



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



# **Desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para determinação de antioxidantes sintéticos em biodiesel produzido no Estado do Mato Grosso do Sul.**

Tatiane Alfonso de Araujo

TESE DE DOUTORADO apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em “Química do Cerrado e do Pantanal”, convênio Multiinstitucional UFG/UFMS/UFU, como parte dos requisitos à obtenção do título de Doutor em Química.

**Orientador: Profº. Dr. Valdir Souza Ferreira**

**Co-orientador: Profº. Dr. Luiz Henrique Viana**

CAMPO GRANDE-MS  
2010



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL DE DOUTORADO EM QUÍMICA  
UFG/UFMS/UFU**

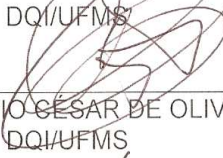
**TERMO DE DEFESA DE TESE  
DE  
TATIANE ALFONSO DE ARAUJO**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS ELETROANALÍTICAS PARA  
DETERMINAÇÃO DE ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS EM BIODIESEL PRODUZIDO NO  
ESTADO DO MATO GROSSO DO SUL**

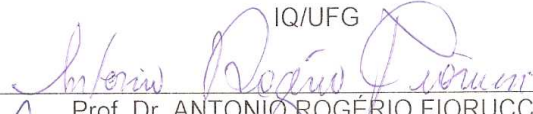
Tese de Doutorado submetida à Comissão Julgadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação – Nível de Doutorado Multiinstitucional em Química – UFG/UFMS/UFU, (Resolução nº 22/2010) da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutora em Química – Área de Concentração: Química do Cerrado e do Pantanal.

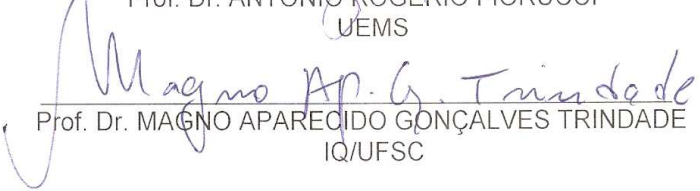
Aprovada Por:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. VALDIR SOUZA FERREIRA  
Orientador e Presidente da Comissão Julgadora  
DQI/UFMS

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. SILVIO CÉSAR DE OLIVEIRA  
DQI/UFMS

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. WENDELL KARLOS TOMAZELLI COLTRO  
IQ/UFG

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. ANTONIO ROGÉRIO FIORUCCI  
UEMS

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. MAGNO APARECIDO GONÇALVES TRINDADE  
IQ/UFSC

Campo Grande, 08 de outubro de 2010.

*“De tudo ficaram três coisas...  
A certeza de que estamos começando...  
A certeza de que é preciso continuar... e  
A certeza de que podemos ser interrompidos  
antes de terminar...  
Façamos da interrupção um caminho novo...  
Da queda, um passo de dança...  
Do medo, uma escada...  
Do sonho, uma ponte...  
Da procura, um encontro!  
E assim... terá valido a pena existir!”*

*Fernando Sabino*

## *DEDICATÓRIA*

*Aos meus amados pais, Norma e Ronaldo, que me propiciaram chegar até onde cheguei, graças a sua árdua luta, ao apoio, estímulo, dedicação e amor incondicional!*

*Aos meus irmãos, Thayane e Thiago, por toda compreensão e carinho!*

*E ao Junior, um companheiro sempre presente e disposto a ajudar, e acima de tudo, uma pessoa maravilhosa que apareceu na minha vida, e me mostrou que o mais importante da vida é ser feliz!*

*Essas palavras são pouco para expressar todo o meu amor por vocês!*

## **AGRADECIMENTOS**

- ✓ A Deus, por todas as oportunidades que surgiram em minha vida! Por estar sempre conduzindo meus passos, iluminado minha caminhada e dando-me forças para seguir em frente!
- ✓ Ao Prof. Dr. Valdir não somente pela orientação, mas por acreditar e aceitar-me novamente em seu grupo de pesquisa. Agradeço profundamente, por todas as oportunidades concedidas e pela confiança a mim sempre depositada. Meu especial agradecimento pelos ensinamentos, discussões, apoio e convivência nestes oito anos de parceria! Sou muito grata ...muito obrigada!
- ✓ Ao Dr. Luiz Henrique Viana por toda a contribuição nesta pesquisa.
- ✓ Ao Antônio Marcos, que nestes dois anos e meio de doutorado foi um parceiro diário de laboratório, bancada e orientador, sempre pronto a ajudar na realização desta pesquisa. Mas não somente como parceiro, como também amigo, uma pessoa maravilhosa que surgiu em minha vida no início da realização deste trabalho e que espero para sempre estar presente na minha lista de amigos.
- ✓ Ao Franklin, que mostrou toda sua competência e bondade contribuindo para realização deste trabalho.
- ✓ A Gemima, que tal como Franklin todos os dias se mostra uma excelente profissional pronta a aprender e me auxiliar.
- ✓ Ao Dr. Magno por toda a ajuda concedida, pelas discussões, incentivo e sugestões nos mais diversos campos da vida e da química. E acima de tudo um grande amigo sempre disposto a me auxiliar.
- ✓ A Dr. Adriana por ter sido uma grande incentivadora e motivadora deste trabalho, assim como uma grande amiga que encontrei nesses últimos dois anos e meio, tanto para momentos agradáveis, como para os não tão bons assim!

- ✓ A amiga Simone, pela ajuda de sempre, pelas boas risadas e amizade de dez anos!!!
- ✓ A amiga Michelli pelos seus ouvidos sempre dispostos a me escutar, mesmo quanto estive insuportável.
- ✓ A Jacqueline por sua adorável companhia!
- ✓ A Daniela, pelo exemplo de profissionalismo e fraternidade.
- ✓ Aos companheiros de eletroanalítica Joseane, Bruno, Fábio e Ricardo pela convivência e auxílios sempre prestados.
- ✓ Ao Msc. Hebert, Msc. Maxuell, Dr<sup>a</sup> Andréa e Dr<sup>a</sup> Marly sempre dispostos a ajudar.
- ✓ Ao amigo Juliano que mesmo distante, sempre se mostrou acessível e disposto a colaborar.
- ✓ A amiga Kelen que sempre esteve do meu lado, carinhosamente me fazendo enxergar o lado bom das coisas... nestes dez anos de amizade!!!
- ✓ A Dr<sup>a</sup>. Merlin, pessoa que desde o mestrado me incentiva e apóia nessa trajetória.
- ✓ Ao casal JB e Adriana, com sua adorável e simpática companhia!
- ✓ Especialmente ao alicerce da minha vida... minha família...Pai, Mãe, Thay, Thi e Jr...! Obrigada pela minha formação, companheirismo, ajuda, carinho e amor a mim dedicados!
- ✓ Ao DQI/UFMS pelo espaço e infra-estrutura disponibilizada para a realização desta pesquisa.
- ✓ A FUNDECT por todo o auxílio financeiro concedido.
- ✓ A todos que embora não citados nominalmente de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, o meu mais sincero OBRIGADA!

“ O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.” (Fernando Pessoa)

## SUMÁRIO

|                                                                       |          |
|-----------------------------------------------------------------------|----------|
| LISTA DE FIGURAS.....                                                 | i        |
| LISTA DE TABELAS.....                                                 | x        |
| LISTA DE ESQUEMAS.....                                                | xi       |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS. ....                                  | xii      |
| LISTA DE SÍMBOLOS .....                                               | xiv      |
| RESUMO.....                                                           | xv       |
| ABSTRACT .....                                                        | xvi      |
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                            | <b>1</b> |
| 1.1. Histórico do biodiesel .....                                     | 1        |
| 1.2. Importância do desenvolvimento da Tecnologia do Biodiesel.....   | 3        |
| 1.2.1. Substituição aos combustíveis derivados do petróleo .....      | 3        |
| 1.2.2. Benefícios ambientais .....                                    | 4        |
| 1.2.3. Vantagens econômicas .....                                     | 5        |
| 1.3. Tecnologias de produção de Biodiesel.....                        | 7        |
| 1.4. Desafios para Implantação do Biodiesel .....                     | 8        |
| 1.5. Oxidação: um problema relacionado à qualidade do Biodiesel ..... | 9        |
| 1.6. Antioxidantes.....                                               | 11       |
| 1.6.1. Antioxidantes Naturais.....                                    | 13       |
| 1.6.1.1. Tocoferóis .....                                             | 13       |
| 1.6.1.2. Ácidos Fenólicos .....                                       | 13       |
| 1.6.2. Antioxidantes Sintéticos.....                                  | 14       |
| 1.7. Antioxidantes em biodiesel .....                                 | 15       |
| 1.8. Metodologias para determinação de antioxidantes.....             | 20       |

|                                                                                                                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.8.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....                                                                                                     | 20        |
| 1.8.2. Métodos Colorimétricos e Espectrofotométricos .....                                                                                                       | 22        |
| 1.8.3. Cromatografia Gasosa (CG).....                                                                                                                            | 23        |
| 1.8.4. Eletroforese Capilar (EC) e Cromatografia Capilar Eletrocinética Micelar (CCEM).....                                                                      | 24        |
| 1.8.5. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier.....                                                                                          | 24        |
| 1.8.6. Técnicas Eletroanalíticas .....                                                                                                                           | 24        |
| 1.9. Surfactantes .....                                                                                                                                          | 27        |
| 1.9.1. Classificação dos surfactantes .....                                                                                                                      | 29        |
| 1.9.2. Uso de Surfactantes em estudos eletroquímicos .....                                                                                                       | 29        |
| 1.10. OBJETIVOS .....                                                                                                                                            | 31        |
| <b>2. PARTE EXPERIMENTAL .....</b>                                                                                                                               | <b>32</b> |
| 2.1. Reagentes.....                                                                                                                                              | 32        |
| 2.2. Soluções.....                                                                                                                                               | 32        |
| 2.3. Equipamentos .....                                                                                                                                          | 33        |
| 2.4. Amostras .....                                                                                                                                              | 34        |
| 2.5. Procedimentos Experimentais .....                                                                                                                           | 34        |
| 2.5.1. Limpeza dos materiais.....                                                                                                                                | 34        |
| 2.5.2. Confecção dos Eletrodos de Pasta de Carbono (EPC) .....                                                                                                   | 35        |
| 2.5.3. Medidas eletroquímicas .....                                                                                                                              | 36        |
| 2.5.4. Aditivação de amostras de biodiesel com antioxidantes.....                                                                                                | 36        |
| 2.5.5. Preparo e análise das soluções amostra.....                                                                                                               | 37        |
| 2.5.6. Medidas Cromatográficas .....                                                                                                                             | 38        |
| <b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                                           | <b>39</b> |
| <b>3.1. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel utilizando eletrodo de gotejante de mercúrio .....</b> | <b>39</b> |

|           |                                                                                                                         |    |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1.1.    | Oxidação eletroquímica de TBHQ na superfície do eletrodo de gota de mercúrio .....                                      | 39 |
| 3.1.2.    | Efeito do pH do eletrólito suporte .....                                                                                | 42 |
| 3.1.3.    | Influência do tipo e concentração do eletrólito suporte na oxidação de TBHQ .....                                       | 44 |
| 3.1.4.    | Influência dos Parâmetros Instrumentais .....                                                                           | 46 |
| 3.1.4.1.  | Frequência de Aplicação de Pulsos de Potencial .....                                                                    | 46 |
| 3.1.4.2.  | Amplitude de Aplicação de Pulsos de Potencial .....                                                                     | 47 |
| 3.1.4.3.  | Incremento de varredura de potencial .....                                                                              | 48 |
| 3.1.5.    | Resumo dos Parâmetros Seleccionados .....                                                                               | 49 |
| 3.1.6.    | Curvas Analíticas para TBHQ .....                                                                                       | 50 |
| 3.1.7.    | Aplicação da metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostra de biodiesel de soja .....                | 51 |
| 3.1.8.    | Efeito do pH do eletrólito suporte em presença do surfactante Triton X-100. 54                                          |    |
| 3.1.9.    | Influência do tipo e concentração do eletrólito suporte para oxidação de TBHQ em presença de TX-100 .....               | 55 |
| 3.1.10.   | Influência da concentração de TX-100 para oxidação de TBHQ .....                                                        | 57 |
| 3.1.11.   | Influência dos Parâmetros Instrumentais para oxidação de TBHQ em presença de TX-100 .....                               | 59 |
| 3.1.11.1. | Frequência de Aplicação de Pulsos e Potencial .....                                                                     | 60 |
| 3.1.11.2. | Amplitude de Aplicação de Pulsos e Potencial .....                                                                      | 60 |
| 3.1.11.3. | Incremento de Varredura de Potencial .....                                                                              | 61 |
| 3.1.12.   | Resumo dos Parâmetros Seleccionados .....                                                                               | 61 |
| 3.1.13.   | Curvas Analíticas para TBHQ .....                                                                                       | 62 |
| 3.1.14.   | Aplicação da metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel na presença de TX-100 ..... | 64 |

|                                                                                                                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3.2. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel utilizando eletrodo de pasta de carbono .....</b> | <b>68</b> |
| 3.2.1. Oxidação eletroquímica de TBHQ em superfície de pasta de carbono.....                                                                                | 68        |
| 3.2.2. Otimização da Técnica Voltamétrica para desenvolvimento da metodologia eletroanalítica .....                                                         | 70        |
| 3.2.3. Estudo da composição da pasta de carbono .....                                                                                                       | 71        |
| 3.2.4. Influência do uso de diferentes tipos de surfactante na oxidação de TBHQ                                                                             | 72        |
| 3.2.5. Estudo do pH do eletrólito suporte.....                                                                                                              | 77        |
| 3.2.6. Estudo do tipo de eletrólito suporte.....                                                                                                            | 78        |
| 3.2.7. Estudo da concentração do surfactante BCTA.....                                                                                                      | 79        |
| 3.2.8. Resumo dos Parâmetros Seleccionados .....                                                                                                            | 80        |
| 3.2.9. Construção da Curva Analítica .....                                                                                                                  | 81        |
| 3.2.10. Aplicação da metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel de soja utilizando EPC na presença de BCTA.....         | 82        |
| <b>3.3. Comparação entre os resultados obtidos para as metodologias eletroanalíticas propostas e o método descrito na literatura por CLAE.....</b>          | <b>86</b> |
| <b>3.4. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de GP em amostras de biodiesel utilizando EPC .....</b>                            | <b>90</b> |
| 3.4.1. Oxidação eletroquímica de GP em superfície de EPC.....                                                                                               | 90        |
| 3.4.2. Otimização da Técnica Voltamétrica para desenvolvimento da metodologia eletroanalítica .....                                                         | 91        |
| 3.4.3. Estudo da composição da pasta de carbono .....                                                                                                       | 92        |
| 3.4.4. Influência do uso de diferentes tipos de surfactante na oxidação de GP .....                                                                         | 93        |
| 3.4.5. Influência do pH do eletrólito suporte.....                                                                                                          | 95        |
| 3.4.6. Estudo da concentração do surfactante BCTA.....                                                                                                      | 97        |
| 3.4.7. Otimização dos Parâmetros Instrumentais .....                                                                                                        | 98        |

