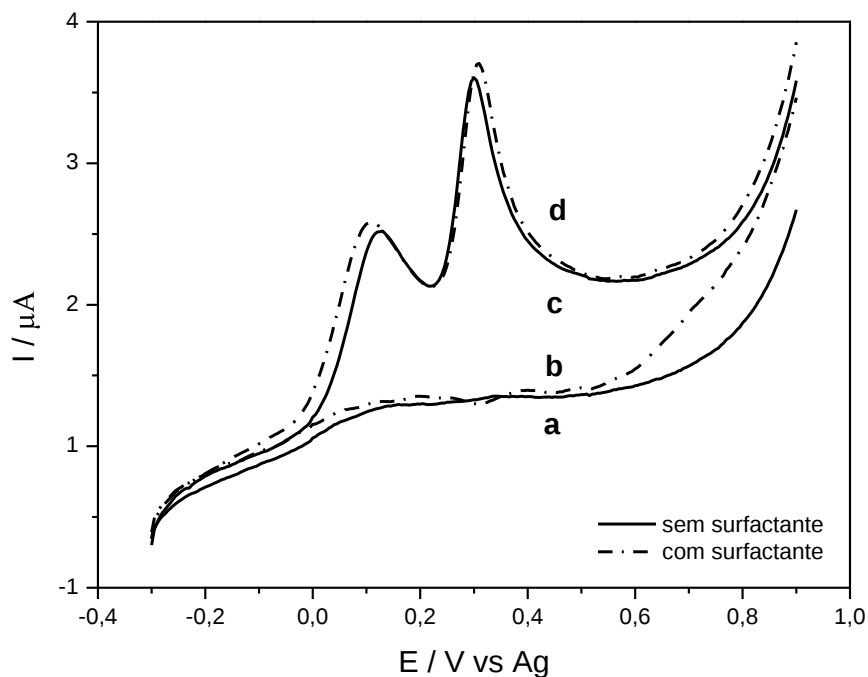


Figura 7 – Voltamogramas de varredura linear registrados para oxidação eletroquímica de $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito de suporte e (b) na presença de $1,09 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DSS; (c) $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA e (d) na presença de $1,09 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DSS. $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

Da mesma forma, também foi avaliada a influência de um surfactante neutro (Triton X-100), na oxidação eletroquímica dos antioxidantes TBHQ e BHA, adicionado ao tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (**Fig. 8**). De acordo com a Figura, observa-se que não houve aumento considerável na corrente de pico tampouco qualquer deslocamento no potencial de pico, quando foi utilizado o surfactante Triton X-100 (TX-100) (**Fig. 8d**).

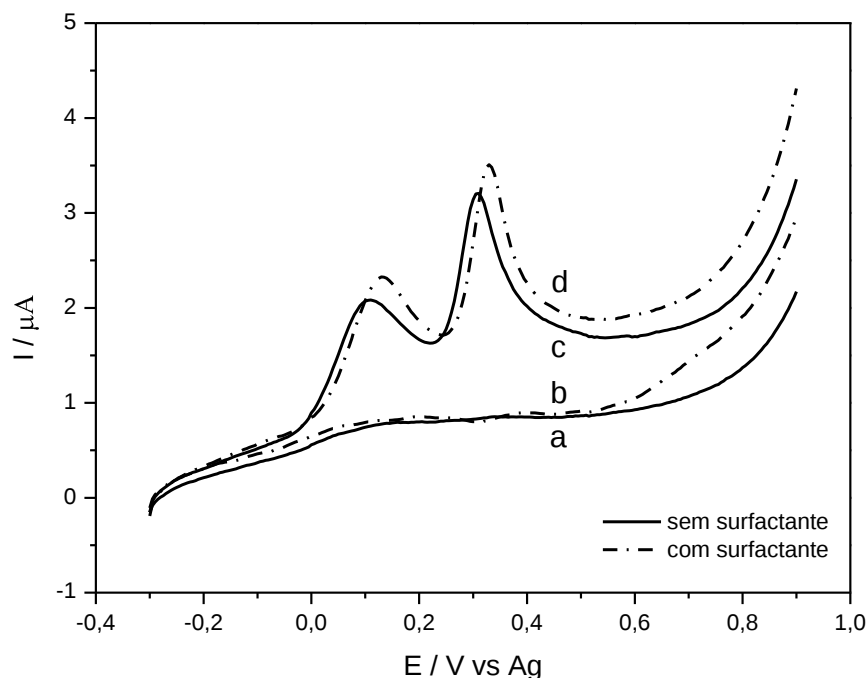


Figura 8 – Voltamogramas de varredura linear registrados para oxidação eletroquímica de $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito de suporte e (b) na presença de $1,14 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ TX-100; (c) $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA e (d) na presença de $1,14 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ TX-100. $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

Por fim, avaliou-se o comportamento voltamétrico e a intensidade da corrente de pico de oxidação do TBHQ e BHA sob influência do surfactante catiônico BCTA ($1,04 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) adicionado a solução do eletrólito suporte, contendo tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) e 2% de metanol (**Fig. 9**). Com a adição de surfactante catiônico (BCTA), foi observado um ligeiro aumento na intensidade da corrente de pico e um considerável deslocamento do potencial de pico de oxidação de ambos os antioxidantes (**Fig. 9d**). O aumento na intensidade de corrente e o deslocamento do potencial, pela presença do surfactante, pode ser relacionado com o fator de: o surfactante BCTA pode interagir com a superfície do eletrodo de trabalho por atração hidrofóbica, orientando a porção polar do surfactante em direção a solução, cuja característica permite a interação com o analito [88].

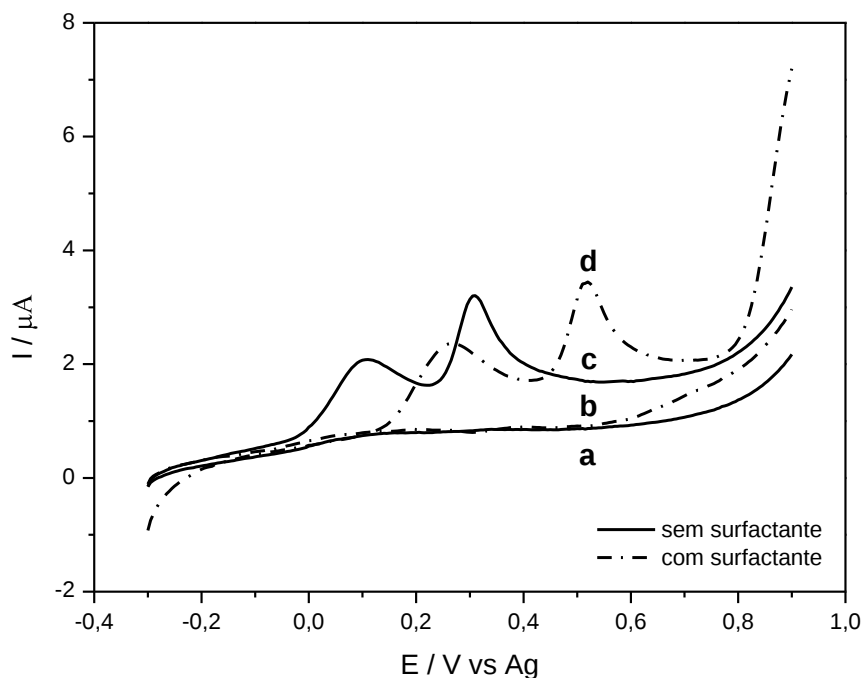


Figura 9 – Voltamogramas de varredura linear registrados para oxidação eletroquímica de $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol (a) Eletrólito de suporte e (b) na presença de $1,04 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ BCTA; (c) $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA e (d) na presença de $1,04 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ BCTA. $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

3.4. Efeito do pH do eletrólito de suporte

A influência da variação do pH na resposta da corrente de pico anódica (I_{pa}), foi investigada a partir do registro de voltamogramas de varredura linear para oxidação, sobre EINC-PM, de $4,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ e $5,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de BHA em meio de tampão Britton-Robinson 0.04 mol L^{-1} contendo 2% de metanol na ausência de surfactante (**Fig. 10**). Para TBHQ, em valores de pH entre 2,0 a 10,0; a corrente de pico de oxidação diminuiu levemente, sendo observado um ligeiro aumento da I_{pa} nos extremos valores de pH, com um máximo em valor de pH 2,0 e 10,0. Para o BHA, inicialmente, há um ligeiro aumento da corrente de pico até um valor de igual a pH 3,0, a partir do qual a corrente diminuiu gradualmente até pH 8,0. Acima de pH 8,0, a corrente de pico de oxidação para o BHA aumenta significativamente com um máximo em pH 10,0. A variação de I_{pa} em função do aumento do pH do meio pode ser atribuído a desprotonação dos grupos $-\text{OH}$ presente nos antioxidantes [98-100].