|                                                                                                                                                     |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.4.8. Resumo dos Parâmetros Seleccionados.....                                                                                                     | 100        |
| 3.4.9. Construção da Curva Analítica .....                                                                                                          | 101        |
| 3.4.10. Testes Iniciais para Aplicação da Metodologia Eletroanalítica .....                                                                         | 102        |
| <b>3.5. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação simultânea de BHA e TBHQ em amostras de biodiesel utilizando EPC .....</b> | <b>102</b> |
| 3.5.1. Oxidação eletroquímica de BHA e TBHQ em superfície de EPC .....                                                                              | 103        |
| 3.5.2. Estudo da composição do Eletrodo de Pasta de Carbono .....                                                                                   | 104        |
| 3.5.3. Influência do uso de diferentes tipos de surfactante na oxidação de GP ...                                                                   | 105        |
| 3.5.4. Influência do pH do eletrólito suporte.....                                                                                                  | 106        |
| 3.5.5. Estudo da concentração do surfactante BCTA.....                                                                                              | 108        |
| 3.5.6. Resumo dos Parâmetros Seleccionados .....                                                                                                    | 109        |
| 3.5.7. Construção das Curvas Analíticas.....                                                                                                        | 110        |
| 3.5.8. Testes Iniciais para aplicação da metodologia eletroanalítica.....                                                                           | 112        |
| <b>4. CONCLUSÕES.....</b>                                                                                                                           | <b>114</b> |
| <b>5. PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>                                                                                                                | <b>116</b> |
| <b>6. REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                                          | <b>117</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1:</b> Estrutura química dos tocoferóis (RAMALHO & JORGE, 2006).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 13 |
| <b>Figura 2:</b> Estrutura química geral de: (a) Ácidos Benzóicos, (b) Ácidos Cinâmicos e (c) Cumarinas (RAMALHO & JORGE, 2006). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 14 |
| <b>Figura 3:</b> Estrutura química de alguns antioxidantes sintéticos ( <a href="http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf">http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf</a> ) .....                                                                                                                                                                                                          | 15 |
| <b>Figura 4:</b> Estruturas de surfactantes: (a) monômeros, (b) micela esférica, (c) micela cilíndrica, (d) micela esférica reversa, (e) micela cilíndrica reversa .....                                                                                                                                                                                                                                                 | 28 |
| <b>Figura 5:</b> Esquema ilustrativo do eletrodo de pasta de carbono confeccionado .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 36 |
| <b>Figura 6:</b> Oxidação eletroquímica de TBHQ (a) ( $1,22 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, em presença do eletrólito tampão Britton Robinson pH 9,01 $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (b). Parâmetros instrumentais: $f = 90 \text{ Hz}$ , $E_{sw} = 250 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ . ....                                                                                   | 40 |
| <b>Figura 7:</b> Estrutura química dos surfactantes: (a) Aniônico: Dodecilsulfato de sódio (DSS), Neutro: Triton X-100 (TX-100) e (c) Catiônico: Brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA). ..                                                                                                                                                                                                                               | 40 |
| <b>Figura 8:</b> Oxidação eletroquímica de TBHQ ( $1,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, onde: (a) na ausência do surfactante, (b) na presença de BCTA 0,01% (m/v), e (c) eletrólito suporte tampão BR pH 9,01 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. Parâmetros instrumentais: $f = 90 \text{ Hz}$ , $E_{sw} = 250 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ . ....           | 41 |
| <b>Figura 9:</b> Oxidação eletroquímica de TBHQ ( $1,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, onde: (a) na ausência do surfactante DSS, (b) na presença de DSS 0,01% (m/v), e (c) eletrólito suporte tampão BR pH 9,01 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. Parâmetros instrumentais: $f = 90 \text{ Hz}$ , $E_{sw} = 250 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ . ....        | 41 |
| <b>Figura 10:</b> Oxidação eletroquímica de TBHQ ( $1,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, onde: (a) na ausência do surfactante TX-100, (b) na presença de TX-100 0,01% (m/v), e (c) eletrólito suporte tampão BR pH 9,01 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. Parâmetros instrumentais: $f = 90 \text{ Hz}$ , $E_{sw} = 250 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ . .... | 42 |
| <b>Figura 11:</b> Influência do pH do eletrólito suporte (tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) para $E_p$ (A) e $I_p$ (B) de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), empregando a técnica de VOQ. Parâmetros instrumentais: $f = 90 \text{ Hz}$ , $E_{sw} = 250 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ . ....                                                                                             | 43 |
| <b>Figura 12:</b> Voltamogramas de Onda Quadrada registrados para: (a) oxidação eletroquímica de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em presença do eletrólito suporte tampão BR pH 6,08 ( $0,04 \text{ mol. L}^{-1}$ ) (b). Parâmetros instrumentais: $f = 90 \text{ Hz}$ , $E_{sw} = 250 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ . ....                                                                | 44 |
| <b>Figura 13:</b> Voltamogramas de Onda Quadrada para $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ em diferentes eletrólitos: (a) tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,08), (b) tampão fosfato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,07). Os voltamogramas dos tampões BR e fosfato na ausência de TBHQ são                                                                                                           |    |

apresentados, respectivamente, em c e d. Parâmetros instrumentais:  $f = 90$  Hz,  $E_{sw} = 250$  mV e  $\Delta E_s = 1$  mV. .... 45

**Figura 14:** Voltamogramas de Onda Quadrada para  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ em diferentes concentrações de tampão fosfato: 0,04 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,07), (b) 0,08 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,04), (c) 0,12 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,05). Parâmetros instrumentais:  $f = 90$  Hz,  $E_{sw} = 250$  mV e  $\Delta E_s = 1$  mV. .... 45

**Figura 15:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para influência da variação da frequência ( $f$ ) (10 - 210 Hz) na oxidação de TBHQ ( $5,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>), em tampão fosfato 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,03,  $\Delta E_s = 1$  mV e  $E_{sw} = 250$  mV. O voltamograma em negrito corresponde ao obtido sob a frequência otimizada de 110 Hz. (B) Influência da  $f$  na resposta do  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ. .... 47

**Figura 16:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para uma solução  $5,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ, em tampão fosfato 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,03, para algumas das amplitudes estudadas.  $\Delta E_s = 1$  mV e  $f = 110$  Hz. O voltamograma em negrito corresponde ao obtido sob a amplitude de pulso otimizada de 200 mV (B) Influência da variação da amplitude ( $E_{sw}$ ) na resposta de  $E_p$  e  $I_p$ . .... 48

**Figura 17:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para uma solução  $5,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ, em tampão fosfato 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,03, sob os incrementos de potencial estudados,  $f = 110$  Hz e  $E_{sw} = 200$  mV. O voltamograma em negrito corresponde ao obtido sob o incremento de potencial otimizado - 2 mV. (B) Influência do incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ) na resposta de  $E_p$  e  $I_p$ . .... 49

**Figura 18:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada para diferentes concentrações molares do padrão de TBHQ, onde: (b)  $1,05 \times 10^{-6}$ ; (c)  $2,09 \times 10^{-6}$ ; (d)  $3,13 \times 10^{-6}$ ; (e)  $4,16 \times 10^{-6}$ ; (f)  $5,18 \times 10^{-6}$ ; (g)  $6,21 \times 10^{-6}$ ; (h)  $7,22 \times 10^{-6}$  (i)  $8,23 \times 10^{-6}$  (j)  $9,24 \times 10^{-6}$  (l)  $1,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e (a) tampão fosfato pH 6,03, 0,04 mol L<sup>-1</sup>. Parâmetros:  $f = 110$  Hz,  $E_{sw} = 200$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV. (B) Dependência da  $I_p$  em função do aumento da concentração de TBHQ. .... 50

**Figura 19:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para: (a) eletrólito suporte tampão fosfato 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,06; (b - d) triplicata de 30  $\mu$ L de solução de amostra de biodiesel de soja (3% v/v biodiesel/ metanol) fortificada com TBHQ (8.167 ppm de TBHQ) (preparo descrito na seção 2.5.5.), na ausência de TX-100; (B) Condições idênticas a A mas na presença de  $1,28 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100. Parâmetros instrumentais:  $f = 110$  Hz,  $E_{sw} = 200$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV. .... 53

**Figura 20:** Influência do pH do eletrólito suporte (tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup>) para  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) empregando a técnica de VOQ, em presença de TX-100 ( $1,48 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>). Parâmetros:  $f = 90$  Hz,  $E_{sw} = 250$  mV e  $\Delta E_s = 1$  mV. .... 54

**Figura 21:** Voltamogramas de onda quadrada para oxidação de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) em presença de TX-100 ( $1,48 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) sob diferentes pHs do eletrólito suporte (tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup>): (a) 7,00, (b) 8,07, (c) 9,01. Parâmetros:  $f = 90$  Hz,  $E_{sw} = 250$  mV e  $\Delta E_s = 1$  mV. .... 55

**Figura 22:** Voltamogramas de Onda Quadrada para  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ em diferentes eletrólitos: (a) tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> (pH 8,07), (b) tampão fosfato 0,04 mol L<sup>-1</sup> (pH 8,06), ambos os estudos realizados na presença de TX-100 ( $1,48 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>). Os brancos dos tampões BR + T -100 ( $1,48 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) e tampão fosfato + T -100 ( $1,48 \times 10^{-4}$

mol L<sup>-1</sup>) correspondem a: c e d, respectivamente. Parâmetros:  $f = 90$  Hz,  $E_{sw} = 250$  mV e  $\Delta E_s = 1$  mV..... 56

**Figura 23:** Voltamogramas de Onda Quadrada para  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ (em presença de  $1,48 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100) sob diferentes concentrações de tampão BR: (a) 0,04 mol L<sup>-1</sup> (pH 8,07), (b) 0,08 mol L<sup>-1</sup> (pH 8,09), (c) 0,12 mol L<sup>-1</sup> (pH 8,07). Parâmetros:  $f = 90$  Hz,  $E_{sw} = 250$  mV e  $\Delta E_s = 1$  mV..... 56

**Figura 24:** Influência do aumento da concentração de TX-100 no  $E_p$  (A) e na  $I_p$  (B) de  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ em tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 8,07, onde: (a) na ausência da amostra e (b) na presença de 30  $\mu$ L de uma solução amostra de biodiesel de soja preparada em metanol (3% v/v)..... 57

**Figura 25:** Triplicatas dos voltamogramas de onda quadrada obtidos para diferentes condições experimentais: (A) TBHQ  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> na ausência de amostra, (B) TBHQ  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> na presença de 30  $\mu$ L de solução 3% de biodiesel (biodiesel/metanol v/v), (C) mesma condição de B +  $9,93 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100, (D) mesma condição de B +  $1,95 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100, (E) mesma condição de B +  $2,96 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100, (F) mesma condição de B +  $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100, todos em tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 8,07,  $f = 90$  Hz,  $E_{sw} = 250$  mV e  $\Delta E_s = 1$  mV..... 58

**Figura 26:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para influência da variação da frequência ( $f$ ) (10-210 Hz) na oxidação de TBHQ  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, em tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 8,07 na presença de TX-100,  $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> ( $\Delta E_s = 1$  mV e  $E_{sw} = 250$  mV). O voltamograma em negrito corresponde a  $f = 150$  Hz, valor otimizado no estudo. (B) Influência da  $f$  no  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ..... 59

**Figura 27:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para influência da variação da amplitude de onda quadrada ( $E_{sw}$ ) na oxidação de TBHQ  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, em tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 8,07 na presença de TX-100  $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> ( $f = 150$ Hz,  $\Delta E_s = 1$  mV). O voltamograma em negrito corresponde a  $E_{sw} = 30$  mV, valor otimizado no estudo. (B) Influência da  $E_{sw}$  no  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ..... 60

**Figura 28:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para uma solução  $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ, em tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 8,07 na presença de TX-100 ( $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>), sob alguns dos incrementos de potencial estudados.  $f = 150$  Hz e  $E_{sw} = 30$  mV. (B) Influência do incremento de varredura ( $\Delta E_s$ ) na resposta da  $E_p$  e  $I_p$ ..... 61

**Figura 29:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada para diferentes concentrações o padrão de TBHQ, onde: (c)  $1,05 \times 10^{-6}$ ; (d)  $2,09 \times 10^{-6}$ ; (e)  $3,12 \times 10^{-6}$ ; (f)  $4,15 \times 10^{-6}$ ; (g)  $5,16 \times 10^{-6}$ ; (h)  $6,17 \times 10^{-6}$ ; (i)  $7,16 \times 10^{-6}$  (j)  $8,15 \times 10^{-6}$  (l)  $9,13 \times 10^{-6}$  (m)  $1,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, (a) tampão BR pH 8,07, 0,04 mol L<sup>-1</sup> e (b)  $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100. Parâmetros:  $f = 150$  Hz,  $E_{sw} = 30$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV. (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração molar de TBHQ... 63

**Figura 30:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (8 mL de tampão BR pH 8,07 0,04 mol L<sup>-1</sup>; 2 mL metanol) em presença de  $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100; (b) 30  $\mu$ L de solução de amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu$ L de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 4.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>) adições de padrão de TBHQ. Parâmetros:  $f = 150$  Hz,  $E_{sw} = 30$  mV e

$\Delta E_s = 2$  mV. **(B)** Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (4.000 ppm). ..... 66

**Figura 31:** **(A)** Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (8 mL de tampão BR pH 8,07 0,04 mol L<sup>-1</sup>; 2 mL metanol) em presença de  $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100; (b) 30  $\mu$ L de solução de amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu$ L de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 8.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>) adições de padrão de TBHQ. Parâmetros:  $f = 150$  Hz,  $E_{sw} = 30$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV. **(B)** Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (8.000 ppm). ..... 66

**Figura 32:** **(A)** Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (8 mL de tampão BR pH 8,07 0,04 mol L<sup>-1</sup>; 2 mL metanol) em presença de  $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100; (b) 30  $\mu$ L de solução de amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu$ L de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 16.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>) adições de padrão de TBHQ. Parâmetros:  $f = 150$  Hz,  $E_{sw} = 30$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV. **(B)** Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (16.000 ppm). ..... 67

**Figura 33:** Voltamogramas Cíclicos para: (a) Tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,52, (b) BCTA ( $2,36 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de BCTA, (d) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5}$  mol. L<sup>-1</sup>) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>),  $v = 100$  mV s<sup>-1</sup>. ..... 69

**Figura 34:** Voltamogramas de Varredura Linear ( $v = 100$  mV s<sup>-1</sup>) **(A)** e Voltamogramas de Onda Quadrada ( $f = 60$  Hz,  $E_{sw} = 25$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV) **(B)** para: (a) Tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,52, (b) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de BCTA, (c) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>).. ..... 70

**Figura 35:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) em Tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,52 na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) sob diferentes composições da pasta de carbono: (a) 70/30% (b) 75/25% e (c) 80/20 % (grafite/vaselina m/m),  $v = 100$  mV s<sup>-1</sup>. ..... 71

**Figura 36:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,52, (b) DSS ( $2,31 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de DSS, e (d) TBHQ ( $2,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na presença de DSS ( $2,31 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>),  $v = 100$  mV s<sup>-1</sup>. ..... 73

**Figura 37:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,52, (b) TX-100 ( $2,31 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de TX-100, e (d) TBHQ ( $2,00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na presença de TX-100 ( $2,31 \times 10^{-4}$  mol. L<sup>-1</sup>),  $v = 100$  mV s<sup>-1</sup>. ..... 73

**Figura 38:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 6,52, (b) BCTA ( $2,36 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na

ausência de BCTA, e (d) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 74

**Figura 39:** Estrutura química dos compostos de amônio quaternário, onde: (a) brometo de tetrametilamônio, (b) brometo de tetraetilamônio, (c) brometo de tetradeciltrimetilamônio, (d) brometo de cetiltrimetilamônio. .... 74

**Figura 40:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) BTMA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BTMA, e (d) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BTMA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 75

**Figura 41:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) BTEA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BTEA e (d) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BTEA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 76

**Figura 42:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) BTDTA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BTDTA, e (d) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BTDTA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 76

**Figura 43:** Influência do pH do eletrólito suporte no  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) para oxidação de TBHQ ( $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), através da técnica de VVL em EPC. .... 77

**Figura 44:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de TBHQ ( $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), em diferentes pHs do tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ : (a) pH 2,08, (b) pH 5,07 e (c) 9,05 ; os brancos dos tampões são representados pelos voltamogramas (d) 2,08, (e) 5,07 e (f) 9,05,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 78

**Figura 45:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de TBHQ ( $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), nos tampões: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,07 e (b) Tampão acetato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,05,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 79