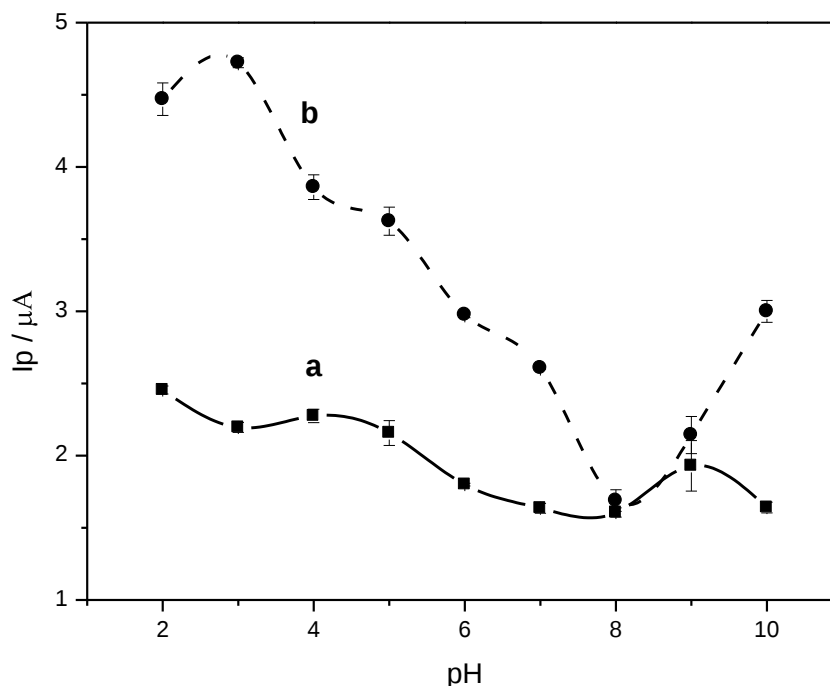


Figura 10 – Influência do pH na resposta de I_{pa} em VVL para uma solução de (a) $4,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e (b) $5,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0 – 10,0) contendo 2% de metanol. $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

A influência da variação do pH do eletrólito suporte na resposta da corrente de pico (I_{pa}) e do potencial de pico (E_{pa}) também foi avaliada, registrando voltamogramas de varredura linear para oxidação de $4,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ e $5,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de BHA em meio de tampão Britton-Robinson $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 2% de metanol e presença do surfactante catiônico BCTA ($1,05 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). Este estudo foi realizado no intervalo de pH entre 2,0 e 10,0 e os resultados estão apresentados nas **Figuras 11A e 11B**.

Para o antioxidante TBHQ, o gráfico de I_{pa} em função do aumento do pH do eletrólito suporte (**Fig. 11A**), verifica-se que a corrente de pico aumenta consideravelmente no intervalo de pH entre 2,0 e 4,0, a partir do qual decai gradualmente até pH 6,00. A partir de pH 6,0 a corrente aumenta novamente até atingir seu máximo em pH 8,0. Após o pH 8,0, a corrente decai significativamente, sendo praticamente suprimida em valores de pH acima de 10,0. Para o antioxidante BHA, foi observado um comportamento semelhante ao da Figura 10b, no qual, verifica-se que há um máximo de corrente entre os dois extremos de pH. Entre os valores extremos de pH, verifica-se um decréscimo acentuado da corrente de pico, cujo menor valor de corrente é observado em pH 6,0.

Na **Figura 11B** está representado o comportamento do potencial de pico anódico (E_{pa}) em função do aumento do pH entre 2,0 e 10,0. Como pode ser visto o E_{pa} desloca-se para valores mais negativos com o aumento do pH, indicando que o processo eletródico é influenciado por reações de protonação acoplada ao processo de transferência eletrônica [63, 61, 70-71, 88].

Analisando a **Figura 11B**, observa-se que o E_{pa} para ambos os antioxidantes varia linearmente com o aumento do pH, apresentando apenas um segmento linear, cujas equações de regressão linear são: E_{pa} (mV) = 402,03 – 57,40×pH ($r = 0,991$) para o TBHQ e E_{pa} (mV) = 631,78 – 51,05×pH ($r = 0,998$) para o BHA. Usando a seguinte relação: $\Delta E_p / \Delta pH = 59 m_{H^+} / n$ [96] e, considerando que o *t*-butilhidroquinona (TBHQ) e o *t*-butilhidroxianisol (BHA) é oxidado pela transferência eletrônica de dois elétrons e dois prótons (**Esquema 4 e 5**) [56, 63], um valor de 57,40 mV / pH para TBHQ e 51,05 mV / pH para BHA foi obtido para a inclinação ($2,00 \leq pH \leq 10,00$) do gráfico de E_p vs. pH. A partir desses valores de inclinação, estima-se o número de prótons envolvidos no processo, os quais são: m_{H^+} de $1,97 \approx 2$ (TBHQ) e $1,73 \approx 2$ (BHA). Estes resultados indicam que o processo de oxidação, de ambos os antioxidantes, ocorre via transferência eletrônica envolvendo dois elétrons e dois prótons, em concordância com mecanismos já relatados em literatura específica [56, 63].

Portanto, comparando a definição e a intensidade do pico bem como o perfil voltamétrico, otimizou-se o pH 2,0 como sendo melhor para ser utilizado no desenvolvimento de uma metodologia analítica visando determinação destes antioxidantes em amostras de biodiesel.

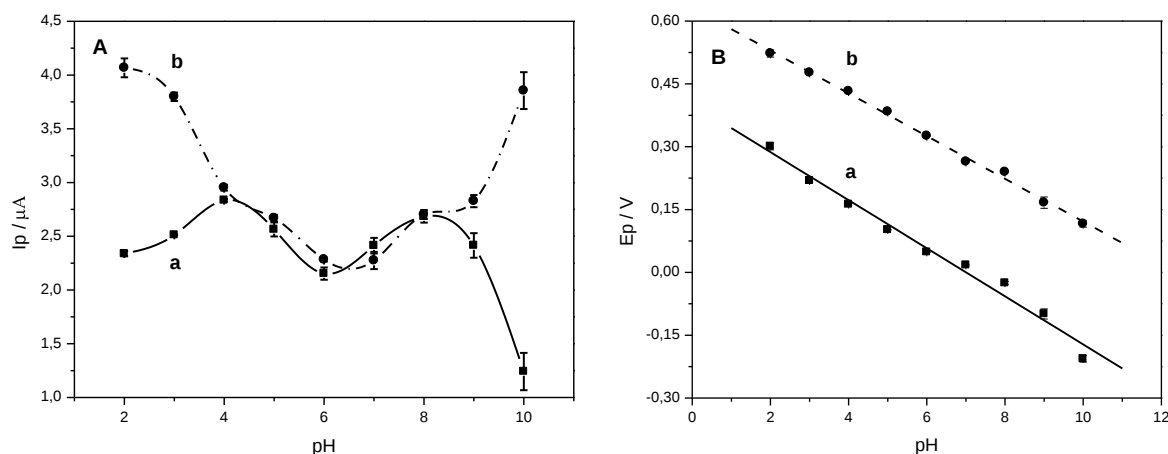


Figura 11 – Influência do pH na resposta da corrente de pico (A) e do potencial de pico (B) para oxidação eletroquímica de (a) $4,91 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e (b) $5,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0 – 10,0) contendo 2% de metanol. $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

3.5. Estudo da concentração do surfactante

A concentração do surfactante BCTA foi outro parâmetro investigado na oxidação do antioxidante TBHQ ($1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e BHA ($1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo metanol (2,0%). Os resultados obtidos para este estudo estão apresentados na **Figura 12**.

Como é observado, um aumento da corrente de pico para ambos antioxidantes é observado até a concentração de $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante; a partir desta concentração, a corrente de pico para BHA sofreu um decréscimo e para TBHQ se mantém constante até $1,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

No que diz respeito ao potencial de pico dos antioxidantes, houve um deslocamento significativo para potenciais mais positivos, logo após a adição do surfactante BCTA. Este deslocamento foi constante até a concentração de $6,86 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de BCTA e foi verificado para ambos os antioxidantes, contribuindo, decisivamente, para uma melhor separação (aproximadamente 0,25 V) entre os picos (**Figura 12B**).

Considerando que os valores máximos de I_{pa} registrados para os antioxidantes TBHQ e BHA foram obtidos em uma concentração de BCTA de $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, esta foi selecionada para estudos futuros. Na **Figura 13**, estão apresentados os voltamogramas de varredura linear registrados, em tampão BR (pH 2,0) contendo 2% de metanol, para

oxidação eletroquímica dos antioxidantes após adição de uma alíquota do surfactante em sua melhor concentração ($5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$).

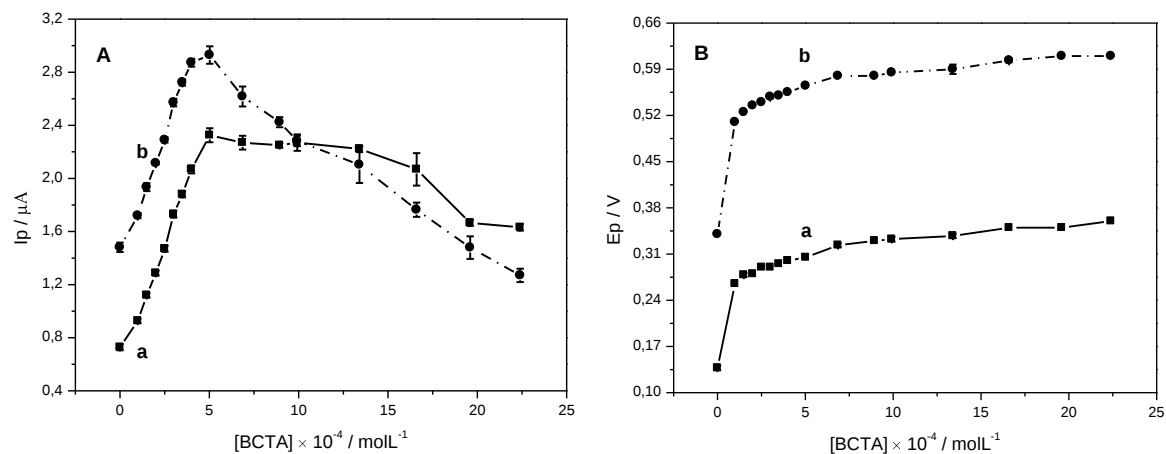


Figura 12 – Influência do aumento da concentração de BCTA na resposta da corrente de pico (A) e do potencial de pico (B) para a oxidação eletroquímica de $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0 – 10,0) contendo 2% de metanol. $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

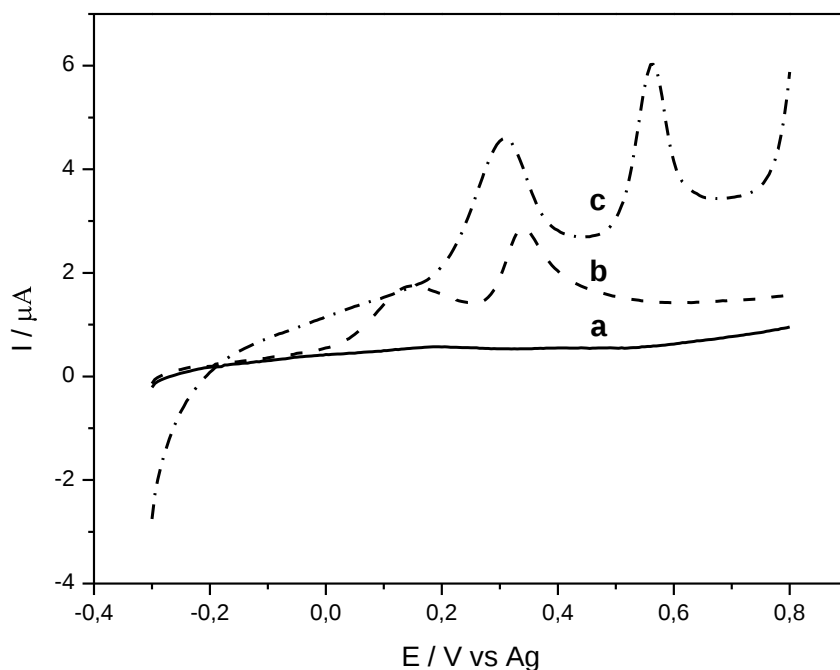


Figura 13 – Voltamogramas de varredura linear registrados para a oxidação eletroquímica de TBHQ e BHA sobre a superfície de EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 2% de metanol: (a) Eletrólito de suporte, (b) $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ TBHQ e $1,45 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ BHA e (c) na presença de $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ BCTA. $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

3.6. Curva Analítica

Usando a melhor condição de trabalho previamente otimizada, foram realizados estudos em diferentes concentrações dos antioxidantes TBHQ e BHA, monitorando o sinal de oxidação eletroquímica. Com o objetivo de observar se a amostra do biodiesel prejudicaria o sinal de oxidação dos antioxidantes, foram construídas curvas analíticas na ausência e na presença da matriz utilizando o surfactante BCTA na célula eletroquímica. A seguir, são apresentados os resultados.

3.6.1 Ausência da matriz

Após a otimização dos parâmetros experimentais, curvas analíticas para os antioxidantes foram construídas, sendo que cada ponto da curva representa a média de três medidas experimentais. A **Figura 14A** reúne os voltamogramas de varredura linear registrados em diferentes concentrações ($8,00 \times 10^{-7}$ a $1,07 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) do TBHQ mantendo-se a concentração do BHA constante em $3,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e a **Figura 14B** reúne os voltamogramas de varredura linear registrados em diferentes concentrações ($8,00 \times 10^{-7}$ a $1,07 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) do BHA mantendo-se a concentração do TBHQ constante em $4,50 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Analisando os voltamogramas, verifica-se que a corrente de pico de oxidação para TBHQ não foi influenciada pela oxidação do antioxidante BHA, uma vez que não houve deslocamento no potencial de pico de oxidação para nenhum dos antioxidantes avaliados. A partir dos valores de corrente de pico anódica (I_{pa}), obtidos nos voltamogramas da **Figura 14A** e **14B**, construiu-se duas curvas analíticas, as quais foram lineares em todo o intervalo de concentração estudado, com equação de regressão linear: $I_{pa} (\mu A) = 0,17 + 0,149 \times C_{TBHQ} (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, $r = 0,999$ e $I_{pa} (\mu A) = -0,032 + 0,226 \times C_{BHA} (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, $r = 0,999$.

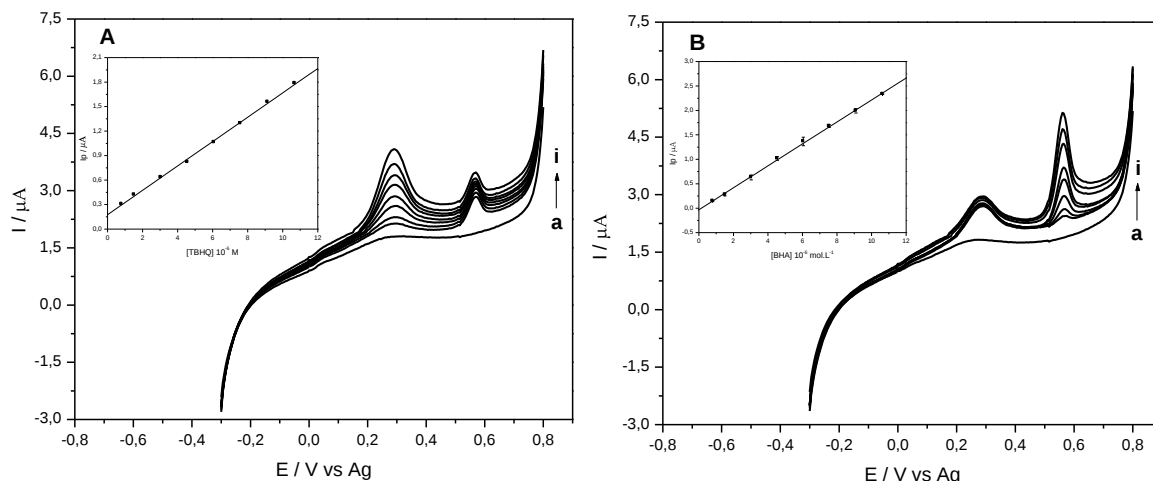


Figura 14 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte, (b-i) $(0,8-10,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (A) TBHQ, mantendo a concentração do BHA constante em $3,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e (B) BHA, mantendo a concentração do TBHQ constante em $4,50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. **(Inserção)** Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração do (A) TBHQ e (B) BHA. $\nu = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

Após o estudo da dependência da corrente de pico de oxidação com o aumento da concentração dos antioxidantes adicionados individualmente, voltamogramas de varredura linear foram registrados – em diferentes concentrações ($8,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) dos antioxidantes TBHQ e BHA, cujas adições foram simultâneas para ambos os antioxidantes. A partir dos valores de I_{pa} obtidos nos voltamogramas da **Figura 15A**, construíram-se as curvas analíticas, as quais são representadas pelas duas relações lineares, **Inserção A e B**, respectivamente. As equações de regressão linear para as curvas são descritas como: $I_{pa} (\mu A) = 0,18 + 0,116 \times C_{TBHQ} (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, $r = 0,999$, para TBHQ (**Inserção A**) e $I_{pa} (\mu A) = -0,024 + 0,203 \times C_{BHA} (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, $r = 0,999$, para BHA (**Inserção B**).

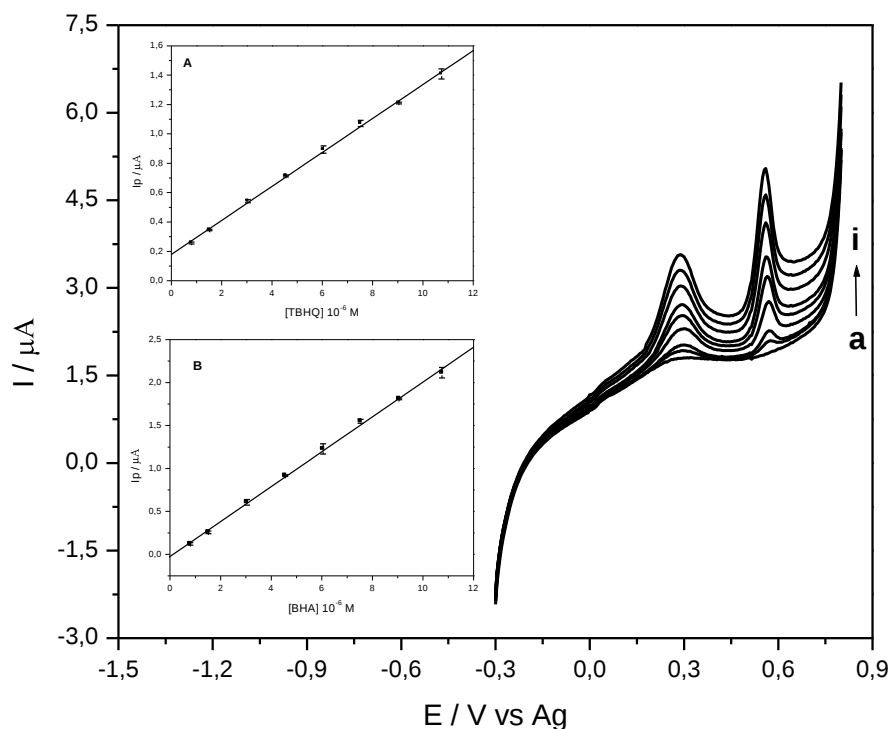


Figura 15 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte, (b-i) $(0,8-10,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e BHA. (**Inserção**) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração do TBHQ (A) e BHA (B). $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

3.6.2 Presença da matriz

O efeito da matriz na detecção dos antioxidantes foi avaliado com o objetivo de observar uma possível interferência da amostra no perfil voltamétrico e na intensidade do sinal. Sendo assim, estudos foram realizados na presença da matriz, a qual foi isenta dos antioxidantes de interesse. Portanto, uma alíquota do biodiesel sem contaminação foi adicionada à célula eletroquímica contendo o eletrólito de suporte e, a seguir, realizada as medidas eletroquímicas para o branco e as, respectivas, adições do padrão de TBHQ e BHA.