**Figura 46:** Influência da concentração de BCTA no  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ ( $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,07,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 79

**Figura 47:** (A) Voltamogramas de Varredura Linear para diferentes concentrações o padrão de TBHQ, onde: (b)  $1,05 \times 10^{-6}$ ; (c)  $2,09 \times 10^{-6}$ ; (d)  $3,13 \times 10^{-6}$ ; (e)  $4,15 \times 10^{-6}$ ; (f)  $5,17 \times 10^{-6}$ ; (g)  $6,18 \times 10^{-6}$ ; (h)  $7,19 \times 10^{-6}$  (i)  $8,18 \times 10^{-6}$  (j)  $9,17 \times 10^{-6}$  (l)  $1,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , (a) branco (Tampão BR pH 5,07,  $0,04 \text{ mol. L}^{-1}$  e  $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração molar de TBHQ. .... 81

**Figura 48:** (A) Voltamogramas de Varredura Linear obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (tampão BR pH 5,06,  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) em presença de BCTA ( $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ; (b) 30  $\mu\text{L}$  de solução amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 4.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>) adições de padrão de TBHQ,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da

concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (4.000 ppm)..... 84

**Figura 49: (A)** Voltamogramas de Varredura Linear obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (tampão BR pH 5,06, 0,04 mol. L<sup>-1</sup>) em presença de BCTA (6,04 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; (b) 30 µL de solução amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30 µL de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 8.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>) adições de padrão de TBHQ,  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . **(B)** Dependência da I<sub>p</sub> em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (8.000 ppm)..... 84

**Figura 50: (A)** Voltamogramas de Varredura Linear obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (tampão BR pH 5,06, 0,04 mol L<sup>-1</sup>) em presença de BCTA (6,04 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; (b) 30 µL de solução amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30 µL de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 16.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>) adições de padrão de TBHQ,  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . **(B)** Dependência da I<sub>p</sub> em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (16.000 ppm)..... 85

**Figura 51:** Cromatogramas obtidos para separação de TBHQ em diferentes concentrações. Condições experimentais: Coluna C18, fase móvel composta por 55% de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,004 mol L<sup>-1</sup>, 35 % de acetonitrila e 10 % de metanol, fluxo de 0,70 mL min<sup>-1</sup>, detecção em  $\lambda = 280 \text{ nm}$ ..... 87

**Figura 52:** Curva analítica obtida para a detecção do antioxidante TBHQ em diferentes concentrações através da CLAE. Condições experimentais: Coluna C18, fase móvel composta por 55% de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,004 mol L<sup>-1</sup>, 35 % de acetonitrila e 10 % de metanol, fluxo de 0,70 mL min<sup>-1</sup>, detecção em  $\lambda = 280 \text{ nm}$ ..... 88

**Figura 53:** Cromatograma registrado para análise da amostra de biodiesel aditivada com TBHQ. Condições experimentais: Coluna C18, fase móvel composta por 55% de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,004 mol L<sup>-1</sup>, 35 % de acetonitrila e 10 % de metanol, fluxo de 0,70 mL min<sup>-1</sup>, detecção em  $\lambda = 280$ ..... 89

**Figura 54:** Voltamogramas Cíclicos para: (a) Tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 2,00, (b) BCTA (2,26 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>) na ausência de GP, (c) GP (2,07 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>) na ausência de BCTA, (d) GP (2,07 x 10<sup>-5</sup> mol. L<sup>-1</sup>) na presença de BCTA (2,26 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>),  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .... 91

**Figura 55:** Voltamogramas de Varredura Linear (VVL) ( $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ), Voltamogramas de Onda Quadrada (VOQ) ( $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ) e Voltamogramas de Pulso Diferencial (VPD) ( $a = 25 \text{ mV}$ ,  $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ) para: (a) tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 2,00, (b) BCTA (2,26 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>) na ausência de GP, (c) GP (2,07 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>) na ausência de BCTA, (d) GP (2,07 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>) na presença de BCTA (2,26 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>).....92

**Figura 56:** Voltamogramas de Onda Quadrada para tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 2,00 em presença de BCTA (2,26 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>), e para oxidação de GP (1,96 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>) em eletrodos de pasta de carbono constituído por: vaselina (a e b) e óleo mineral (c e d), respectivamente. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . .....92

**Figura 57:** Voltamogramas de Onda Quadrada para oxidação de GP ( $2,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 em presença de BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob diferentes composições da pasta de carbono: (a) 70/30% (b) 75/25% e (c) 80/20% (m/m grafite/óleo mineral). Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . ..... 93

**Figura 58:** Voltamogramas de Onda Quadrada para: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00, (b) Surfactante em estudo ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de GP, (c) GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência do surfactante em estudo, e (d) GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença do surfactante em estudo ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ): (A) BCTA, (B) DSS e (C) TX-100. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . ..... 94

**Figura 59:** Voltamogramas de Onda Quadrada para: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00, (b) Composto de amônio em estudo ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de GP, (c) GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência do composto de amônio em estudo, e (d) GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença do composto de amônio em estudo ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ): (A) BTMA, (B) BTEA e (C) BTDTA. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . ..... 95

**Figura 60:** Influência do pH do eletrólito suporte no  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) na oxidação de GP ( $2,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), através da técnica de VOQ. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . ..... 96

**Figura 61:** Influência da concentração de BCTA no  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) de GP ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) através da técnica VOQ, em tampão BR ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 5,00. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . ..... 97

**Figura 62:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para influência da variação da frequência ( $f$ ) (30, 50 e 70Hz) na oxidação de GP ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $3,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,00 ( $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ). O voltamograma em negrito corresponde ao obtido sob a frequência otimizada de 50 Hz. (B) Influência da  $f$  no  $E_p$  e  $I_p$  de GP. .... 98

**Figura 63:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada para uma solução  $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de GP na presença de BCTA ( $3,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,00, sob as amplitudes estudadas ( $f = 50 \text{ Hz}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ). O voltamograma em negrito corresponde a  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ , valor otimizado no estudo. (B) Influência da variação da amplitude ( $E_{sw}$ ) na resposta de  $I_p$ . ..... 99

**Figura 64:** (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH = 5,00, na presença de BCTA ( $3,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob diferentes incrementos de varredura ( $f = 50 \text{ Hz}$  e  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ ). O voltamograma em negrito corresponde a  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ , valor otimizado no estudo. (B) Influência do incremento de varredura na resposta do  $E_p$  e  $I_p$  de GP. .... 100

**Figura 65:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada para diferentes concentrações do padrão de GP, onde: (b)  $1,50 \times 10^{-6}$ ; (c)  $2,99 \times 10^{-6}$ ; (d)  $4,48 \times 10^{-6}$ ; (e)  $5,96 \times 10^{-6}$ ; (f)  $7,43 \times 10^{-6}$ ; (g)  $8,89 \times 10^{-6}$ ; (h)  $1,03 \times 10^{-5}$  e em (a) tampão BR pH 5,00,  $0,04 \text{ mol L}^{-1} + 3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA. Parâmetros:  $f = 50 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração molar de GP. .... 101

**Figura 66:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 contendo 2% metanol (v/v), (b) BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de antioxidantes, (c) TBHQ ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, (d) BHA ( $1,97 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, (e) TBHQ ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), (f) BHA ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), (g) TBHQ ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e BHA ( $1,97 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 104

**Figura 67:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de BHA ( $2,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 + 2% metanol, em presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob diferentes composições da pasta de carbono: (a) 70/30% (b) 75/25% e (c) 80/20% (m/m grafite/óleo mineral). ..... 104

**Figura 68:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 + 2% metanol, (b) Surfactante em estudo ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BHA e TBHQ, (c) BHA ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência do surfactante em estudo, e (d) BHA ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença do surfactante em estudo ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ): (A) BCTA, (B) DSS e (C) TX-100..... 105

**Figura 69:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 + 2% metanol, (b) Composto de amônio em estudo ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BHA e TBHQ, (c) BHA ( $2,12 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência do composto em estudo, e (d) BHA ( $2,12 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença do composto em estudo ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ): (A) BTMA, (B) BTEA e (C) BTDTA..... 106

**Figura 70:** Influência do pH do eletrólito suporte no  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) na oxidação de BHA ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), através da técnica de VVL. .... 107

**Figura 71:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de BHA ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), em diferentes pHs do tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (contendo 2% metanol v/v)..... 108

**Figura 72:** Influência da concentração de BCTA no  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) de BHA ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) através da técnica VVL, em tampão BR ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 2,00 contendo 2% metanol (v/v)..... 109

**Figura 73:** (A) Voltamogramas de Varredura Linear para diferentes concentrações de TBHQ e BHA, respectivamente: (b)  $1,51 \times 10^{-6}$  e  $1,59 \times 10^{-6}$ ; (c)  $3,01 \times 10^{-6}$  e  $3,16 \times 10^{-6}$ ; (d)  $4,50 \times 10^{-6}$  e  $4,70 \times 10^{-6}$ ; (e)  $5,99 \times 10^{-6}$  e  $6,30 \times 10^{-6}$ ; (f)  $7,47 \times 10^{-6}$  e  $7,85 \times 10^{-6}$ ; (g)  $8,94 \times 10^{-6}$  e  $9,40 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  em (a) tampão BR pH 2,00,  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  +  $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA + 2% metanol (v/v),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração molar de TBHQ (B) e BHA (C). ..... 110

**Figura 74:** Voltamogramas de Varredura Linear para (A): a) eletrólito suporte (tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00) em presença de BCTA ( $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) e (b) 60  $\mu\text{L}$  de solução amostra de biodiesel de soja em metanol (10% v/v) não fortificada com antioxidantes; e (B) Adições de padrão de BHA e TBHQ na amostra de biodiesel (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 113

---

|                                                                                                                                                                                                          |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 75:</b> Dependência da $I_p$ em função da concentração dos padrões de TBHQ (A) e BHA (B) em presença da amostra de biodiesel de soja (60 uL de solução de biodiesel em metanol 10% v/v). ..... | 113 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 1:</b> Resumo dos parâmetros selecionados para determinação de TBHQ empregando a metodologia eletroanalítica proposta utilizando eletrodo de gota de mercúrio sob a técnica de VOQ. ....                                                                      | 49  |
| <b>Tabela 2:</b> Parâmetros quantitativos obtidos para o método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VOQ para análise de TBHQ utilizando eletrodo de gota de mercúrio. ....                                                                                 | 51  |
| <b>Tabela 3:</b> Parâmetros otimizados para análise de TBHQ empregando a técnica de VOQ em presença de TX-100 utilizando eletrodo de gota de mercúrio. ....                                                                                                             | 62  |
| <b>Tabela 4:</b> Parâmetros quantitativos obtidos para o método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VOQ para análise de TBHQ em eletrodo de gota de mercúrio na presença do surfactante TX-100. ....                                                       | 63  |
| <b>Tabela 5:</b> Resultados obtidos para as determinações de TBHQ em biodiesel de soja empregando a metodologia eletroanalítica proposta utilizando eletrodo de gota de mercúrio na presença do surfactante TX-100, sob a técnica de voltametria de onda quadrada. .... | 67  |
| <b>Tabela 6:</b> Resumo dos parâmetros otimizados e utilizados para determinação de TBHQ sobre eletrodo de pasta de carbono. . ....                                                                                                                                     | 80  |
| <b>Tabela 7:</b> Parâmetros quantitativos do método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VVL para determinação de TBHQ utilizando EPC na presença do surfactante BCTA. ....                                                                                 | 82  |
| <b>Tabela 8:</b> Resultados obtidos para as determinações de TBHQ em biodiesel de soja utilizando a metodologia proposta fazendo uso do EPC empregando a técnica de voltametria de VVL e em presença do surfactante BCTA. ....                                          | 86  |
| <b>Tabela 9:</b> Composição do gradiente utilizado para determinação cromatográfica (CLAE) de antioxidantes sintéticos em biodiesel, metodologia proposta por Tagliabue e autores (2004). ....                                                                          | 87  |
| <b>Tabela 10:</b> Determinação de TBHQ em biodiesel de soja. ....                                                                                                                                                                                                       | 89  |
| <b>Tabela 11:</b> Resumo dos parâmetros otimizados para determinação de GP utilizando EPC empregando a técnica de VOQ. ....                                                                                                                                             | 100 |
| <b>Tabela 12:</b> Parâmetros quantitativos do método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VOQ, para determinação de GP utilizando EPC, na presença do surfactante BCTA. ....                                                                                | 102 |
| <b>Tabela 13:</b> Resumo dos parâmetros otimizados e utilizados para determinação de BHA e TBHQ utilizando EPC, empregando a técnica de VVL. ....                                                                                                                       | 109 |
| <b>Tabela 14:</b> Parâmetros quantitativos do método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VVL para determinação simultânea de BHA e TBHQ, utilizando EPC na presença do surfactante BCTA. ....                                                              | 111 |

## LISTA DE ESQUEMAS

|                                                                                                                                                                                                                |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Esquema 1:</b> Mecanismo de ação de antioxidantes primários (RAMALHO & JORGE, 2006).<br>Onde: ROO• e R• = radicais livres; AH = antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e<br>A• = radical inerte..... | 11  |
| <b>Esquema 2:</b> Oxidação de TBHQ (CORTÉS <i>et al.</i> , 1993; CORTÉS <i>et al.</i> , 1994; FUENTE <i>et al.</i> , 1999; TONMANEE & ARCHER, 1982).....                                                       | 39  |
| <b>Esquema 3:</b> Mecanismo de oxidação de alquilgalatos (GUNKEL <i>et al.</i> , 1998).....                                                                                                                    | 96  |
| <b>Esquema 4:</b> Mecanismo de oxidação de BHA (FUENTE <i>et al.</i> , 1999; MEDEIROS <i>et al.</i> , 2010).....                                                                                               | 107 |

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

Abs = absorbância

ACN = acetonitrila

Ag/AgCl = eletrodo de referência prata cloreto de prata

ANP: Agência Nacional de Petróleo

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

AOCS: American Oil Chemists' Society

B2: Mistura 2% de biodiesel ao diesel

B100: Biodiesel puro

BCTA: Brometo de cetiltrimetilamônio

BHA: 2-t-butil-4-metoxifenol

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

BTEA: Brometo de Tetraetilamônio

BTMA: Brometo de Tetrametilamônio

BTDTA: Brometo de Tetradeciltrimetilamônio

CAT: Catecol

CCEM: Cromatografia Capilar Eletrocinética Micelar

CG: Cromatografia Gasosa

CLAE = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CMC = Concentração Micelar Crítica

DDB: Diamante Dopado com Boro

DPR = desvio padrão relativo

DP = desvio padrão

DSS: dodecilsulfato de sódio

EC: Eletroforese Capilar

EDTA: ácido etilenodiaminotetracético

EPC: Eletrodo de Pasta de Carbono

GO: Galato de Octila

GP: Galato de Propila

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

LD = limite de detecção

LQ = limite de quantificação

MIR: Miricetina

pH: potencial hidrogeniônico

PI: período de indução

PPD: Polarografia de Pulso Diferencial

ppm: partes por milhão

PY: Piragalol

rpm: rotação por minuto

T: Tocoferol

TX-100: Triton X -100

Tampão BR: Tampão Britton Robinson

TBHQ: t-butilhidroquinona

UV-Vis = ultravioleta-visível

VC = voltametria cíclica

VOQ = voltametria de onda quadrada

VPD = voltametria de pulso diferencial

VVL = voltametria de varredura linear

$\alpha$ -T:  $\alpha$  - tocoferol

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\lambda$  = comprimento de onda