Na **Figura 16A**, estão apresentados os voltamogramas de varredura linear registrados em diferentes concentrações ($5,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) do TBHQ mantendo-se a concentração do BHA constante em $4,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e a **Figura 16B** estão apresentados os voltamogramas de varredura linear registrados em diferentes concentrações ($5,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) do BHA mantendo-se a concentração do

TBHQ constante em $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Analisando os voltamogramas, verifica-se que a corrente de pico de oxidação para TBHQ não foi influenciada pela oxidação do antioxidante BHA, uma vez que não houve deslocamento no potencial de pico de oxidação para nenhum dos antioxidantes avaliados; resultado coerente com o observado nos voltamogramas registrados na ausência da matriz (**Fig. 14A e 14B**). A partir dos valores de corrente de pico anódica (I_{pa}), obtidos nos voltamogramas da **Figura 16A e 16B**, construiu-se duas curvas analíticas, as quais foram lineares em todo o intervalo de concentração estudado para cada antioxidante, com equação de regressão linear: $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,26 + 0,128 \times C_{TBHQ} (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, $r = 0,999$ e $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,096 + 0,221 \times C_{BHA} (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, $r = 0,999$.

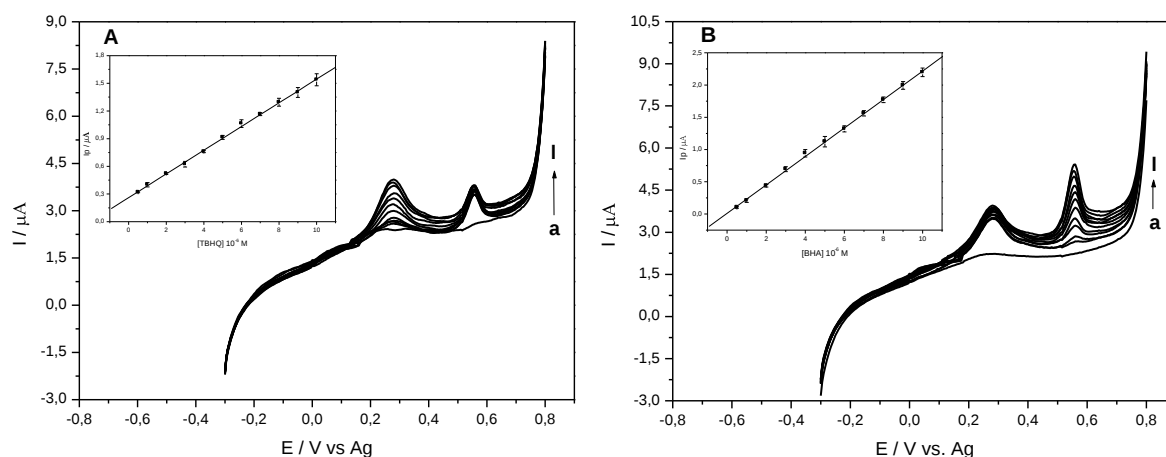


Figura 16 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol, $40 \mu\text{L}$ de solução amostra do biodiesel não contaminado com antioxidantes (ver preparo **seção 2.3.3**) e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte, (b-l) $(0,5-10,0) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (A) TBHQ, mantendo a concentração do BHA constante em $4,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e (B) BHA, mantendo a concentração do TBHQ constante em $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. (**Inserção**) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração do (A) TBHQ e (B) BHA. $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

Após observar nenhuma interferência da matriz da oxidação eletroquímica dos antioxidantes TBHQ e BHA, voltamogramas de varredura linear foram registrados em diferentes concentrações para TBHQ e BHA no intervalo de $5,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A partir dos valores das I_{pa} obtidos nos voltamogramas (**Figura 17A**), foram construídas as curvas analíticas, onde duas relações lineares no intervalo de concentração estudado foram encontradas com equação de regressão linear de $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,27 + 0,126 \times C_{TBHQ}$

(10^{-6} mol L $^{-1}$), $r = 0,999$, para TBHQ (**Inserção A**) e I_{pa} (μ A) = $0,17 + 0,199 \times C_{BHA}$ (10^{-6} mol L $^{-1}$), $r = 0,999$, para BHA (**Inserção B**).

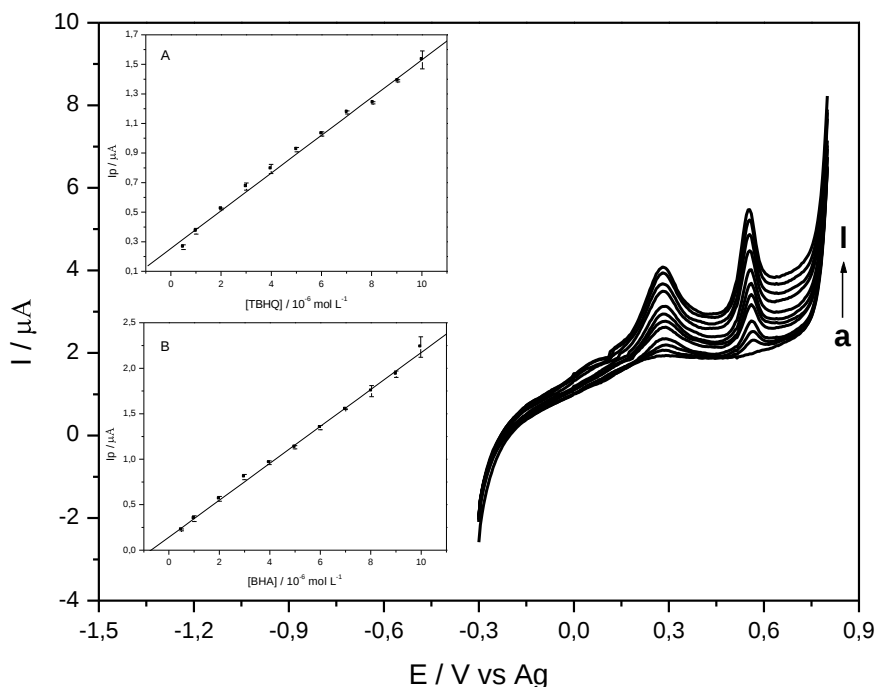


Figura 17 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R 0,04 mol L $^{-1}$ pH 2,00 contendo 2% de metanol, 40 μ L de solução amostra do biodiesel não contaminado com antioxidantes (ver preparo **seção 2.3.3**) e $5,02 \times 10^{-4}$ mol L $^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte, (b-l) $(0,5-10,0) \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ do TBHQ e BHA. (**Inserção**) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração do TBHQ (**A**) e BHA (**B**). $v = 150$ mV s $^{-1}$.

Para avaliar a sensibilidade da metodologia analítica, o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram estabelecidos empregando a seguinte relação matemática: $LD = 3,3 \times DP/b$ e $LQ = 10 \times DP/b$ [97]. **DP** representa o desvio padrão da média aritmética de dez medidas do branco no mesmo potencial de oxidação do antioxidante e **b** representa o coeficiente angular da curva analítica.

Os limites de detecção obtidos para TBHQ (**Tabela 4**) e BHA (**Tabela 5**) foram: $3,41 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$ e $1,78 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$, respectivamente e os limites de quantificação: $1,14 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ e $5,93 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$, respectivamente, indicando limites bastante satisfatórios, uma vez que os parâmetros obtidos da curva analítica dos antioxidantes TBHQ e BHA estão muito abaixo do valor encontrado na literatura [63], o que viabiliza o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica empregando o uso de

eletrodos impressos para a quantificação dos antioxidantes TBHQ e BHA em amostras do biodiesel, sem pré-tratamento.

Tabela 4 - Parâmetros obtidos da curva analítica mostrada na Figura 17 para TBHQ.

Parâmetros	Método proposto	Literatura [63]
Intervalo linear (mol L^{-1})	$(0,05-1,00) \times 10^{-5}$	$(2-14) \times 10^{-5}$
Coeficiente de correlação (r)	0,999	0,997
Intercepto (μA)	0,27	0,9
Inclinação ($\mu\text{A Lmol}^{-1}$)	$1,26 \times 10^{-5}$	$1,73 \times 10^{-5}$
LD (mol L^{-1})	$3,41 \times 10^{-7}$	$7,4 \times 10^{-6}$
LQ (mol L^{-1})	$1,14 \times 10^{-6}$	$2,5 \times 10^{-5}$

Tabela 5 - Parâmetros obtidos da curva analítica mostrada na Figura 17 para BHA.

Parâmetros	Método proposto	Literatura [63]
Intervalo linear (mol L^{-1})	$(0,05-1,00) \times 10^{-5}$	$(20-100) \times 10^{-5}$
Coeficiente de correlação (r)	0,999	0,991
Intercepto (μA)	0,17	2,5
Inclinação ($\mu\text{A Lmol}^{-1}$)	$1,99 \times 10^{-5}$	55×10^{-5}
LD (mol L^{-1})	$1,78 \times 10^{-7}$	$1,04 \times 10^{-4}$
LQ (mol L^{-1})	$5,93 \times 10^{-6}$	$3,14 \times 10^{-4}$

3.7. Determinação de TBHQ e BHA em Amostras de Biodiesel

O método desenvolvido foi aplicado para a determinação dos antioxidantes TBHQ e BHA em amostras do biodiesel seguindo a metodologia descrita na parte experimental (seção 2.3.3). Os níveis de contaminação das amostras de biodiesel com os antioxidantes TBHQ e BHA foram escolhidos a partir de resultados encontrados na literatura [10, 27].

Após aditivação do biodiesel (seção 2.3.2) com concentração conhecida dos antioxidantes TBHQ e BHA, a amostra foi diluída em etanol e uma alíquota de 40 μL foi adicionada à célula eletroquímica contendo a solução do eletrólito suporte composta por, tampão B-R 0,10 mol L^{-1} (pH 2,0), etanol (2,0%) e o surfactante BCTA na concentração de

$5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O voltamograma registrado para a amostra do biodiesel na ausência de antioxidantes (**Fig. 20**, voltamograma **a**), mostra que não há nenhum pico que possa interferir na detecção dos compostos de interesse analítico. Da mesma forma, os voltamogramas registrados para a amostra do biodiesel contendo os antioxidantes TBHQ e BHA, na proporção de 666 mg L^{-1} : 333 mg L^{-1} (**Fig. 20**, voltamograma **b**), também mostram ausência de interferências decorrentes de componentes presentes na matriz. De acordo com a Figura 20, é possível observar que os picos de oxidação dos antioxidantes TBHQ e BHA, podem ser facilmente detectados sem qualquer interferência de possíveis contaminantes da matriz. Assim sendo, para determinar a concentração dos antioxidantes na amostra, foi utilizado o método da adição de padrão, em que os voltamogramas (**Fig. 20**, voltamogramas **c-e**) correspondem a estas adições. Este mesmo procedimento foi realizado para todas as amostras avaliadas.

Adicionalmente, as **Figuras 21 e 22** ilustram os voltamogramas e as, respectivas, curvas de adição de padrão, registrados para as análises realizadas na determinação dos antioxidantes TBHQ e BHA em amostras do biodiesel contaminado com outros níveis de concentração [10, 27].

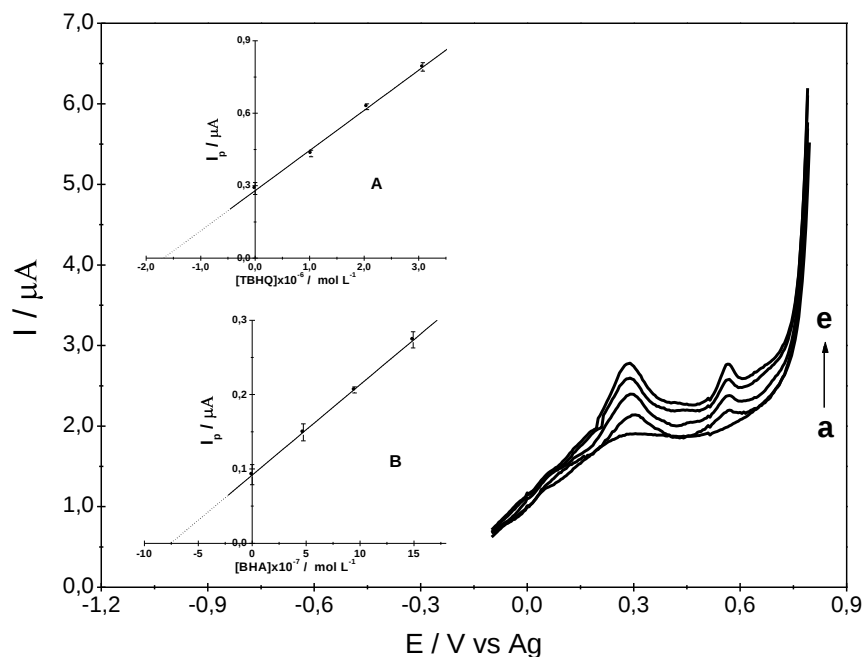


Figura 18 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte e $40 \mu\text{L}$ da amostra de biodiesel sem contaminação dos antioxidantes; (b) $40 \mu\text{L}$ da amostra do biodiesel contaminada com 670 mg L^{-1} de TBHQ e 341 mg L^{-1} de BHA, (c-e) adições sucessivas de $30,0 \mu\text{L}$ da solução padrão $4,18 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e $1,93 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BHA. **(Inserção)** Curvas de adição de padrão do TBHQ (A) e BHA (B). $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

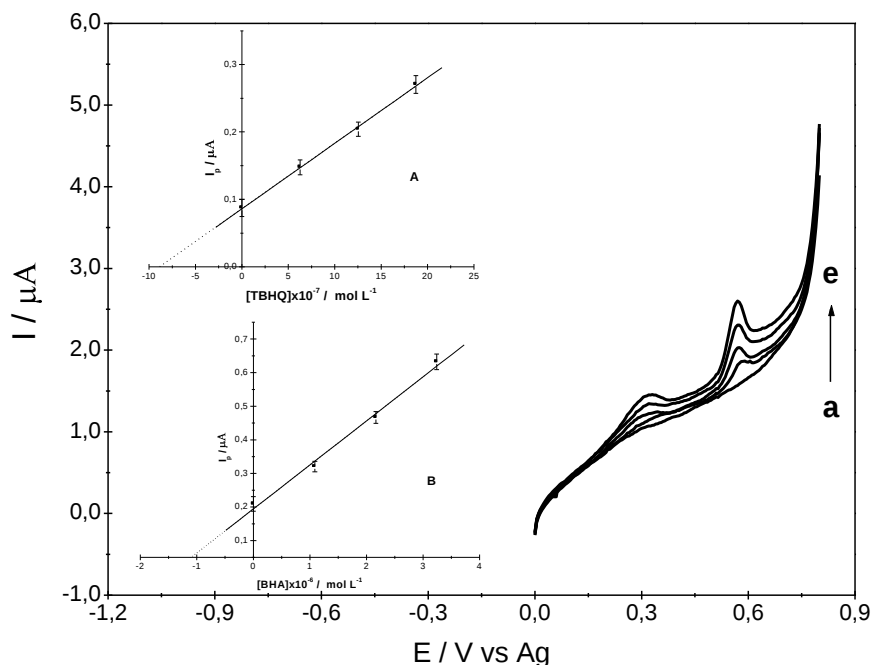


Figura 19 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte e $40 \mu\text{L}$ da amostra de biodiesel sem contaminação dos antioxidantes; (b) $40 \mu\text{L}$ da amostra do biodiesel contaminada com 330 mg L^{-1} do TBHQ e 642 mg L^{-1} do BHA, (c-e) adições sucessivas de $30,0 \mu\text{L}$ da solução padrão $1,98 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e $4,11 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BHA. **(Inserção)** Curvas de adição de padrão do TBHQ (A) e BHA (B). $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

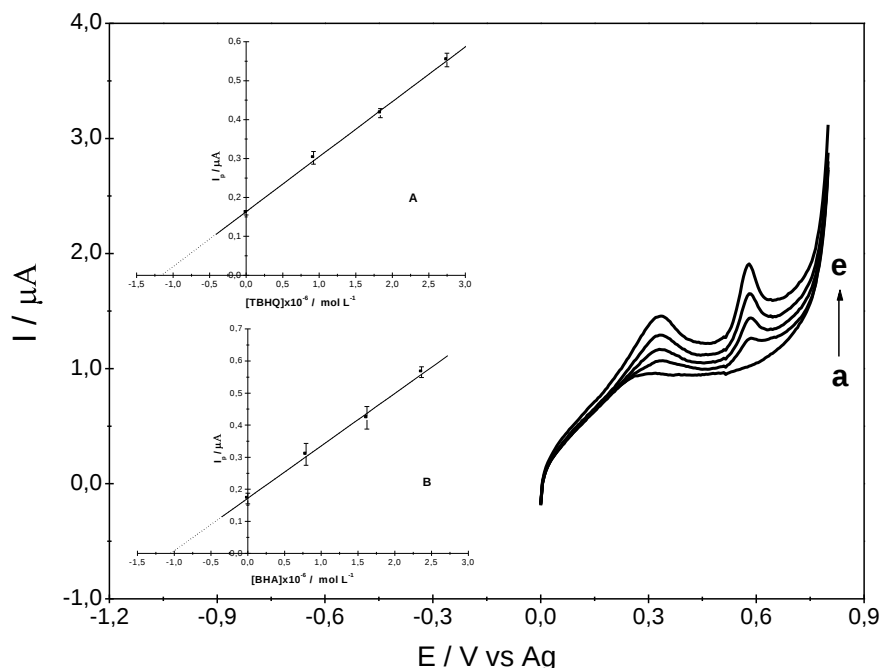


Figura 20 – Voltamogramas de varredura linear registrados sobre a superfície do EINC-PM em meio de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 2% de metanol e $5,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BCTA para: (a) Eletrólito de suporte e $40 \mu\text{L}$ da amostra de biodiesel sem contaminação dos antioxidantes; (b) $40 \mu\text{L}$ da amostra do biodiesel contaminada com 482 mg L^{-1} do TBHQ e 497 mg L^{-1} do BHA, (c-e) adições sucessivas de $30,0 \mu\text{L}$ da solução padrão $3,14 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do TBHQ e $2,70 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do BHA. (**Inserção**) Curvas de adição de padrão do TBHQ (**A**) e BHA (**B**). $v = 150 \text{ mV s}^{-1}$.

Na **Tabela 6** são apresentados os resultados de recuperação obtidos para as análises das amostras de biodiesel contaminadas nos diferentes níveis de concentração dos antioxidantes TBHQ e BHA bem como os valores de % do desvio padrão relativo (DPR), os quais permitem avaliar a precisão do método proposto.

Conforme pode ser observado, os valores das recuperações foram aceitáveis, variando entre 91,90 e 110,0%, cujos resultados indicam que a metodologia proposta é promissora para ser aplicada na determinação destes antioxidantes nesta matriz. Além disso, os valores de desvio padrão relativo foram satisfatórios, os quais variaram entre 0,52 a 16,0%.

Tabela 6 – Resultados obtidos para as determinações de TBHQ e BHA em biodiesel empregando a metodologia eletroanalítica proposta utilizando EINC-PM na presença do surfactante BCTA, sob a técnica de voltametria varredura linear.