$v$  = velocidade de varredura de potencial

$\Delta E_s$  = incremento de aplicação dos pulsos de potencial

[ ] : concentração

$a$  = amplitude de pulso para voltametria de pulso diferencial

$a$  : coeficiente linear

$b$  = coeficiente angular

$E_p$  = potencial de pico

$E_{sw}$  = amplitude de aplicação do pulso de potencial

$f$  = frequência de aplicação dos pulsos

Hg: eletrodo de gota de mercúrio

$I$  = corrente

$I_p$  = corrente de pico

MDL: Mecanismo de Desenvolvimento Limpo

$m_{H^+}$  = número de prótons envolvidos na etapa química

$n$  = número de elétrons envolvidos na etapa eletroquímica

$r$  = coeficiente de correlação

vs. = versus

## RESUMO

Antioxidantes sintéticos constituem os principais compostos que têm sido utilizados na preservação de amostras de biodiesel contra processos oxidativos. Portanto, o monitoramento dos mesmos nesta matriz, de forma rápida, aliado a um baixo custo de análise é de grande relevância. Diante dessas informações, neste trabalho é apresentado o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para determinação dos antioxidantes *t*-butilhidroquinona (TBHQ), 2-*t*-butil-4-metoxifenol (BHA) e Galato de Propila (GP) em amostras de biodiesel de soja. Uma das metodologias desenvolvidas para TBHQ baseia-se na sua oxidação em eletrodo de gota pendente de mercúrio, empregando a técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ). Neste estudo, vários parâmetros experimentais foram investigados e otimizados, tal como o uso do surfactante neutro Triton X -100, o qual foi de fundamental importância para a determinação direta do analito nas amostras investigadas. A metodologia proposta apresentou adequados limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), respectivamente:  $3,43 \times 10^{-8}$  e  $1,14 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, aliada a valores satisfatórios de recuperação, entre 95,8 e 100,5%. Utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC) foi desenvolvida outra metodologia para determinação de TBHQ. Este estudo foi realizado empregando a técnica de Voltametria de Varredura Linear (VVL). Nesta pesquisa também foram avaliados e selecionados vários parâmetros experimentais, destacando-se o uso do surfactante brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA), o qual melhorou significativamente a resposta eletroquímica de TBHQ e, portanto, contribuiu para uma sensibilidade adequada do método proposto. A metodologia desenvolvida sob estas condições também exibiu adequados LD e LQ, respectivamente,  $7,11 \times 10^{-8}$  e  $2,37 \times 10^{-7}$  mol. L<sup>-1</sup>. Empregando esta metodologia, também foi possível determinar diretamente TBHQ em amostra de biodiesel de soja com satisfatórios valores de recuperação, entre 95,0 e 103,5%. A técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi utilizada para comparação dos resultados com as metodologias eletroanalíticas propostas para TBHQ. Além disso, duas outras metodologias eletroanalíticas vêm sendo desenvolvidas, para determinação individual de GP e simultânea de BHA e TBHQ, ambas em EPC. Neste sentido, vários parâmetros foram avaliados e otimizados, onde o uso do surfactante BCTA foi de significativa importância. No momento estudos estão sendo dedicados para aplicação destas metodologias em amostras de biodiesel de soja.

**Palavras Chave:** *antioxidantes, t-butilhidroquinona, 2-t-butil-4-metoxifenol, Galato de Propila, determinação eletroanalítica, surfactantes, biodiesel.*

## ABSTRACT

Synthetic antioxidants are the main compounds that have been used to preserve samples of biodiesel against oxidative processes. Great importance should therefore be placed on their monitoring in this sample in a fast manner and at low cost of analysis. Given this information, this work presents the development of electroanalytical methods for determination of antioxidants t-butyl hydroquinone (TBHQ), 2-t-butyl-4-methoxyphenol (BHA) and propyl gallate (GP) in samples of soybean biodiesel. One of the methodologies developed for TBHQ is based on its oxidation at a hanging mercury-drop electrode using square wave voltammetry (SWV) technique. In this study, several experimental parameters were investigated and optimized, such as the use of neutral surfactant Triton X -100, which was of fundamental importance for the direct determination of analyte in the investigated samples. The proposed method showed appropriate limits of detection and quantification, respectively:  $3.43 \times 10^{-8}$  and  $1.14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , together with satisfactory recovery values between 95.8 and 100.5%. Using a carbon paste electrode (CPE) another methodology was developed for the determination of the TBHQ. This study was performed using linear sweep voltammetry (LSV) technique. This study was also evaluated and selected various experimental parameters, especially the use of surfactant cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) which has dramatically improved the electrochemical response of the TBHQ and thus contributed to an adequate sensitivity of the method. Under these conditions the developed methodology exhibited adequate limits of detection and quantification, respectively,  $7.11 \times 10^{-8}$  and  $2.37 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . Employing this methodology was also possible to directly determine TBHQ in a sample of soybean biodiesel with excellent recovery values between 95.0 and 103.5%. The High Performance Liquid Chromatography technique was used to compare the results with the proposed electroanalytical methodologies for the TBHQ. In addition, two others electroanalytical methods have been developed for individual determination of GP and BHA and TBHQ simultaneously, both using CPE. Indeed, some parameters were evaluated and optimized, where the use of surfactant CTAB was significant important. Currently studies are being devoted to applying these methods in samples of soybean biodiesel.

**Keywords:** *antioxidants, t-butylhydroquinona, 2-t-butyl-4-methoxyphenol, propyl gallate, electroanalytical determination, surfactants, biodiesel.*

---

## 1. INTRODUÇÃO

O aumento no consumo de combustíveis derivados do petróleo tem sido decorrente do crescimento acelerado no mercado mundial de veículos automotores. Consequentemente há um crescente interesse por fontes alternativas de energia a fim de minimizar problemas potenciais devido ao uso de combustíveis fósseis, tais como a dependência relativa aos fornecedores do petróleo, o esgotamento futuro dessas fontes, além de seus problemas poluentes (CASTILHO & STRADIOTTO, 2008; DE MELLO *et al.*, 2007; FERRARI & SOUZA, 2005; <http://www.biodiesel.gov.br>; KNOTHE *et al.*, 2005a).

O biodiesel é uma fonte alternativa de energia renovável com potencial aplicação na substituição do óleo diesel, principalmente em motores de ignição onde não há necessidade de adaptações ao novo sistema (CASTILHO & STRADIOTTO, 2008; DADDOUB *et al.*, 2009; DE MELLO *et al.*, 2007; FERRARI & SOUZA, 2005; [http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf); KNOTHE *et al.*, 2005a; KNOTHE, 2005b; SUAREZ *et al.*, 2009; VICENTE *et al.*, 2004).

De acordo com a Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, a qual introduziu o biodiesel na matriz energética brasileira, o mesmo pode ser qualificado como,

*“biocombustível derivado de biomassa renovável para o 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.” (NR)*

### 1.1. Histórico do Biodiesel

A história do biodiesel nasce junto com a criação dos motores diesel no final do século XIX. Rudolf Diesel concebeu um motor com grande eficiência termodinâmica, o qual foi construído para ser operado com óleo mineral ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf); KNOTHE *et al.*, 2005a).

De acordo com o manual do Biodiesel, como citado na Cartilha Sebrae, a utilização do óleo vegetal no motor diesel foi testada inicialmente por solicitação do governo francês, com a intenção de estimular a auto-suficiência energética nas colônias do continente africano, minimizando os custos relativos à importação de carvão e combustíveis líquidos. O óleo de amendoim foi selecionado para os testes em virtude de sua cultura abundante em países de

clima tropical. Assim, em 1900, foi apresentado na Exposição de Paris o motor diesel produzido pela companhia Otto, movido a óleo de amendoim. Adicionalmente, em São Petersburgo, Rudolf Diesel conduziu experimentos com locomotivas movidas a óleo de mamona e a gorduras animais. Em ambos os casos, os resultados foram satisfatórios, tendo os motores, apresentando um bom desempenho. ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf)).

Nos 30 anos seguintes, houve uma descontinuidade do uso de óleos vegetais como combustível na França, provocada, principalmente, pelo baixo custo do óleo diesel de fonte mineral, por mudanças políticas do governo francês, assim como, por razões técnicas ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf)).

Com o início da Segunda Guerra Mundial, muitos governos se sentiram inseguros no que dizia respeito ao suprimento dos derivados de petróleo, assim, passaram a adotar o óleo vegetal como combustível emergencial. No entanto, as indústrias de esmagamento e produção de óleo, instaladas para suprir essa demanda emergencial, não progrediram após 1945, com o fim do conflito mundial, pois não dispunham de uma base tecnológica adequada ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf); <http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>).

Contudo, esses empreendimentos deixaram um importante legado ao meio científico, abrindo caminhos para muitas pesquisas neste setor. Os EUA, a Alemanha e a Índia deram sequência às pesquisas com óleos vegetais e, em virtude disso, atualmente desfrutam de importantes posições mundiais como referência no uso de óleos vegetais como combustíveis ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf)).

No Brasil, a trajetória do biodiesel deu início com estudos realizados pelo Instituto Nacional de Tecnologia, na década de 20 do século XX, ganhando destaque com a criação do Pró-óleo - Plano de Produção de Óleos Vegetais para Fins Energéticos, que nasceu na esteira da primeira crise do petróleo, e que em 1980, passou a ser o Programa Nacional de Óleos Vegetais para Fins Energéticos, através da Resolução nº 7 do Conselho Nacional de Energia. Este programa tinha como objetivo promover a substituição de 30% de óleo diesel apoiado na produção de soja, amendoim, colza (canola) e girassol. Contudo, novamente a estabilização dos preços do petróleo a entrada do Proálcool, aliados ao alto custo da produção e

esmagamento das oleaginosas, foram fatores determinantes para a desaceleração do programa ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf)).

Apesar da desaceleração dos programas governamentais e a escassez de incentivos, muitas experiências concretas seguiram seu curso. Tal como, o importante marco do pedido da primeira patente em 1980, solicitado pelo engenheiro Químico Expedito José de Sá Parente. Este registro ocorreu em 1980, no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), sendo considerada uma importante referência para o país ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf); <http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>).

No entanto, o biodiesel inseriu-se efetivamente na matriz energética brasileira a partir da criação seu marco regulatório, através da Lei 11.097/2005, publicada em Diário Oficial da União em 13/01/2005. Esta lei estabeleceu percentuais mínimos de mistura de biodiesel ao diesel e o monitoramento da inserção do novo combustível no mercado.

O biodiesel pode substituir totalmente ou parcialmente o óleo diesel de petróleo empregado em motores ciclodiesel automotivos (como em tratores, caminhões, camionetes, dentre outros) ou motores estacionários (como aqueles geradores de eletricidade, calor, etc) (KNOTHE *et al.*, 2005a; <http://www.biodiesel.gov.br>).

O biocombustível usado como aditivo ao diesel é classificado de acordo com as proporções, por exemplo, uma mistura de 2% de biodiesel com diesel de petróleo é chamado B2, e assim sucessivamente, até chegar ao biodiesel puro, cuja denominação é B100 (KNOTHE *et al.*, 2005a; <http://www.biodiesel.gov.br>).

## **1.2. Importância do desenvolvimento da tecnologia do Biodiesel**

### **1.2.1. Substituição aos combustíveis derivados do petróleo**

O petróleo durante muito tempo representou fundamental importância no desenvolvimento da sociedade nos mais variados setores: industrial, nos transportes, na agricultura, pecuária e em muitas outras necessidades básicas humanas. No entanto, embora este combustível tenha sido de extrema importância no desenvolvimento da humanidade, a

polêmica sobre o seu fim se arrasta há anos, devido as suas limitadas reservas, ao mesmo passo, que a necessidade de demanda de energia mundial cresce rapidamente (GALEMBECK *et al.*, 2009; <http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>; MARQUES & JR., 2006; SHAHID & JAMAL, 2008; SUAREZ *et al.*, 2009).

Nesse contexto, as pesquisas mundiais têm intensificado sua atenção na busca por novas fontes de energia e, portanto, por combustíveis alternativos que possam solucionar a crise energética que a sociedade enfrenta, atualmente de forma amena, mas que em futuro próximo pode se agravar consideravelmente, caso não sejam buscadas soluções imediatas. Neste sentido o desenvolvimento do biodiesel representa uma importante alternativa (<http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>; RODRIGUES, 2006).

### **1.2.2. Benefícios ambientais**

Reduzir a poluição ambiental é hoje um objetivo mundial. A todo o momento surgem novas informações e notícias indicando os males do efeito estufa. O uso de combustíveis de origem fóssil tem sido apontado como um dos principais responsáveis por este dano ambiental (<http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>; KNOTHE *et al.*, 2005a; SHAHID & JAMAL, 2008).

A comunidade Européia, os Estados Unidos (EUA), Argentina e diversos outros países vêm estimulando a substituição do petróleo por combustíveis de fontes renováveis, incluindo principalmente o biodiesel, diante de sua expressiva capacidade de redução das emissões de diversos gases causadores do efeito estufa (dióxido de carbono, hidrocarbonetos, além de óxidos de enxofre, os quais são os principais causadores da chuva ácida e de irritações da via respiratórias, dentre outros), o que representa concordância ao Protocolo de Kyoto, utilizando o Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL).

Uma propriedade importante do biodiesel que também deve ser destacada é a sua habilidade em reduzir paarticulados totais do motor, muitas vezes fracionados em termos de sulfato, fração orgânica solúvel, fração orgânica volátil e carbono ou fumaça (KNOTHE *et al.*, 2005a).

Além disso, a produção agrícola que origina as matérias primas para a produção do biodiesel capta CO<sub>2</sub> da atmosfera durante o período de crescimento, sendo que apenas parte deste CO<sub>2</sub> é liberada, durante o processo de combustão nos motores, auxiliando no controle do “efeito estufa”, causador do aquecimento global do planeta. (CASTILHO & STRADIOTTO, 2008; DUNN, 2005; FRONDEL & PETERS, 2007; <http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOBUFRGS.pdf>; MACEDO & NOGUEIRA, 2004; PINTO *et al.*, 2005; SHAHID & JAMAL, 2008).

Melhorar as condições ambientais, sobretudo nas metrópoles significa evitar gastos de governos e cidadãos no combate aos males da poluição (RODRIGUES, 2006; SHAHID & JAMAL, 2008).

### **1.2.3. Vantagens econômicas**

No Brasil, a maior parte da energia elétrica consumida provém de usinas hidrelétricas, porém, como no resto do mundo, o país enfrenta uma grave crise energética. A busca pelo desenvolvimento de novas tecnologias de geração de energia elétrica vem ocupando espaço cada vez mais relevante na comunidade científica. Fontes alternativas vêm sendo estudadas e a fim de dar suporte ao crescimento populacional e suprir a demanda projetada para o próximo milênio. Outro fator que tem impulsionado os estudos de fontes renováveis de energia é a necessidade de atendimento as comunidades isoladas. No país, cerca de 15,5 % da população não possui acesso a energia elétrica. Coincidentemente, esta parcela da população vive em regiões onde o atendimento por meio da expansão do sistema elétrico convencional é economicamente inviável. Tratam-se de núcleos populacionais esparsos, pouco densos, típicos das regiões Centro-Oeste, Nordeste e Norte. Fatores tais como, a geração de trabalho, principalmente nas populações humildes e a existência de uma vasta área agrícola a ser explorada, colaboram para a intensificação de estudos nas áreas de produção de energia renovável, nas quais se enquadra o Biodiesel (CAMPOS & CARMELIO, 2006; [http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf); <http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOBUFRGS.pdf>; MACEDO & NOGUEIRA, 2004; PINTO *et al.*, 2005; VIANA, 2004).

Portanto, a produção de biodiesel através de matérias-primas cultivadas facilmente em solo brasileiro devido a sua riqueza e ao clima favorável, mostra-se de extrema importância no desenvolvimento do trabalho no campo, na ampliação do abastecimento de energia elétrica, e prioritariamente na redução da dependência brasileira nas importações de petróleo (CASTILHO & STRADIOTTO, 2008; [http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf); <http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>).