Adicionado (mg L ⁻¹)		Encontrado ^a (mg L ⁻¹)		Recuperação (%)		DPR ^a (%)	
TBHQ	BHA	TBHQ	BHA	TBHQ	BHA	TBHQ	BHA
670	341	694 ± 7,10	343 ± 3,70	103,6	100,7	1,02	1,07
670	362	675 ± 3,60	350 ± 4,50	100,8	96,70	0,52	1,28
674	338	697 ± 11,0	340 ± 6,45	103,5	98,80	1,83	7,86
330	642	363 ± 5,85	590 ± 8,40	110,0	91,90	1,63	16,0
364	667	369 ± 8,25	672 ± 7,30	101,5	100,8	2,25	2,69
347	638	353 ± 9,50	603 ± 13,0	101,8	94,60	3,28	3,55
482	497	489 ± 4,50	489 ± 11,2	103,0	98,40	3,18	2,41
500	501	489 ± 13,1	476 ± 5,12	97,90	95,05	5,89	1,08
487	501	493 ± 4,60	506 ± 4,52	101,2	101,1	4,91	0,89

^a: DPR: desvio padrão relativo.

3.8. Comparação entre os resultados obtidos com a metodologia eletroanalítica e o método descrito na literatura usando a CLAE

Como descrito na seção 2.3.4, o procedimento cromatográfico utilizado para validação da metodologia proposta foi adaptado do método empregado por Takemoto e colaboradores [95]. O procedimento descrito por estes autores envolve a determinação de antioxidantes sintéticos, incluindo TBHQ e BHA, em amostras oleaginosas utilizando a separação cromatográfica em modo gradiente usando fase móvel contendo metanol:água (acidificada com ácido acético 5% e pH 3,1).

Usando a melhor condição cromatográfica, a qual foi previamente otimizada, estudos monitorando a detecção em diferentes concentrações dos antioxidantes foram realizados. Os dados obtidos, a partir dos valores médios ($n = 3$) da área extraída nos correspondentes cromatogramas, apresentaram relação linear em todo intervalo de concentração estudado, com coeficiente de correlação sempre maior que 0,999. Os valores dos parâmetros analíticos obtidos para estas curvas estão resumidos na Tabela 7, cujos valores podem ser usados para obter a equação de regressão linear.

Tabela 7 – Parâmetros analíticos obtidos dos cromatogramas da curva analítica para TBHQ e BHA.

Parâmetros	TBHQ	BHA
Intervalo linear (mol L ⁻¹)	(0,60–30,0)×10 ⁻⁵	(0,55–27,7)×10 ⁻⁵
LD (mol L ⁻¹)	1,74×10 ⁻⁵	1,30×10 ⁻⁵
LQ (mol L ⁻¹)	5,28×10 ⁻⁵	3,93×10 ⁻⁵
Coeficiente de correlação (r)	0,999	0,999
Intercepto	- 21114	- 15712
Inclinação	4×10 ⁻⁹	4×10 ⁻⁹

Sendo assim, com objetivo de comparar os resultados obtidos empregando a metodologia eletroanalítica com a técnica cromatográfica, amostras de biodiesel de soja foram contaminadas com os mesmos níveis de concentração dos antioxidantes TBHQ e BHA (conforme os níveis que foram utilizados para as medidas eletroanalíticas), e foram submetidas à análise cromatográfica após diluição em metanol (conforme procedimento descrito na seção 2.3.3). O procedimento para contaminação das amostras de biodiesel foram os mesmos empregados para a metodologia eletroanalítica.

Na Tabela 8 são apresentados os resultados obtidos para determinação dos antioxidantes, a partir das análises realizadas com CLAE. Como é possível observar, a concordância entre os resultados experimentais obtidos com o método proposto e o método cromatográfico, indica a exatidão dos resultados obtidos neste trabalho para determinação dos antioxidantes TBHQ e BHA em amostras de biodiesel.

Tabela 8 – Resultados obtidos para as determinações de TBHQ e BHA em biodiesel empregando a metodologia cromatográfica

Adicionado ^a (mg L ⁻¹)		Encontrado ^a (mg L ⁻¹)		Eficiência (%)		DPR (%)	
TBHQ	BHA	TBHQ	BHA	TBHQ	BHA	TBHQ	BHA
666	333	629 ± 35,3	321 ± 11,5	94,39	96,43	0,07	0,08
333	666	309 ± 21,1	661 ± 4,49	92,91	99,32	0,13	0,29
513	503	518 ± 1,01	502 ± 1,00	100,9	99,8	0,17	0,12

CONCLUSÃO

Os estudos realizados neste trabalho mostraram a possibilidade de determinação simultânea dos antioxidantes *t*-butilhidroquinona (TBHQ) e *t*-butilhidroxianisol (BHA) em amostras de biodiesel de soja empregando a técnica de voltametria de varredura linear e eletrodos impressos de carbono modificados com nanotubos de carbono de parede múltipla (EINC-PM). Ambos os antioxidantes, TBHQ e BHA, apresentaram picos de oxidação com características de um processo irreversível, cujo comportamento foi verificado empregando a voltametria cíclica e trabalhos encontrados na literatura.

Para o desenvolvimento da metodologia de determinação dos antioxidantes foram otimizados os seguintes parâmetros e condições: técnica voltamétrica (voltametria de varredura linear), tipo de surfactante (catiônico – BCTA), pH do eletrólito de suporte Britton-Robinson (pH 2,0) e a concentração do surfactante ($5,02 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹). A metodologia desenvolvida para a determinação simultânea dos antioxidantes foi aplicada em amostras de biodiesel contaminadas em diferentes níveis de concentração dos antioxidantes TBHQ e BHA. Os resultados obtidos para este procedimento foram satisfatórios, com aceitável exatidão e precisão, comparáveis com os obtidos pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Esses resultados, aliados ao baixo custo, rapidez e sensibilidade das análises demonstram a viabilidade do método proposto. Devido à simplicidade do material eletródico (eletrodos impressos) empregado, a presente metodologia analítica pode ser utilizada para análises em campo “*on-site*”, além da facilidade do uso destes dispositivos e a simplicidade na medida da resposta eletroquímica.

REFERÊNCIAS

- [1]. GEORGOGIANNI, K.G.; KONTOMINAS, M.G.; POMONIS, P.J.; AVLONITIS, D.; GERGIS, V. Conventional and in situ transesterification of sunflower seed oil for the production of biodiesel. **Fuel Processing Technology**. v. 89, p. 503-509, 2008.
- [2]. KNOTHE, G. Analyzing Biodiesel: Standards and Other Methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 83, n. 10, p. 823-833, 2006.
- [3]. PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L.L.N.; REZENDE, M.J.C.; RIBEIRO, N.M.; TORRES, E.A.; LOPES, W.A.; PEREIRA, P.A.P.; ANDRADE, J.B. Biodiesel: An Overview. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**. v. 16, p. 1313-1330, 2005.
- [4]. JAIN, S.; SHARMA, M. P. Correlation development for effect of metal contaminants on the oxidation stability of Jatropha curcas biodiesel. **Fuel**. v. 90, p. 2045-2050, 2011.
- [5]. ARAÚJO, S. V.; LUNA, F.M.T.; ROLA JR., E.M.; AZEVEDO, D.C.S.; CAVALCANTE JR., C.L. A rapid method for evaluation of the oxidation stability of castor oil FAME: influence of antioxidant type and concentration. **Fuel Processing Technology**. v. 90, p. 1272-1277, 2009.
- [6]. Biodiesel SEBRAE. Disponível em: http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/galerias/arquivos/biodiesel/Cartilha_Sebrae_portugues.pdf. Acesso: 6 de Março de 2012, 09:43 h.
- [7]. MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A.R.P.; LIÃO, L.M.; FERREIRA, A.G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Talanta**. v. 77, p. 593-605, 2008.
- [8]. VARATHARAJAN, K.; CHERALATHAN, M.; VELRAJ, R. Mitigation of NO_x emissions from a jatropha biodiesel fuelled DI diesel engine using antioxidant additives. **Fuel**. v. 90, p. 2721-2725, 2011.

-
- [9]. LIN, Y-C. Comparison of PAH and regulated harmful matter emissions from biodiesel blends and paraffinic fuel blends on engine accumulated mileage test. **Fuel**. v. 85, p. 2516-2523, 2006.
- [10]. HESS, M. A.; HAAS, M.J.; FOGLIA, T.A.; MARMER, W.N. Effect of Antioxidant Addition on NO_x Emissions from Biodiesel. **Energy & Fuels**. v. 19, p. 1749-1754, 2005.
- [11]. MCCORMICK, R.L.; GRABOSKI, M.S.; ALLEMAN, T.L.; HERRING, A.M. Impact of Biodiesel Source Material and Chemical Structure on Emissions of Criteria Pollutants from a Heavy-Duty Engine. **Environmental Science & Technology**. v. 35, n. 9, p. 1742-1747, 2001.
- [12]. DE ARAUJO, T. A. **Desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para determinação de antioxidantes sintéticos em biodiesel produzido no Estado do Mato Grosso do Sul**. 2010. 161 f.. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
- [13]. KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1059–1070, 2005
- [14]. JAIN, S.; SHARMA, M. P. Stability of biodiesel and its blends: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 14, p. 667-678, 2010.
- [15]. CHAITHONGDEE, D.; CHUTMANOP, J.; SRINOPHAKUN, P. Effect of Antioxidants and Additives on the Oxidation Stability of Jatropha Biodiesel. **Kasetsart Journal : Natural Science**. v. 44, p. 243-250, 2010.
- [16]. DINKOV, R. Effect of commercially available antioxidants over biodiesel/diesel blends stability. **Fuel**. v. 88, p. 732-737, 2009.
- [17]. KIVEVELE, T. T.; MBARAWA, M.M.; BERECZKY, A.; LAZA, T.; MADARASZ, J. Impact of antioxidant additives on the oxidation stability of biodiesel produced from Croton *Megalocarpus* oil. **Fuel Processing Technology**. v. 92, p. 1244-1248, 2011.
- [18]. RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes Utilizados Em Óleos, Gorduras e Alimentos Gordurosos. **Química Nova**. v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.
-