Deve-se enfatizar também, que a introdução do biodiesel aumenta a participação de fontes limpas e renováveis na matriz energética brasileira, somando-se principalmente a hidroeletricidade e ao álcool, colocando assim o Brasil em uma posição privilegiada nesse aspecto no cenário internacional. Em médio prazo, o país poderá oferecer a comunidade mundial, o biodiesel, que somado ao álcool se tornarão importantes fontes de energia renovável. Adicionalmente a produção de biodiesel permitirá atingir as metas propostas pelo Protocolo de Kyoto, através do MDL, habilitando o País para participar no mercado de “bônus de carbono” (<http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>; [http://www.mre.gov.br/dc/temas/Biocombustiveis\\_09-programabrasileirobiodiesel.pdf](http://www.mre.gov.br/dc/temas/Biocombustiveis_09-programabrasileirobiodiesel.pdf); RODRIGUES, 2006).

Outra característica econômica relacionada à produção do biodiesel é o desenvolvimento regional, pois representa a reestruturação do sistema produtivo e a inserção de inovações produtivas (<http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>).

No estado de Mato Grosso do Sul, para a produção do biodiesel duas fontes estão disponíveis em termos de quantidade e logística: sebo bovino e soja. O sebo bovino, disponível a preços razoáveis, tem uma produção considerável no Estado, enquanto a soja tem uma cadeia produtiva extremamente organizada e tradição consolidada no Estado, sendo produzidas ao ano aproximadamente 3,5 milhões de toneladas. Por outro lado, a gama de possíveis fontes de matéria prima para a produção de biodiesel é imensa. A médio prazo, culturas como girassol, amendoim, mamona, nabo forrageiro, colza, gergelim, entre outras, poderão compor a matriz de fontes de óleos vegetais para a obtenção do biocombustível. O biodiesel significa uma nova opção para agregar valor a produtos tradicionais em Mato Grosso do Sul, como soja e carne, além de abrir possibilidades para a estruturação de novas

alternativas para o desenvolvimento regional (<http://www.cpao.embrapa.br/portal/artigos/artigos/artigo14.html>).

### 1.3. Tecnologias de produção de Biodiesel

Existem várias tecnologias que podem ser aplicadas para a produção de biodiesel a partir de óleos vegetais e gorduras animais, dentre as quais se podem destacar: a transesterificação, esterificação e o craqueamento ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf); [http://www.biodiesel.gov.br/docs/Apres\\_MinistraME\\_06-12-04.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Apres_MinistraME_06-12-04.pdf); KHALIL, 2006; MACEDO & NOGUEIRA, 2004). Existem dezenas de classes de vegetais no Brasil que podem ser aproveitadas para produção do biocombustível, nas quais se destacam: mamona, babaçu, dendê (palma), amendoim, girassol, pinhão manso e soja, dentre outras (<http://www.biodiesel.gov.br>; <http://www.biodieselbr.com/plantas/oleaginosas.htm>; KNOTHE *et al.*, 2005a;).

A tecnologia predominante para produção de biodiesel é a transesterificação, sendo o processo clássico conhecido, cujo procedimento consiste na reação química de óleos vegetais ou gorduras animais com alcoóis comuns (etanol ou metanol), estimulada por um catalisador, reação da qual também se extrai a glicerina, produto com aplicações diversas na indústria química. No mundo, a rota mais utilizada para produção do biodiesel, é a metílica, em virtude do custo elevado do etanol; problema esse, que o Brasil não enfrenta. Dentre as catálises utilizadas destacam-se: a básica (utilizando KOH ou NaOH), a ácida (utilizando geralmente o  $H_2SO_4$ ), a enzimática (exemplo o uso de enzimas lipases), e ainda, sendo também reportado o uso de álcoois supercríticos na realização da transesterificação. ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf); [http://www.biodiesel.gov.br/docs/Apres\\_MinistraME\\_06-12-04.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Apres_MinistraME_06-12-04.pdf); MACEDO & NOGUEIRA, 2004 ; MARCHETTI *et al.*, 2007; SUAREZ *et al.*, 2009).

Uma proposta para transformar matérias-primas com altos teores de ácidos graxos em biodiesel é utilizar a reação de esterificação destes ácidos com metanol ou etanol. Diversos trabalhos da literatura descrevem sistemas para a esterificação de ácidos graxos baseados em precursores catalíticos ácidos de Bronsted ou de Lewis em condições homogêneas, bifásicas e heterogêneas (SUAREZ *et al.*, 2009).

Outra rota alternativa à transesterificação é o processo termoquímico de craqueamento do óleo vegetal ou da gordura animal. Na área de termoquímica para produção de biodiesel, Khalil (2006) destaca dois processos: o hidrocrackeamento que promove a quebra da molécula de óleo por hidrogenação intensa em plantas de refinaria, simultaneamente com o processo de tratamento de diesel do petróleo, e, o craqueamento termocatalítico, que provoca a oxidação da fração glicerina da molécula de óleo e geração de hidrocarbonetos. Em tais processos, não se emprega o álcool, e, com isso, estes oferecem alternativas tecnológicas para a produção industrial do biodiesel. No país, as tecnologias de craqueamento estão sendo desenvolvidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, em parceria com a Universidade de Brasília (UnB) ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf)).

Nas usinas em funcionamento no país, a transesterificação é uma realidade em curso, embora ainda existam algumas questões técnicas a serem superadas, em especial, para a rota etílica. Ainda assim, essa rota é a mais vantajosa, em virtude do baixo custo de produção do etanol para o Brasil ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf)).

#### **1.4. Desafios para Implantação do Biodiesel**

Ainda são muitos os pontos que devem ser adequados para consolidação do biodiesel no país, dentre os quais, podem-se destacar alguns (OLIVÉRIO, 2006):

- Equacionamento da viabilidade econômica;
- Adequação da legislação à natureza do negócio;
- Implantação de uma política de incentivo à produção;
- Desenvolvimento comercial de novas oleaginosas mais produtivas;
- Desenvolvimento da logística: produção de biodiesel - mistura diesel/biodiesel - distribuição;
- Garantia de produção e abastecimento, compatíveis com as necessidades do mercado;
- Projeção do cenário em longo prazo, de forma a garantir a continuidade do Programa Nacional do Biodiesel;
- Adequação das tecnologias de produção aplicadas à realidade das indústrias do país;

- Garantia do aproveitamento racional dos sub-produtos;
- Adoção de medidas que garantam a qualidade do produto final;

Portanto, é de suma importância o desenvolvimento de estudos que auxiliem na concretização do Programa Nacional do Biodiesel.

Um dos pontos importantíssimos para o futuro deste biocombustível, como mencionado anteriormente, é garantir sua qualidade para que haja sucesso na sua comercialização e aceitação dos mercados consumidores, nacional e internacional. Para tal, é fundamental que se estabeleçam metodologias adequadas para avaliação das propriedades do produto final produzido, e assim, se possa compará-las as especificações padrões adotadas, para que seja possível adequar à logística de produção (MACEDO & NOGUEIRA, 2004; OLIVÉRIO, 2006).

### **1.5. Oxidação: um problema relacionado à qualidade do Biodiesel.**

No país, assim como no mundo, a produção de biodiesel apresenta-se em expansível crescimento, portanto, o armazenamento deste produto sob condições adequadas para preservação da sua qualidade, consiste em uma etapa fundamental na garantia do sucesso e consolidação deste biocombustível.

No entanto, justamente durante a estocagem é encontrado um dos grandes problemas relacionados à manutenção da qualidade do biodiesel, isso, devido ao fato de que nessa etapa o mesmo tende a sofrer alterações nas suas propriedades, ao longo do tempo, devido a reações de natureza hidrolítica, microbiológica e oxidativa com o meio ambiente. Tratam-se de processos de degradação que podem ser acelerados pela exposição ao ar, umidade, metais, luz e calor ou mesmo a ambientes contaminados por microorganismos. (<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/Armazenamento/AvaliacaoTendencia8.pdf>; KNOTHE, 2005b; LEUNG *et al.*, 2006; MCCORMICK *et al.*, 2007; MONTEIRO *et al.*, 2008, e QUINTELLA *et al.*, 2009).

Um dos processos a que estão mais sujeitos o biodiesel é o de degradação oxidativa, com graves implicações ao mercado consumidor. A estabilidade oxidativa, sobretudo em

climas quentes, é relevante para assegurar que mesmo depois de algumas semanas armazenado em condições normais, o biodiesel mantenha sua adequada especificação (<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/Armazenamento/AvaliacaoTendencia8.pdf>; KNOTHE, 2005b; KNOTHE, 2007; LEUNG *et al.*, 2006; MCCORMICK *et al.*, 2007; MONTEIRO *et al.*, 2008, QUINTELLA *et al.*, 2009; SARIN *et al.*, 2009).

A estabilidade oxidativa do biodiesel está relacionada ao material bruto comumente utilizado para sua obtenção. Esse material normalmente é constituído predominantemente de substâncias conhecidas como triglicerídeos (também denominados triacilgliceróis ou triacilglicerídeos), os quais são ésteres formados a partir de ácidos carboxílicos de cadeia longa (ácidos graxos) e glicerol. Portanto, a presença de altos níveis de ácidos graxos insaturados torna o óleo muito suscetível à oxidação, e esta característica é inevitavelmente transferida para aos ésteres metílicos e/ou etílicos de ácidos graxos (biodiesel), obtidos a partir deste material bruto (DOMINGOS *et al.*, 2007; <http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/nrbf/pdfs/39096.pdf>; MOTA *et al.*, 2009; REDA & CARNEIRO, 2007; RINALDI *et al.*, 2007; SHARMA *et al.*, 2008).

Dentre as implicações negativas, no que diz respeito à oxidação do biodiesel pode-se destacar: aumento da viscosidade, através da ocorrência de reações de condensação envolvendo as duplas ligações, sendo que estas reações em estágio mais avançado podem levar a formação de materiais insolúveis tais como gomas e sedimentos, os quais entopem filtros de combustíveis e sistemas de injeção. Adicionalmente, a elevação da acidez e a presença de hidroperóxidos, ambos surgidos a partir de processos oxidativos, são capazes de gerar processos corrosivos aos componentes do sistema de combustível (DADDOUB *et al.*, 2009; DOMINGOS *et al.*, 2007; DUNN, 2005; <http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/Armazenamento/AvaliacaoTendencia8.pdf>; KNOTHE, 2005b; QUINTELLA *et al.*, 2009).

Segundo o Caderno NAE (Biocombustíveis) do Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República: a estabilidade oxidativa é um parâmetro crítico sumamente relevante para o bom funcionamento dos motores e para a correta definição da logística a ser adotada. Sendo que o biodiesel pode ser aditivado com compostos antioxidantes naturais e artificiais, que reduzem sua taxa de degradação e mitigam os efeitos do processo de oxidação ([http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf)).

Conforme citado, uma promissora solução para aumentar a resistência à oxidação do biodiesel é o tratamento com inibidores de oxidação, os antioxidantes, isso porque, estes compostos são capazes de retardar e evitar a degradação causada pela oxidação. Em virtude disso, facilitam o uso dos tanques de estocagem convencionais e os sistemas combustíveis já existentes, sem requerer melhorias ou novas projeções. (DOMINGOS *et al.*, 2007; DUNN, 2005; <http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf>; MACEDO & NOGUEIRA, 2004).

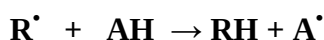
Obviamente, manter a qualidade do biodiesel e de suas misturas com os destilados do petróleo durante um longo tempo de estocagem representa uma grande preocupação entre produtores, fornecedores e consumidores. Com esse propósito vários estudos têm sido dedicados com o objetivo de avaliar os antioxidantes mais efetivos para este processo, conforme será tratado mais detalhadamente no tópico 1.7.

## 1.6. Antioxidantes

Antioxidantes são compostos químicos normalmente utilizados com a finalidade de inibir ou retardar oxidação lipídica de óleos e gorduras. (CADENAS & PACKER, 2002; RAMALHO & JORGE, 2006).

De acordo com o trabalho de revisão de Ramalho e Jorge (2006), os antioxidantes podem ser classificados em:

**A. Primários:** são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (**Esquema 1**).



**Esquema 1:** Mecanismo de ação de antioxidantes primários (RAMALHO & JORGE, 2006). Onde: ROO<sup>•</sup> e R<sup>•</sup> = radicais livres; AH = antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A<sup>•</sup> = radical inerte.

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres  $R^\bullet$  e  $ROO^\bullet$  com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim, formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte ( $A^\bullet$ ) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas.

Dentre os principais antioxidantes deste grupo destacam-se: polifenóis, como 2-t-butil-4-metoxifenol (BHA), 2,6-di-t-butil-4-metilfenol (BHT), t-butil-hidroquinona (TBHQ) e Galato de propila (GP), os quais são sintéticos, e tocoferóis, que são naturais.

**B. Sinergistas:** são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada com eles. Alguns antioxidantes primários quando usados em combinação podem atuar sinergicamente.

**C. Removedores de oxigênio:** são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis tornando-os, conseqüentemente, indisponíveis para atuarem como propagadores da autooxidação. Ácido ascórbico, seus isômeros e derivados são os melhores exemplos deste grupo, podendo também atuar como sinergista dos antioxidantes primários através da regeneração destes no meio.

**D. Biológicos:** Os antioxidantes biológicos incluem várias enzimas. Estas substâncias podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício.

**E. Agentes quelantes:** são agentes que complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove a ação de complexação. Os mais comuns são ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA).

**F. Antioxidantes mistos:** Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonóides e derivados de ácido cinâmico.

Além disso, os antioxidantes normalmente são classificados de acordo com sua fonte, em naturais e sintéticos (<http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf>; KAROVICOVÁ & SIMKO, 2000; RAMALHO & JORGE, 2006).

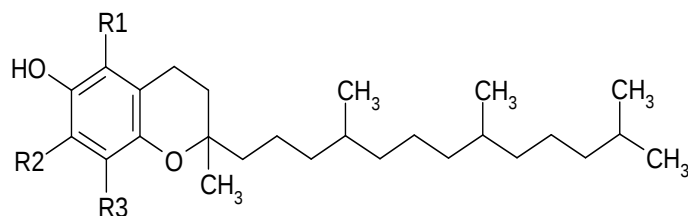
### 1.6.1. Antioxidantes Naturais

#### 1.6.1.1. Tocoferóis

Tocoferóis (T) são compostos fenólicos que apresentam quatro isômeros ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), todos os quais ocorrem naturalmente em óleos vegetais. No entanto, estes não estão presentes em derivados da gordura animal, a não ser em traços mínimos. Os tocoferóis, por serem uns dos melhores antioxidantes naturais, são amplamente aplicados como meio de inibir a oxidação dos óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados (<http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/nbpf/pdfs/39096.pdf>; RAMALHO & JORGE, 2006).

A atividade antioxidante dos tocoferóis se deve principalmente à sua capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos interrompendo a propagação em cadeia (RAMALHO & JORGE, 2006).

No entanto, embora a presença dos tocoferóis seja significativa quanto à atividade antioxidante, vários métodos e pesquisas têm mostrado consistentemente, em diversos substratos utilizados, que os antioxidantes sintéticos habituais apresentam eficiência superior aos tocoferóis (<http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/nbpf/pdfs/39096.pdf>; RAMALHO & JORGE, 2006).



$\alpha$  - tocoferol: R<sub>1</sub>= R<sub>2</sub>= R<sub>3</sub>= CH<sub>3</sub>

$\beta$  - tocoferol: R<sub>1</sub>= R<sub>3</sub>= CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = H

$\gamma$  - tocoferol: R<sub>1</sub>= H; R<sub>2</sub>= R<sub>3</sub>= CH<sub>3</sub>

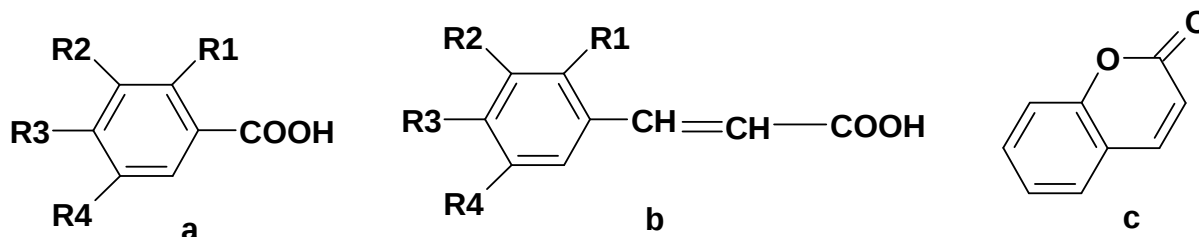
$\delta$  - tocoferol: R<sub>1</sub>= R<sub>2</sub>= H; R<sub>3</sub>= CH<sub>3</sub>

**Figura 1:** Estrutura química dos tocoferóis (RAMALHO & JORGE, 2006).

#### 1.6.1.2. Ácidos Fenólicos

Ácidos fenólicos caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, que conferem propriedades antioxidantes (RAMALHO & JORGE, 2006).

De acordo com a literatura, os ácidos fenólicos são normalmente divididos em três grupos: ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos e cumarinas (RAMALHO & JORGE, 2006).



**Figura 2:** Estrutura química geral de: (a) Ácidos Benzóicos, (b) Ácidos Cinâmicos e (c) Cumarinas (RAMALHO & JORGE, 2006).

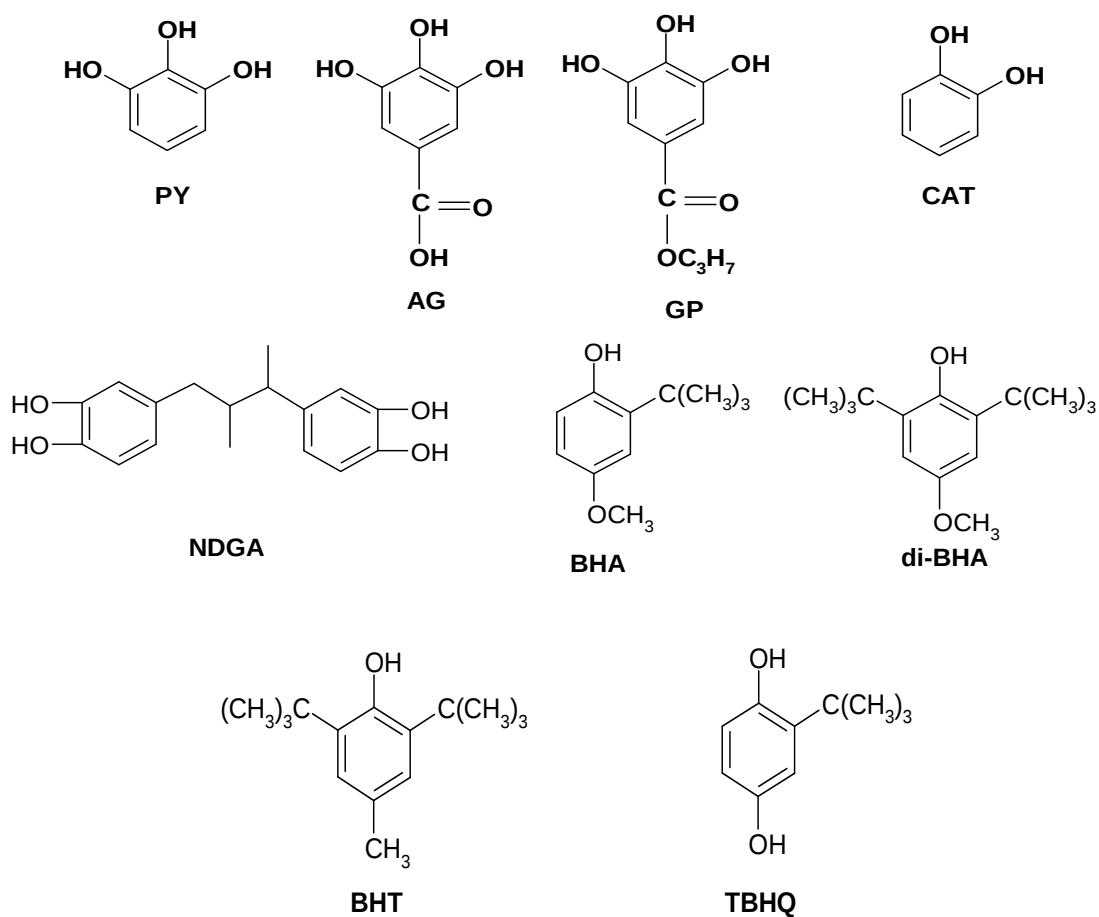
Os antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários formados pela ação destes antioxidantes são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (RAMALHO & JORGE, 2006).

### 1.6.2. Antioxidantes Sintéticos

Em 1922, foi publicada a primeira discussão sobre o uso de compostos fenólicos no retardamento da oxidação de óleos. Nos últimos anos, numerosos antioxidantes fenólicos tem sido propostos e utilizados para proteção de óleos, e, portanto, mais recentemente vem sendo adicionados aos biodieseis com este mesmo propósito (<http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf>).

Nesse contexto, muitos antioxidantes sintéticos foram desenvolvidos. Dentre esses, destacam-se: PY, AG, GP, CAT, NDGA, BHA, di-BHA, BHT, TBHQ, dentre outros, (<http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf>; RAMALHO & JORGE, 2006).

A seguir são apresentadas as estruturas químicas destes antioxidantes.



**Figura 3:** Estrutura química de alguns antioxidantes sintéticos (<http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf>).

### 1.7. Antioxidantes em biodiesel

Como já mencionado, numerosos estudos tem sido reportados onde vários antioxidantes têm sido avaliados na proteção de biodieseis. Este ponto foi inclusive tratado pelo Comitê Europeu de Padronização através do projeto BIOSTAB - Estabilidade do Biodiesel, onde

amostras de biodiesel obtidos a partir de óleo de canola, girassol, fritura e gordura animal foram estudadas de acordo com este e outros propósitos (DOMINGOS *et al.*, 2007).

No biodiesel a ação dos agentes antioxidantes é capturar espécies radicalares livres formadas durante processos oxidativos, interrompendo a reação em cadeia, favorecendo assim a estabilidade do biodiesel. Estes antioxidantes em geral são substâncias contendo grupos aminas ou hidroxilas com elétrons de valência livres que são mais eletroativos que os ácidos graxos insaturados (por exemplo, os ácidos: oléico, linoléico e linolênico) e, desta forma a oxidação ocorre possivelmente pela remoção do elétron de ressonância desses antioxidantes.

Dentro desse contexto, antioxidantes tais como, PY, GP, BHA, 2di-BHA, BHT, TBHQ e  $\alpha$ -tocoferol, entre outros, têm sido empregados como aditivos retardantes do efeito de oxidação precoce do biodiesel, aumentando a sua estabilidade e prevenindo o alto índice de acidez em decorrência desse processo (FERRARI & SOUZA, 2009; KNOTHE, 2007; MONTEIRO *et al.*, 2008).

Considerando a importância da aditivização de biodieseis com antioxidantes, várias pesquisas vêm sendo realizadas para avaliar tal procedimento, portanto, a seguir é apresentada uma breve abordagem de alguns dos trabalhos efetuados com esse propósito.

A estabilidade à oxidação é normalmente determinada por metodologia baseada em ensaio acelerado originalmente proposta por Hadorn Et Zurcher, também conhecido como Método Rancimat (<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/Armazenamento/AvaliacaoTendencia8.pdf>). O mesmo consiste em expor a amostra em um fluxo de ar (10 L/h) a 110°C. À medida que as reações de formação de compostos de oxidação (ácidos voláteis nestas condições) são intensificadas, é verificado um aumento da condutividade. Um súbito incremento é observado no período de indução (PI), acima do qual se constata um rápido aumento da taxa de oxidação, do índice de peróxido, da absorção de oxigênio e de formação de voláteis. PI é também conhecido como índice de estabilidade à oxidação. Trata-se de um parâmetro comparativo muito utilizado para o controle da qualidade de matérias-primas e de processos, para se avaliar diferentes tipos de óleos, alterações na composição de ácidos graxos, eficiência na adição de antioxidantes, entre outros. De forma geral, um maior valor de PI, indica uma menor suscetibilidade à oxidação, já que sob condições de estresse a amostra levou um maior tempo para sofrer oxidação.

(<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2006/Armazenamento/AvaliacaoTendencia8.pdf>; LIANG *et al.*, 2006).

Liang e colaboradores (2006), por exemplo, avaliaram a eficiência de antioxidantes naturais e sintéticos na estabilidade oxidativa do diesel obtido a partir da palma, sem destilação e destilado, utilizando o método de Rancimat e comparando com o padrão Europeu para o biodiesel (EN 14214). Os antioxidantes avaliados por esta metodologia foram:  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -T), 2,6-di-t-butil-4-metilfenol (BHT) e t-butil hidroquinona (TBHQ). De acordo com os resultados obtidos, foi constatado que o biodiesel sem destilação continha uma concentração de tocoferóis suficiente para alcançar um valor de PI aceitável pelos padrões europeus (mínimo 6 horas), já o biodiesel destilado não passou neste teste. Posteriormente, foram adicionados a amostra destilada, individualmente os antioxidantes  $\alpha$ -T, BHT e TBHQ em diferentes concentrações, os valores de PI foram novamente obtidos. Os resultados indicaram que o biodiesel aditivado com antioxidantes sintéticos não somente alcançou o valor mínimo de estabilidade de oxidação de 6 horas, como também, foram superiores àqueles encontrados para  $\alpha$ -T. A eficiência dos antioxidantes investigados foi: TBHQ > BHT >  $\alpha$ -T, portanto, os antioxidantes sintéticos apresentaram melhor desempenho que o antioxidante natural no que diz respeito a proteção contra oxidação do biodiesel de palma (LIANG *et al.*, 2006).

Waynick e colaboradores, também enumeram trabalhos onde foi estudada a eficiência de vários antioxidantes na proteção de óleos e ésteres. Novamente, foi reportado que os antioxidantes sintéticos mostram maior eficiência que os naturais, assim como, uma maior estabilidade oxidativa apresentada pelo antioxidante TBHQ, dentre vários outros estudados (<http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf>).

Dunn (2005) também avaliou a eficiência de cinco antioxidantes, TBHQ, 2-t-butil-4-metoxifenol (BHA), BHT, Galato de Propila (GP) e  $\alpha$ -T na estabilidade oxidativa do biodiesel de soja. Ele determinou a atividade antioxidante em termos da temperatura de início da oxidação empregando a técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial de Alta Pressão. Os resultados mostraram que os antioxidantes BHA e TBHQ podem ser mais efetivos na proteção do biodiesel da oxidação durante a estocagem. A concentração de cada antioxidante foi avaliada no processo e, de forma geral, o aumento da concentração dos antioxidantes mostrou um aumento considerável da atividade antioxidante até a 1000 ppm (DUNN, 2005).

Lutterbach também utilizando o método de Rancimat concluiu que a aditivação do biodiesel de soja com o antioxidante TBHQ foi fundamental para que este combustível alcançasse o limite mínimo requerido de estabilidade à oxidação (6 horas). De acordo os resultados obtidos, o biodiesel sem aditivação apresentou um valor de PI de 0,17 horas enquanto o biodiesel aditivado alcançou um valor de PI de 6,3 horas (<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2006/Armazenamento/AvaliacaoTendencia8.pdf>).

Mittelbach e Schober (2003) utilizaram o método de Rancimat para avaliar o desempenho dos antioxidantes piragalol (PY), GP, TBHQ, BHA e BHT no aumento da estabilidade oxidativa dos biodieseis produzidos a partir de óleo de canola, girassol, de fritura e gordura bovina. Os resultados indicaram que os antioxidantes PY, GP e TBHQ melhoram significativamente a resistência a oxidação dos biodieseis estudados, enquanto o BHT mostrou uma menor eficiência.

Domingos juntamente com outros pesquisadores apresentaram em 2007 um trabalho onde a influência dos antioxidantes BHA, BHT e TBHQ, foi investigada na preservação de biodiesel de soja produzido por uma indústria brasileira. O método empregado neste estudo foi o de Rancimat. Dentre os antioxidantes sintéticos avaliados, o BHT apresentou maior eficiência nas concentrações entre 200 e 7000 ppm, já TBHQ apresentou maior potencial estabilizador quando utilizado em concentrações elevadas sendo, portanto, indicado para biodieseis de baixa estabilidade. Já o antioxidante BHA apresentou-se pouco efetivo na preservação desta amostra.

A estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de palma foi estudada por Lin e Chiu (2009), onde fatores tais como temperatura, tempo de estocagem, além da influência da adição do antioxidante BHT, foram avaliados. Nesta pesquisa, os autores observaram que maiores tempos e temperaturas de estocagem aceleram a degradação do biodiesel, mas também constataram que a adição de BHT resultou em uma significativa redução na taxa de conversão dos ácidos graxos insaturados à hidroperóxidos, por sua vez a degradação do biodiesel sob essas condições foi retardada.

Ferrari e Souza (2009) apresentaram um estudo onde foi investigada 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 através do teste de 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.

O sinergismo de antioxidantes na estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de soja e gordura de aves, foi investigado por Guzman e autores (2009). Neste trabalho os autores examinaram a eficácia de misturas de antioxidantes primários, formuladas a partir de, BHA, GP, PY e TBHQ, os resultados indicaram que um melhor efeito sinérgico foi encontrado para a mistura TBHQ: BHA (2:1 m/m), enquanto um maior efeito estabilizador foi obtido para a mistura TBHQ: PY. Além disso, esses pesquisadores também avaliaram a resposta individual destes antioxidantes na preservação das matrizes estudadas, e neste sentido, melhores resultados foram encontrados para GP e PY.

Outros antioxidantes naturais também vêm sendo investigados na proteção de biodieseis contra processos oxidativos, como é o caso de miricetina (MIR), um flavonol natural, encontrado em frutas vegetais, o qual teve sua atividade antioxidante avaliada na proteção de biodiesel de soja, por Moser (2008) utilizando o método de Rancimat. Em seu trabalho, esse autor constatou que o mesmo exibiu uma atividade maior que  $\alpha$ -T e menor que TBHQ. Além disso, ele também avaliou que miricetina apresentou sinergismo com TBHQ e antagonismo com  $\alpha$ -T, sendo que a melhor proporção encontrada foi 1000 ppm de MIR : TBHQ (1:1).

Os estudos aqui apresentados são apenas alguns, dos inúmeros trabalhos que vem sendo reportados na literatura com o propósito de investigar a ação de diferentes antioxidantes na preservação de amostras de biodiesel, contra processos de degradação oxidativa (ARAÚJO *et al.*, 2009; DAS *et al.*, 2009; DINKOV *et al.*, 2009; EL DIWANI *et al.*, 2009; KARAVALAKIS *et al.*, 2010 a; KARAVALAKIS & STOURNAS, 2010 b; MCCORMICK & WESTBROOK, 2010; PALIGOVÁ *et al.*, 2008; RYU, 2010; SARIN *et al.*, 2010; TANG *et al.*, 2010). Como destacam, Dunn (2008) e Jain e Sharma (2010) em seus respectivos artigos de revisão, inúmeras pesquisas já foram realizadas com esse propósito, e de forma geral o tratamento de biodiesel com compostos antioxidantes aumenta a resistência dessa matriz à oxidação. Adicionalmente, é também de senso comum nestes artigos, que os antioxidantes sintéticos normalmente apresentam melhores resultados que os naturais, sendo

que os antioxidantes TBHQ, BHA, PY e GP são os que normalmente exibem maior eficiência.