- [19]. LI, S-G.; XUE, W-T.; ZHANG, H. Voltammetric Behavior and Determination of Tocopherol in Vegetable Oils at a Polypyrrole Modified Electrode. **Electroanalysis**. v. 18, n. 23, p. 2337-2342, 2006.
- [20]. FERRARI, R. A.; DE SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**. v. 32, n. 1, p. 106-111, 2009.
- [21]. KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. **Fuel Processing Technology**. v. 88, p. 669-677, 2007.
- [22]. MITTELBAACH, M.; SCHOBBER, S. The Influence of Antioxidants on the Oxidation Stability of Biodiesel. **Journal of the American Oil Chemists Society**. v. 80, n. 8, p. 817-823, 2003.
- [23]. DUNN, R. O. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1071-1085, 2005.
- [24]. DUNN, R. O. Effect of Oxidation Under Accelerated Conditions on Fuel Properties of Methyl Soyate (biodiesel). **Journal of the American Oil Chemists Society**. v. 79, n. 9, p. 915-920, 2002.
- [25]. TANG, H.; DE GUZMAN, R.C.; SIMON NG, K.Y.; SALLEY, S.O. Effect of Antioxidants on the Storage Stability of Soybean-Oil-Based Biodiesel. **Energy Fuels**. v. 24, p. 2028-2033, 2010.
- [26]. MAIA, E.C.R.; BORSATO, D.; MOREIRA, I.; SPACINO K.R.; RODRIGUES P.R.P.; GALLINA, A.L. Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants. **Fuel Processing Technology**. v. 92, p. 1750-1755, 2011.
- [27]. GUZMAN, R.; TANG, H.; SALLEY, S.; NG, K. Y. S. Synergistic Effects of Antioxidants on the Oxidative Stability of Soybean Oil- and Poultry Fat-Based Biodiesel. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 86, p. 459 – 467, 2009.
- [28]. DOMINGOS, A.K.; SAAD, E.B.; VECHIATTO, W.W.D.; WILHELM, H.M.; RAMOS, L.P. The Influence of BHA, BHT and TBHQ on the Oxidation

- Stability of Soybean Oil Ethyl Esters (Biodiesel). **Journal of Brazilian Chemical Society**. v. 18, n. 2, p. 416-423, 2007.
- [29]. ROBARDS, K.; DILLI, S. Analytical Chemistry of Synthetic Food Antioxidants A Review. **Analyst**. v. 112, p. 933-943, 1987.
- [30]. ANDRÉ, C.; CASTANHEIRA, I.; CRUZ, J.M.; PASEIRO, P.; SANCHES-SILVA A. Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 21, p. 229-246, 2010.
- [31]. YANG, M.; LIN, H.; CHOONG, Y. A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. **Food Research International**. v. 35, p. 627-633, 2002.
- [32]. SUH, H. J.; CHUNG, M. S.; CHO, Y. H.; KIM, J. W.; KIM, D. H.; HAN, K. W. Estimated daily intakes of butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) and tert-butyl hydroquinone (TBHQ) antioxidants in Korea. **Food Additives and Contaminates**. v. 22, n. 12, p. 1176-1188, 2005.
- [33]. TOMBESI, N. B.; FREIJE, H. Application of solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry to the determination of butylated hydroxytoluene in bottled drinking water. **Journal of Chromatography A**. v. 963, p. 179-183, 2002.
- [34]. HILL, S. S.; SHAW, B. R.; WU, A. H. B. Plasticizers, antioxidants, and other contaminants found in air delivered by PVC tubing used respiratory therapy. **Biomedical Chromatography**. v. 17, p. 250-262, 2003.
- [35]. CHAN, C. C. et al. **Analytical method validation and instrument performance verification**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. 303 p.
- [36]. CIOLA, R. **Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho-HPLC**. São Paulo: Edgard Blucher, 1998. 179 p.
- [37]. PERRIN, C.; MEYER, L. Quantification of synthetic phenolic antioxidants in dry foods by reversed-phase HPLC with photodiode array detection. **Food Chemistry**. v. 77, p. 93-100, 2002.

-
- [38]. PINHO, O.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; FERREIRA, M.A. Quantification of synthetic phenolic antioxidants in liver pâtés. **Food Chemistry**. v. 68, p. 353-357, 2000.
- [39]. DEVI, R. R.; JAYALEKSMY, A.; ARUMUGHAN, C. Antioxidant efficacy of phytochemical extracts from defatted rice bran in the bulk oil system. **Food Chemistry**. v. 104, p. 658-664, 2007.
- [40]. DOPICO-GARCÍA, M. S.; LÓPEZ-VILARIÑO, J. M.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. V. Determination of antioxidant migration levels from low-density polyethylene films into food simulants). **Journal of Chromatography A**. v. 1018, p. 53-62, 2003.
- [41]. HAO, P. P.; NI, J. R.; SUN, W. L.; HUANG, W. Determination of tertiary butylhydroquinone in edible vegetable oil by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. **Food Chemistry**. v. 105, p. 1732-1737, 2007.
- [42]. TAGLIABUE, S.; GASPAROLI, A.; BELLA, D. L.; BIODIOLI, P. Qualitative and quantitative of synthetic antioxidants in biodiesel. **Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse**. v. 81, p. 37-40, 2004.
- [43]. AGÜÍ, M. L.; REVIEJO, A. J.; SEDEÑO, P. Y.; PINGARRÓN, J. M. Analytical Applications of Cylindrical Carbon Fiber Microelectrodes. Simultaneous Voltammetric Determination of Phenolic Antioxidants in Food. **Analytical Chemistry**. v. 67, n. 13, p. 2195-2200, 1995.
- [44]. AGÜÍ, L.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J. M. Analytical Applications of Poly(3-methylthiophene)-Coated Cylindrical Carbon Fiber Microelectrodes. **Electroanalysis**. v. 9, n. 6, p. 468-473, 1996.
- [45]. AGÜÍ, L.; HUERTAS, M.A.L.; SEDEÑO, P.Y.; PINGARRÓN, J.M. Voltammetric behaviour of poly(3-methylthiophene)-coated cylindrical carbon fiber microelectrodes: electrochemical oxidation of the antioxidant propyl gallate. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 414, p. 141-148, 1996.
- [46]. CEBALLOS, C.; FERNÁNDEZ, H. The electroanalytical determination of antioxidants in corn oil using ultramicroelectrodes. *Journal of the Brazilian Chemical Society* v. 6, p. 1-5, 1995.
-

- [47]. CEBALLOS, C.; FERNÁNDES, H. Synthetic Antioxidants in Edible Oils by Square-Wave Voltammetry on Ultramicroelectrodes. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 77, p. 731-735, 2000 a.
- [48]. CEBALLOS, C.; FERNÁNDES, H. Synthetic antioxidants determination in lard and vegetable oils by the use of voltammetric methods on disk ultramicroelectrodes. **Food Research International**. v. 33, p. 357-365, 2000 b.
- [49]. CEBALLOS, C.; FERNÁNDES, H. Using Square Wave Voltammetry on Ultramicroelectrodes To Determine Synthetic Antioxidants in Vegetable Oils. **Journal of Chemical Education**. v. 83, n. 9, p. 1349-1352, 2006.
- [50]. DIAZ, T.G.; CABANILLAS, A.G.; FRANCO, M.F.A.; SALINAS, F.; VIRÉ, J.C. Voltammetric Behavior and Simultaneous Determination of the Antioxidants Propyl Gallate, Butylated Hydroxyanisole, and Butylated Hydroxytoluene in Acidic Acetonitrile-Water Medium Using PLS Calibration. **Electroanalysis**. v. 10, n. 7, p. 497-505, 1998.
- [51]. NI, Y.; WANG, L.; KOKOT, S. Voltammetric determination of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, propyl gallate and tert-butylhydroquinone by use of chemometric approaches. **Analytica Chimica Acta**. v. 412, p. 185-193, 2000.
- [52]. DIAZ, T.G.; MERÁS, I.D.; CABANILLAS, A.G.; FRANCO, M.F.A. Voltammetric behavior and determination of tocopherols with partial least squares calibration: analysis in vegetable oil samples. **Analytica Chimica Acta**. v. 511, p. 231-238, 2004.
- [53]. PILJAC-ŽEGARAC, J.; VALEK, L.; STIPČEVIĆ, T.; MARTINEZ, S. Electrochemical determination of antioxidant capacity of fruit tea infusions. **Food Chemistry**. v. 121, p. 820-825, 2010.
- [54]. FOLEY, L.; KIMMERLE, F. M. Pulse Voltammetric Determination of Butylated Hydroxy Toluene in Transformer Oils. **Analytical Chemistry**. v. 51, n. 7, p. 818-822, 1979.
- [55]. SURAREUNGCHAI, W.; KASIWAT, D. Electroanalysis of tert-Butylhydroquinone in Edible Oil at a Nafion-Coated Probe. **Electroanalysis**. v. 12, n. 14, p. 1124-1129, 2000.