Portanto, prevenir a oxidação do biodiesel é uma grande preocupação, como mostrado através dos trabalhos citados, e inclusive como mencionado pelo Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República em seu caderno de biocombustíveis. Neste contexto, o uso dos antioxidantes no biocombustível tem se tornado uma importante alternativa para solucionar o problema da estabilidade oxidativa, possibilitando a estocagem em tanques convencionais nos sistemas de armazenamento de combustíveis já existentes, sem requerer melhorias ou novas projeções.

### **1.8. Metodologias para determinação de antioxidantes**

Considerando a importância dos antioxidantes sintéticos para vida útil não somente do biodiesel, assim como para uma série de outras matrizes tais como: óleos e gorduras, cosméticos, produtos alimentícios, fármacos dentre outros, várias pesquisas também têm sido dedicadas com o objetivo de se estabelecer metodologias que permitam identificar e determinar a concentração destes compostos nas mais diversas amostras, para isso, várias técnicas analíticas tem sido empregadas, dentre as quais, as cromatográficas são as mais comumente utilizadas. A seguir apresenta-se uma breve compilação de alguns trabalhos descritos na literatura para determinação de antioxidantes sintéticos em diversos tipos de amostras.

#### **1.8.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido amplamente utilizada por muitos pesquisadores para determinação de antioxidantes em diversas matrizes oleaginosas (ANDRÉ *et al.*, 2010; ROBARDS & DILLI, 1987). Já em 1987, Robards e Dilli apresentaram um artigo de revisão para métodos de análise de antioxidantes sintéticos, onde várias metodologias já haviam sido descritas para determinação destes compostos utilizando esta técnica.

No entanto, muitas metodologias ainda vêm sendo apresentadas sob essa técnica, utilizando principalmente colunas do tipo C18 com detecção espectrofotométrica na região do ultravioleta, o qual é o sistema de detecção amplamente empregado (KAROVICOVÁ & SIMKO, 2000).

A CLAE é inclusive a técnica adotada para determinação de antioxidantes sintéticos em óleos e gorduras empregando os métodos oficiais da Association of Official Analytical Chemists (AOAC), American Oil Chemists' Society (AOCS) e International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) (PERRIN & MEYER, 2002).

Utilizando a CLAE-UV, Rafecas e autores (1998), propuseram uma metodologia para determinação de BHA, BHT e GP e outros antioxidantes em produtos de panificação; Perrin e Meyer (2002) desenvolveram uma metodologia para determinar BHA, BHT, Galato de Octila (GO), GP, TBHQ em alimentos desidratados, e sob condições similares também determinaram esses mesmos antioxidantes, dentre outros, em amostras de óleos e gorduras comestíveis (2003). Mais recentemente Saad e colaboradores (2007) determinaram BHA, BHT, GP e TBHQ em margarinas, manteigas, óleos e queijos.

Adicionalmente, sistemas computacionais também têm sido aliados a CLAE para a determinação de antioxidantes, usados como ferramenta para auxiliar na solução de problemas relacionados aos sistemas de detecção em CLAE, cujas determinações de antioxidantes eram prejudicadas devido à sobreposição dos sinais cromatográficos. Nesse contexto, Huaiwen e Weimin (2004) utilizaram a espectroscopia derivativa para auxiliar na separação e análise de BHT, BHA e TBHQ em óleos de colza (canola), cujos sinais foram satisfatoriamente resolvidos empregando esta ferramenta estatística.

A CLAE também tem sido acoplada a outros tipos de detectores para determinação de antioxidantes. Lee e autores (2006) utilizando a CLAE acoplada a um espectrômetro de massas quantificaram os antioxidantes BHA e BHT, dentre outros, em produtos cosméticos. Hao e colaboradores (2007) determinaram TBHQ em óleos vegetais comestíveis utilizando a CLAE juntamente com um espectrômetro de massa por captura de íons, assim como Qin e autores (2009), que recentemente utilizando um sistema similar analisaram os antioxidantes BHA, galato de octila (GO), TBHQ, dentre outros, em amostras de óleos vegetais

comestíveis. Além disso, o uso de detectores eletroquímicos também é reportado na literatura, conforme descrito por Karovicová e Simko (2000).

Embora, seja de fundamental importância controlar a presença de antioxidantes no biodiesel devido sua grande capacidade de suprimir a rancidez oxidativa e dar maior estabilidade a este biocombustível, os métodos analíticos de determinação desses agentes antioxidantes são praticamente inexistentes. Após pesquisar rigorosamente nas ferramentas disponíveis na internet (web of science, SciFinder Scholar, dentre outras) para investigação bibliográfica sobre o assunto, verificou-se que, encontra-se disponível apenas dois relatos informando a determinação quantitativa de antioxidantes em biodiesel propriamente dito. No primeiro trabalho, Tagliabue e colaboradores (2004) propuseram uma metodologia empregando a CLAE com detecção ultravioleta em 254 e 280 nm para determinação qualitativa e quantitativa de seis antioxidantes sintéticos (PY, pirocatecol, GP, TBHQ, BHT e ascorbil palmitato) em amostras de biodiesel produzidos na Itália, cuja análise procedeu-se injetando a amostra diretamente no sistema cromatográfico após simples diluição com metanol utilizando uma coluna C8 e um sistema gradiente de eluição.

O outro trabalho é apresentado no catálogo da empresa Metrohm®, e disponível em seu site <http://www.biofuel-analysis.com/Oils/antioxi.html>, onde é reportado que os antioxidantes vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) e Baynox® podem ser quantitativamente determinados via CLAE com detecção no ultravioleta em amostras de biodiesel após diluição 1/1000 com o solvente da fase móvel, a qual contém diclorometano para melhorar a solubilidade dos compostos analisados. A injeção pode ser realizada diretamente no sistema cromatográfico sem nenhum outro tratamento, cuja separação é melhorada monitorando a temperatura em 35 °C. Embora, essas informações sejam restritas, é importante observar que a CLAE tem sido uma ferramenta valiosa para atender os requisitos básicos quanto a determinação desses agentes antioxidantes em biodiesel.

### **1.8.2. Métodos Colorimétricos e Espectrofotométricos**

Os métodos colorimétricos juntamente com os espectrofotométricos foram os primeiros utilizados para determinação de antioxidantes sintéticos em diferentes amostras de alimentos

(Raymundo *et al.*, 2007). A determinação de antioxidantes fenólicos através desta técnica é baseada nas propriedades redutoras destes compostos.

Robards e Dilli (1987) destacam trabalhos onde antioxidantes sintéticos como BHA, BHT foram determinados através da técnica colorimétrica em amostras de óleos comestíveis e flocos de tomate.

A técnica espectrofotométrica foi utilizada por Komaitis e Kapel (1985) para determinar BHA em óleo de oliva, gorduras e manteigas, mas existem inúmeras outras metodologias propostas utilizando esta técnica para a determinação de diferentes antioxidantes sintéticos como destacam Robards e Dilli (1987).

Algumas variações ainda vêm sendo propostas através destas técnicas como destacam Raymundo e colaboradores (2007), como o trabalho realizado por Vallvey e colaboradores (2004), onde os antioxidantes BHA, BHT, GP foram analisados através da injeção em fluxo contínuo com detecção espectrofotométrica em alimentos gordurosos e cosméticos.

### **1.8.3. Cromatografia Gasosa (CG)**

A técnica de cromatografia gasosa (CG) também tem sido adotada por pesquisadores para o desenvolvimento de procedimentos analíticos que permitam a determinação de antioxidantes (ROBARDS & DILLI, 1987). Estas geralmente são acopladas a sistemas de detecção por ionização de chama, a exemplo se pode citar Takahashi (1968) que determinou BHA e BHT em cereais matinais; González (1999) e colaboradores que determinaram BHA, BHT, TBHQ e  $\alpha$ -tocoferol em alimentos gordurosos; Yang e colaboradores (2002) desenvolveram uma metodologia para determinação de BHA, BHT e TBHQ em óleos e gorduras comestíveis.

Alguns autores têm desenvolvido metodologias utilizando a cromatografia gasosa acoplada ao sistema de detecção espectrométrico (CG-EM), como é o caso de Sumiko e colaboradores (2005), os quais aplicaram essas técnicas e a CLAE para determinar BHA, BHT, NDGA, GP, TBHQ em amostras de óleo de oliva, pasta de amendoim, molhos e chicletes; e, Guo e colaboradores (2006) que desenvolveram metodologias analíticas para determinação de BHA, BHT, TBHQ, dentre outros antioxidantes, em óleos comestíveis.

#### **1.8.4. Eletroforese Capilar (EC) e Cromatografia Capilar Eletrocinética Micelar (CCEM)**

Guan e colaboradores (2005 e 2006) desenvolveram um procedimento analítico, utilizando a Cromatografia Capilar Eletrocinética Micelar (CCEM) com detecção eletroquímica para determinar BHA, BHT, TBHQ e GP em cosméticos e produtos alimentícios. Sob esta técnica, Ding e demais autores (2006) determinaram GP e outros antioxidantes em alimentos e, Zamarreño e colaboradores (2007) também analisaram BHA e BHT e dodecil galato em amostras de óleos comestíveis.

A técnica de Eletroforese Capilar (EC) com detecção eletroquímica foi utilizada por Sha e colaboradores (2007) para o desenvolvimento de uma metodologia analítica para determinação de GP e TBHQ em amostras de cosméticos.

#### **1.8.5. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier**

Técnicas menos comuns para quantificação de compostos, como a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier também vem sendo adotadas para determinação de antioxidantes, como o trabalho de Ammawath (2004) e colaboradores que determinaram TBHQ em óleo de palma.

#### **1.8.6. Técnicas Eletroanalíticas**

As técnicas voltamétricas vêm sendo empregadas por diversos autores na determinação de antioxidantes em diversas matrizes. Ceballos e Fernández (1995) apresentaram um trabalho onde desenvolveram uma metodologia eletroanalítica para determinação de BHA e BHT utilizando eletrodos convencionais de carbono vítreo e ultramicroeletrodos de fibra de carbono empregando a voltametria cíclica. Neste trabalho, eles apontam uma melhor resposta para os ultramicroeletrodos, assim como, o uso da configuração de célula com dois eletrodos, o qual melhorou os limites de detecção. Posteriormente, estes mesmos autores em 2000 (CEBALLOS & FERNÁNDEZ, 2000 a) utilizando a técnica de voltametria cíclica (VC) e de varredura linear (VVL) desenvolveram uma metodologia eletroanalítica para determinação de

BHA, BHT e GP em óleos vegetais. Neste trabalho, eles utilizaram ultramicroeletrodos (discos) de fibra de carbono como eletrodo de trabalho, além disso, testaram configuração de célula tradicionais com três eletrodos, assim como, menos convencionais, como a configuração de célula com dois eletrodos, e através do procedimento proposto obtiveram adequados limites de detecção. Neste mesmo ano, estes autores (CEBALLOS & FERNÁNDEZ, 2000 b) apresentaram um trabalho similar, onde os antioxidantes BHA e BHT foram analisados em óleos vegetais utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ) e ultramicroeletrodos de fibra de carbono. Alguns anos mais tarde, esse mesmo grupo de pesquisa fez uso da técnica de VOQ utilizando ultramicroeletrodo de fibra de carbono para quantificar o antioxidante sintético BHT em amostras de óleo comercial para fins didáticos, em aulas de química instrumental. Eles destacaram que este experimento foi útil para abordagem de diversos conceitos, tais como métodos eletroanalíticos, adição de padrão, extração química, dentre outros (<http://jchemed.chem.wisc.edu/journal/issues/2006/sep/abs1349.html#supplement>).

Utilizando técnicas voltamétricas com auxílio de procedimentos quimiométricos, Diaz e autores (1998) desenvolveram uma metodologia para determinação de BHA, BHT e GP, a qual foi aplicada para determinação destes antioxidantes em amostras de sopa desidratada. Assim como, Ni e colaboradores (2000) que adotaram a técnica voltametria de varredura linear e eletrodo de carbono vítreo juntamente com a quimiometria para desenvolver um método para determinação simultânea de BHA, BHT, GP e TBHQ. Este procedimento proposto foi aplicado em amostras sintéticas, e várias amostras comerciais de alimentos (óleos, bolos, biscoitos, dentre outros).

Já Raymundo e demais autores (2007), utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada e eletrodos de carbono vítreo e platina, propuseram uma metodologia que permitiu a análise de BHA, BHT e TBHQ em amostras comerciais de maionese sem o auxílio de métodos quimiométricos, apenas otimizando parâmetros tais como: eletrodo de trabalho, eletrólito suporte, pH, técnicas voltamétricas.

A modificação de eletrodos é uma alternativa utilizada por muitos autores, como é o caso de Fuente e demais autores (1999), que utilizando um eletrodo de polipirrol modificado um complexo de níquel-ftalocianina para determinação voltamétrica de BHA e TBHQ em amostras de biscoitos e creme de cogumelo, esse mesmo grupo de pesquisa (RIBER *et al.*,

2000) utilizou esse material eletródico, para detecção em um sistema de injeção em fluxo dos antioxidantes BHA, GP e TBHQ, em alimentos. Surareungchai e Kasiwat (2000) recobriram um eletrodo de platina com o polímero nafion e o utilizaram no desenvolvimento de um método para análise de TBHQ em amostras de óleos comestíveis, obtendo satisfatórios valores de recuperação do analito; e recentemente, Freitas e Fatibello-Filho (2010) determinaram simultaneamente BHA e BHT em maionese, utilizando um eletrodo composto de carbono modificado com  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$  imobilizado em resina de poliéster.

O uso de eletrodos modificados para determinação de antioxidantes por injeção em fluxo é outra vertente em que as técnicas eletroanalíticas são aplicadas. Através do uso deste tipo de sistema, Luque e demais autores (1999) utilizaram um eletrodo de grafite modificado com cloreto de polivinila na determinação de GP, BHA dentre outros compostos, em amostras de alimentos processados. García e Ortiz (2000) utilizaram a voltametria cíclica em eletrodo de carbono vítreo modificado com polímeros (4-hidroxibenzaldeído/ formaldeído) de forma a otimizar a detecção do método proposto para análise de BHA e TBHQ, através da técnica de injeção em fluxo com detecção amperométrica. A metodologia proposta foi aplicada em bronzeadores. Jayasri e Narayanan (2006) desenvolveram um eletrodo de grafite modificado com hexacianoferrato de prata, o mesmo foi aplicado para determinação de BHA utilizando um sistema em fluxo, em amostras de flocos de batata desidratados. Esse mesmo grupo de pesquisa em 2006 (PRABAKAR & NARAYANAN, 2006) utilizou um eletrodo similar, modificado com hexacianoferrato de cobalto para análise em fluxo de BHA, em gomas de mascar e óleo de girassol; e mais recentemente (KUMAR & NARAYANAN, 2008) desenvolveram um eletrodo de grafite modificado com aquapentacianoferrato de níquel, também utilizado para análise em fluxo de BHA, e aplicado em amostras comerciais de cereais, e batata frita (PRABAKAR & NARAYANAN, 2010).

Meios emulsificados e micelares também têm sido utilizados no propósito do desenvolvimento de procedimentos analíticos para determinação de antioxidantes. Cortés e colaboradores (1993) apresentaram inicialmente um trabalho onde determinaram satisfatoriamente TBHQ em óleos. O procedimento foi proposto através da oxidação deste antioxidante em meios micelares e emulsificados utilizando o surfactante Pluronic F-68. A técnica utilizada no estudo foi a polarografia de pulso diferencial (PPD). Posteriormente, esse mesmo grupo de pesquisa (CORTÉS *et al.*, 1994) desenvolveu uma metodologia similar

utilizando a técnica de VOQ, a mesma foi empregada na determinação de TBHQ em amostras de milho de pipoca. González e autores (1994) utilizando a voltametria de pulso diferencial (VPD) propuseram uma metodologia para quantificação de BHA em condições similares aos estudos de TBHQ relatados acima, fazendo uso de meios emulsificados e micelares. O método desenvolvido foi aplicado para determinação de BHA em gomas de mascar.