- [56]. MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants in food using a boron-doped diamond electrode. **Food Chemistry**. v. 123, n. 3, p. 886-891, 2010.
- [57]. ZHANG, X.; PADDON, C.A.; CHAN, Y.; BULMAN-PAGE, P.C.; FORDRED, P.S.; BULL, S.D.; CHANG, H-C.; RIZVI, N.; MARKENA, F. Voltammetric Antioxidant Analysis in Mineral Oil Samples Immobilized into Boron-Doped Diamond Micropore Array Electrodes. **Electroanalysis**. v. 21, n. 12, p. 1341-1347, 2009.
- [58]. TORMIN, T.F.; GIMENES, D.T.; SILVA, L.G.; RUGGIERO, R.; RICHTER, E.M.; FERREIRA, V.S.; MUÑOZ, R.A.A. Direct amperometric determination of tert-butylhydroquinone in biodiesel. **Talanta**. v. 82, p. 1599-1603, 2010.
- [59]. 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**. v. 85, p. 1274-1278, 2011.
- [60]. JAISWAL, P. V.; IJERI, V. S.; SRIVASTAVA, A. K. Voltammetric behavior of α -tocopherol and its determination using surfactant + ethanol + water and surfactant + acetonitrile + water mixed solvent systems. **Analytica Chimica Acta**. v. 441, p. 201-206, 2001.
- [61]. ARAÚJO, T.A.; BARBOSA, A.M.J.; VIANA, L.H.; 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**. v. 79, p. 409-414, 2010.
- [62]. ARAÚJO, T.A.; BARBOSA, A.M.J.; VIANA, L.H.; FERREIRA, V.S. Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples. **Fuel**. v. 90, p. 707-712, 2011.
- [63]. FUENTE, C.; ACUÑA, J. A.; VÁZQUEZ, M. D.; TASCÓN, M. L.; 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**. v. 49, p. 441-452, 1999.

- [64]. RAYMUNDO, M. S.; PAULA, M. M. S.; FRANCO, C.; FETT, R. Quantitative determination of the phenolic antioxidants using voltammetric techniques. **LWT**. v. 40, p. 1133-1139, 2007.
- [65]. FREITAS, K. H. G.; FATIBELLO-FILHO, O. Simultaneous determination of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in food samples using a carbon composite electrode modified with $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ immobilized in polyester resin. **Talanta**. v. 81, p. 1102-1108, 2010.
- [66]. NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química Nova**. v. 25, p. 772-776, 2002.
- [67]. VANDAMME, T.F. Microemulsions as ocular drug delivery systems: recent developments and future challenges. **Progress in Retinal and Eye Research**. v. 21, p. 15-34, 2002.
- [68]. MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova** v. 24, n.1, p. 87-93, 2001.
- [69]. RUSLING, J. F. Molecular aspects of electron transfer at electrodes in micellar solutions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 123-124, p. 81-88, 1997.
- [70]. WEN, X-L.; ZHANG, J.; LIU, Z-L.; HAN, Z-X.; RIEKER, A. Micellar effects on the oxidative electrochemistry of lipophilic vitamin C derivatives. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**. p. 905-910, 1998.
- [71]. WEN, X-L.; JIA, T-H.; LIU, Z-L. Micellar effects on the electrochemistry of dopamine and its selective detection in the presence of ascorbic acid. **Talanta**. v. 50, p. 1027-1033, 1999.
- [72]. AVRANAS, A.; KOIMTZOGLU, P.; SEDLÁČKOVÁ, N. Effect of the deaeration on the adsorption of some cationic surfactants at the mercury/electrolyte solution interface. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 296, p. 634-639, 2006.
- [73]. NEZAMZADEH-EJHIEH, A.; BADRI, A. Application of surfactant modified zeolite membrane electrode towards potentiometric determination of perchlorate. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 660, p. 71-79, 2011.

- [74]. TCHEUMI, H.L.; TONLE, I.K.; NGAMENI, E.; WALCARIUS, A. Electrochemical analysis of methylparathion pesticide by a gemini surfactant-intercalated clay-modified electrode. **Talanta**. v. 81, p. 972-979, 2010.
- [75]. BERLOT, I.; LABBÉ, P.; LETELLIER, P.; MOUTET, J-C.; TURMINE, M. Electrochemical characterization of micellization of a pyrrole-substituted cationic surfactant. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 431, p. 57-60, 1997.
- [76]. HOYER, B.; JENSEN, N. Suppression of protein interferences in anodic stripping voltammetry by sodium dodecyl sulphate. **Electrochemistry Communications**. v. 5, p. 257-261, 2003.
- [77]. HOYER, B.; JENSEN, N. Suppression of surfactant interferences in anodic stripping voltammetry by sodium dodecyl sulfate. **Electrochemistry Communications**. v. 5, p. 759-764, 2003.
- [78]. HOYER, B.; JENSEN, N. Use of sodium dodecyl sulfate for suppression of electrode fouling in the voltammetric detection of biologically relevant compounds. **Electroanalysis**. v. 17, p. 2037-2042, 2005.
- [79]. HOYER, B.; JENSEN, N. Stabilization of the voltammetric serotonin signal by surfactants. **Electrochemistry Communications**. v. 8, p. 323-328, 2006.
- [80]. HOYER, B.; JENSEN, N. Stabilization of the voltammetric response of organic analytes with self-passivating electrode reactions: synergistic effect of surfactants and high buffer strength. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 601, p. 153-160, 2007.
- [81]. MOHAMED, G.G.; ALI, T.A.; EL-SHAHAT, M.F.; AL-SABAGH, A.M.; MIGAHED, M.A.; KHALED, E. Potentiometric determination of cetylpyridinium chloride using a new type of screen-printed ion selective electrodes. **Analytica Chimica Acta**. v. 673, p. 79-87, 2010.
- [82]. CARDOSO, J.C.; ARMONDES, B.M.L.; GALINDO JUNIOR, J.B.; FERREIRA, V.S. Simultaneous electrochemical determination of three sunscreens using cetyltrimethylammonium bromide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 63, p. 34-40, 2008.

- [83]. JAIN, R.; RATHER, J. A. Voltammetric determination of antibacterial drug gemifloxacin in solubilized systems at multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 83, p. 340-346, 2011.
- [84]. DAVIDOVIĆ, A.; TABAKOVIĆ, I.; DAVIDOVIĆ, D.; DUIĆ, L. Electrochemical reduction of p-nitrosodiphenylamine in a cationic micellar system. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 280, p. 371-379, 1990.
- [85]. TRINDADE, M. A. G. **Métodos eletroanalíticos e cromatográficos aplicados na Análise de corantes usados como marcadores em combustíveis**. 2009. 195 f.. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.
- [86]. NASCIMENTO, V. B.; ANGNES, L. Eletrodos fabricados por “silk-screen” . **Química Nova**. v. 21, n. 5, p. 614-629, 1998.
- [87]. CARSOL, M-A.; VOLPE, G.; MASCINI, M. Amperometric detection of uric acid and hypoxanthine with Xanthine oxidase immobilized and carbon based screen-printed electrode. Application for fish freshness determination. **Talanta**. v. 44, p. 2151-2159, 1997.
- [88]. TRINDADE, M. A. G.; ZANONI, M. V. B. Voltammetric sensing of the fuel dye marker Solvent Blue 14 by screen-printed electrodes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 138, p. 257-263, 2009.
- [89]. FANJUL-BOLADO, P.; LAMAS-ARDISANAB, P.J.; HERNÁNDEZ-SANTOSA, D.; COSTA-GARCÍA, G. Electrochemical study and flow injection analysis of paracetamol in pharmaceutical formulations based on screen-printed electrodes and carbon nanotubos. **Analytica Chimica Acta**. v. 638, p. 133-138, 2009.
- [90]. SHIH, Y.; ZEN, J-M.; YANG, H-H. Determination of codeine in urine and drug formulations using a clay-modified screen-printed carbon electrode. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 29, p. 827-933, 2002.
- [91]. DE MATTOS, I. L.; GORTON, L. RUZGAS, T. Sensor and biosensor based on Prussian Blue modified gold and platinum screen printed electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 18, p. 193-200, 2003.

- [92]. GE, F.; ZHANG, X-E.; ZHANG, Z-P.; ZHANG, X-M. Simultaneous determination of maltose and glucose using a screen-printed electrode system. **Biosensors & Bioelectronics**. v. 13, n. 3-4, p. 333-339, 1998.
- [93]. ANDREESCU, S.; NOGUER, T.; MAGEARU, V.; MARTY, J-L. Screen-printed electrode based on AChE for the detection of pesticides in presence of organic solvents. **Talanta**. v. 57, p. 169-176, 2002.
- [94]. PEMBERTON, R. M.; HART, J. P. Electrochemical behaviour of triclosan at a screen-printed carbon electrode and its voltammetric determination in toothpaste and mouthrinse products. **Analytica Chimica Acta**. v. 390, p. 107-115, 1999.
- [95]. TAKEMOTO, E.; TEIXERA FILHO, J.; GODOY, H. T. Validação de Metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. **Química Nova**. v. 32, p. 1189-1194, 2009.
- [96]. BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Electrochemical methods fundamentals and applications, 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- [97]. RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. v. 27, p. 771 – 780, 2004.
- [98]. HE, J-B.; YUAN, S-J.; DU, J-Q.; HU, X-R.; WANG, Y. Voltammetric and spectral characterization of two flavonols for assay-dependent antioxidant capacity. **Bioelectrochemistry** v. 75, p. 110–116, 2009.
- [99]. MICHALKIEWICZ, S.; MECHANIK, M.; MALYSZKO, J. Voltammetric Study of Some Synthetic Antioxidants on Platinum Microelectrodes in Acetic Acid Medium. **Electroanalysis** v. 16, n. 7, 2004.
- [100]. GOMES, A.; FERNANDES, E.; GARCIA, M.B.Q.; SILVA, A.M.S.; PINTO, D.C.G.A.; SANTOS, C.M.M.; CAVALEIRO, J.A.S.; LIMA, J.L.F.C. Cyclic voltammetric analysis of 2-styrylchromones: Relationship with the antioxidant activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** v. 16, p. 7939–7943, 2008.