Agüí e colaboradores (1995) utilizando microeletrodos de fibra de carbono cilíndricos desenvolveram uma metodologia para determinação simultânea de BHA e BHT em amostras de flocos de batata desidratados. Esses mesmos autores, em 1996, modificaram e caracterizaram esses microeletrodos com poli (3-metiltiofeno), material eletródico esse, que foi utilizado para determinação de GP diretamente em amostras comerciais de sopa desidratada também utilizando um meio emulsificado com o surfactante Pluronic F68 (AGÜÍ *et al.*, 1997). Utilizando microeletrodos, neste caso de platina, Michalkiewicz e colaboradores (2003) investigaram o comportamento voltamétrico de BHA, BHT e TBHQ, e através deste estudo sugeriram um procedimento analítico baseado na resposta linear das  $I_p$  destes antioxidantes com suas respectivas concentrações.

Recentemente, foi apresentado na literatura um trabalho onde um eletrodo de diamante dopado com boro foi empregado para o desenvolvimento de procedimentos analíticos para determinação simultânea de BHA e BHT em produtos alimentícios tanto empregando a técnica de voltametria de onda quadrada, (MEDEIROS *et al.*, 2010a), como através da análise por injeção em fluxo (MEDEIROS *et al.*, 2010a).

## 1.9. Surfactantes

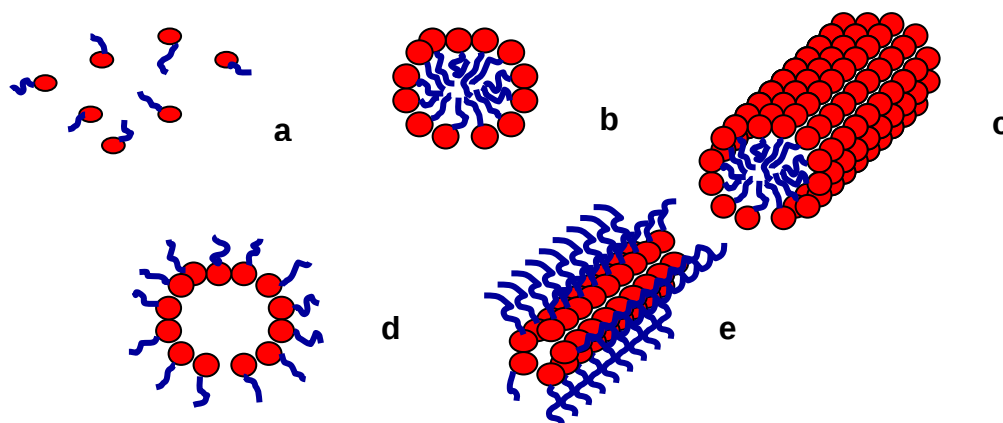
São moléculas anfipáticas constituídas de uma porção hidrofóbica (apolar) e uma porção hidrofílica (polar) (NITSCHKE & PASTORE, 2002).

A porção apolar é frequentemente uma cadeia hidrocarbônica também chamada de “cauda”, e consiste de uma ou mais cadeias hidrocarbônicas, usualmente com 6 - 22 átomos de carbono, sendo que essas cadeias podem ser lineares ou ramificadas (NITSCHKE & PASTORE, 2002; RUSLING, 1994; SALAGER, 2002).

A porção polar, também denominada de “cabeça” pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não-iônica e anfótera (NITSCHKE & PASTORE, 2002; RUSLING, 1994; SALAGER, 2002).

Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluídas 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 fazem com que os surfactantes sejam adequados para uma ampla gama de aplicações: nas indústrias como função de detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, solubilização e dispersão das fases, flotação mineral, inibição de corrosão e em experimentos eletroquímicos (NITSCHKE & PASTORE, 2002; RUSLING, 1994; SALAGER, 2002), onde têm contribuído consideravelmente nos mais diversos estudos, como será descrito mais a frente.

Quando a concentração de surfactantes solúveis é aumentada em água, propriedades físicas tais como condutividade e tensão superficial apresentam um formato descontínuo, essas discontinuidades indicam a formação de agregados dinâmicos de moléculas de surfactantes, chamados micelas. Para valores abaixo da Concentração Micelar Crítica (CMC) os surfactantes encontram-se na forma de monômeros (**Figura 4**) (RUSLING, 1994).



**Figura 4:** Estruturas de surfactantes: (a) monômeros, (b) micela esférica, (c) micela cilíndrica, (d) micela esférica reversa, (e) micela cilíndrica reversa.

Valores de CMC para surfactantes comumente utilizados estão na faixa de  $10^{-4}$  a  $10^{-2}$  mol  $L^{-1}$ . A adição de sais à solução normalmente reduzem o valor da CMC.

Acima da CMC, a estrutura micelar é considerada sendo globular ou esférica e cilíndrica (**Figura 4**), em presença de água. Sua estrutura apresenta-se com parte hidrofóbica

voltada para o centro da micela, enquanto a cabeça (porção hidrofílica) é voltada para o solvente, contudo, a estrutura exata das micelas ainda é controversa (RUSLING, 1994).

Quando os surfactantes são dissolvidos em solventes apolares formam agregados com a cauda em face com o solvente, são as chamadas micelas reversas.

### 1.9.1. Classificação dos surfactantes

Uma classificação bastante aceita e cientificamente encontrada para os surfactantes é baseada na dissociação destes compostos em água (SALAGER, 2002).

**A. Surfactantes aniônicos:** são dissociados em água na forma de um ânion (parte hidrofóbica), e um cátion, o qual geralmente é um metal alcalino ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) ou amônio quaternário.

**B. Surfactantes não-iônicos:** não ionizam em solução aquosa, porque o seu grupo hidrofílico é de um tipo não-dissociável, tal como álcool, fenol, éter, éster, ou amida.

**C. Surfactantes catiônicos:** são dissociados em água em um cátion e um ânion, normalmente, um halogênio. Uma grande porção dessa classe corresponde aos compostos de nitrogênio, tal como amônio quaternário, com uma ou várias cadeias do tipo alquila.

**D. Surfactantes anfóteros:** São moléculas que se dissociam tanto em cátions, como ânions. É o caso de produtos sintéticos como betaínas ou sulfobetaínas e substâncias naturais tais como aminoácidos e fosfolípidos.

### 1.9.2. Uso de surfactantes em estudos eletroquímicos

As soluções de surfactantes tem aplicações na eletroquímica há mais de 50 anos (RUSLING, 1994; RUSLING, 1997).

Em polarografia, surfactantes tais como Triton X-100 tem sido utilizados como agentes supressores de máximos polarográficos. No que diz respeito às aplicações modernas dos surfactantes, estes têm sido incluídos em sínteses eletroquímicas, catálise, decomposição de poluentes, análises e decomposição de filmes, dentre outros (RUSLING, 1994; RUSLING, 1997).

A literatura dispõe de uma variedade de trabalhos que envolvem estudos eletroquímicos da interação que ocorre entre surfactante e a espécie eletroativa, bem como as interações entre eletrodo/surfactante (AVRANAS *et al.*, 2002; AVRANAS *et al.*, 2006; FARHADI &

SHAMSIPUR, 2001; HOYER & JENSEN, 2003a; HOYER & JENSEN, 2003b; HOYER & JENSEN, 2005; HOYER & JENSEN, 2006; HOYER & JENSEN, 2007; HU *et al.*, 2007; JARA-ULLOA *et al.*, 2007; SANS-MEDEL, 1999; ZUMAN & GERMAN, 1988). 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 na superfície de produtos eletrogerados ou, até mesmo, do próprio reagente. 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 (HOYER & JENSEN, 2003 a; HOYER & JENSEN, 2003 b; HOYER & JENSEN, 2005; HOYER & JENSEN, 2006; HOYER & JENSEN, 2007).

O uso de um agente tensoativo tem se tornado uma das estratégias mais simples adotadas e reportadas em diversos trabalhos na literatura, cujo efeito pode ser facilmente conseguido pelo uso de surfactantes catiônicos, aniônicos e/ou neutros (FARHADI & SHAMSIPUR, 2001; HOYER & JENSEN, 2003 a; HOYER & JENSEN, 2003 b; HOYER & JENSEN, 2005; HOYER & JENSEN, 2006; HOYER & JENSEN, 2007; JARA-ULLOA *et al.*, 2007;). O uso de surfactante para este fim tem se tornado viável, oferecendo diversas vantagens, pois manipulações externas das amostras são normalmente menos requeridas (HOYER & JENSEN, 2003 a; HOYER & JENSEN, 2003 b; HOYER & JENSEN, 2005; HOYER & JENSEN, 2006; HOYER & JENSEN, 2007). Sob o ponto de vista analítico, uma das maiores e mais importantes propriedades inerentes ao uso dos surfactantes é sua capacidade de solubilizar analitos com diferentes características e propriedades físico-químicas. Estes surfactantes podem interagir eletrostaticamente, hidrofobicamente ou pela combinação desses dois efeitos e formar estruturas organizadas, conferindo grande melhora na solubilidade (SANS-MEDEL, 1999).

Adicionalmente, o uso de substâncias neutras e/ou iônicas com propriedades tensoativas comumente empregadas em estudos eletroquímicos (AVRANAS *et al.*, 2002; AVRANAS *et al.*, 2006; FARHADI & SHAMSIPUR, 2001; HOYER & JENSEN, 2003a; HOYER & JENSEN, 2003b; HOYER & JENSEN, 2005; HOYER & JENSEN, 2006; HOYER & JENSEN, 2007; HU *et al.*, 2007; JARA-ULLOA *et al.*, 2007; SANS-MEDEL, 1999;

ZUMAN & GERMAN, 1988) tem promovido alterações significativamente favoráveis no processo eletródico e no perfil voltamétrico dos picos. Essas alterações são geralmente explicadas por meio da alteração da formação da dupla camada elétrica e/ou da formação de par-iônico entre analito/surfactante (ZUMAN & GERMAN, 1988). Assim, estudos eletroquímicos da interação que ocorre entre surfactante e a espécie eletroativa, espécies interferentes, bem como, as interações entre eletrodo/surfactante são bem documentados (FARHADI & SHAMSIPUR, 2001; HOYER & JENSEN, 2003 a; HOYER & JENSEN, 2003 b; HOYER & JENSEN, 2005; HOYER & JENSEN, 2006; HOYER & JENSEN, 2007; JARA-ULLOA *et al.*, 2007; ZUMAN & GERMAN, 1988). Nesse contexto, os resultados revelam que a adsorção de surfactantes na superfície do eletrodo altera significativamente o comportamento voltamétrico e eletroquímico da espécie eletroativa em estudo, cujas mudanças nas características do eletrodo em alguns casos têm sido enumeradas da seguinte forma: i) mudança na estrutura da dupla camada elétrica; ii) mudança na velocidade de transferência eletrônica através de ambos os casos: inativação ou aceleração do processo de transferência de carga; iii) alteração no valor do  $E_{1/2}$  da espécie eletroativa pela presença de surfactante. O uso de surfactante em estudos eletroquímicos também tem possibilitado melhora na estabilidade do material eletródico (FARHADI & SHAMSIPUR, 2001; MEYER *et al.*, 1981; RUSTLING, 1994; RUSLING, 1997, PARIA *et al.*, 2004).

### 1.10. Objetivos

O objetivo do presente trabalho foi investigar novos métodos analíticos para determinação dos antioxidantes TBHQ, PG e BHA, empregando técnicas eletroanalíticas.

Para atender estes objetivos foram efetuados os seguintes estudos:

- Caracterização e desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação individual de TBHQ baseada na sua oxidação em eletrodo de gota pendente de mercúrio e em eletrodo de pasta de carbono.
- Caracterização e desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para determinação individual de PG e simultânea de TBHQ e BHA, baseadas nas suas respectivas oxidações em eletrodo de pasta de carbono.

Em todos estes estudos a influência do uso dos surfactantes foi avaliada no processo.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. Reagentes

Os padrões dos antioxidantes (grau analítico) utilizados nos experimentos foram: TBHQ, BHA, GP todos obtidos da Acros Organics, com grau de pureza de 97,0; 96,0 e 98,0%, respectivamente. Todos estes antioxidantes foram usados sem purificação prévia. As soluções destes compostos e das amostras de biodiesel foram preparadas em metanol, grau analítico - (Synth).

Os surfactantes catiônicos brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA), brometo de tetradeciltrimetilamônio (BTDTA), os sais brometo de metiltrimetilamônio (BTMA) e brometo de tetraetilamônio (BTEA) e o surfactante neutro Triton X-100 (TX-100) foram adquiridos da Acros Organics, e o surfactante aniônico, dodecilsulfato de sódio, obtido da Sigma. Todos estes foram utilizados nas medidas eletroquímicas como recebidos sem purificações adicionais.

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

Pó de Grafite (Fisher Chemicals e Sigma Aldrich), vaselina (Synth) e óleo mineral (Sigma-Aldrich) foram utilizados no preparo dos eletrodos de pasta de carbono, conforme procedimento descrito na seção 2.5.2.

Os reagentes utilizados nas medidas cromatográficas foram: acetonitrila, metanol (J. T. Baker Grau Cromatográfico) e ácido sulfúrico (Quimex).

A água utilizada nos experimentos foi ultrapurificada com um sistema de purificação Milli-Q Plus (Millipore).

### 2.2. Soluções

As soluções dos padrões de antioxidantes foram preparadas momentos antes do seu uso através da pesagem de quantidades apropriadas do padrão, e dissolução em metanol. No caso das medidas cromatográficas os antioxidantes foram solubilizados em metanol grau cromatográfico.

As soluções dos surfactantes foram preparadas através da pesagem direta e dissolução até a concentração pretendida em balão volumétrico com água ultrapurificada.

As soluções dos tampões utilizados como eletrólito suporte foram preparadas conforme descrito abaixo:

- ❖ **Tampão Britton-Robinson 0,04 mol. L<sup>-1</sup>:** foram misturados, ácido acético 0,04 mol. L<sup>-1</sup>, ácido bórico 0,04 mol L<sup>-1</sup>, ácido ortofosfórico 0,04 mol .L<sup>-1</sup>. O ajuste do pH desejado foi realizado com hidróxido de sódio 0,2 mol. L<sup>-1</sup>.
- ❖ **Tampão acetato 0,04 mol L<sup>-1</sup>:** ácido acético 0,04 mol L<sup>-1</sup> e NaOH 0,2 mol L<sup>-1</sup> para ajuste de pH.
- ❖ **Tampão fosfato 0,04 mol L<sup>-1</sup>:** ácido ortofosfórico 0,04 mol. L<sup>-1</sup> e NaOH 0,2 mol. L<sup>-1</sup> para ajuste de pH.

Tampões em outras concentrações foram preparados de modo similar ao descrito acima, alterando somente a concentração da solução ácida.

## 2.3. Equipamentos

As medidas de pH foram realizadas em um medidor de pH (Tecnopon/ Modelo MPA-20) acoplado a um agitador magnético TM 125 Shott.

Um banho ultrasonico (UNIQUE) foi utilizado para dissolução dos reagentes antes das análises.

As amostras de biodiesel foram aditivadas com antioxidantes com auxílio de mesa agitadora (Certomat - Modelo II), a mesma foi utilizada na homogeneização das amostras.

As medidas eletroanalíticas foram realizadas utilizando os seguintes equipamentos:

- ❖ Medidas para TBHQ em eletrodo de gota de mercúrio foram realizadas com o auxílio de um potenciostato/galvanostato  $\mu$ Autolab TYPE II (ECO CHEMIE BV) acoplado a um sistema de multi eletrodos Metrohm 663 VA Stand equipado com um software GPES para aquisição dos dados. O eletrodo de trabalho, eletrodo de gota de mercúrio foi usado no modo de gota pendente (HMDE) (área  $\approx 0,52 \text{ mm}^2$ ), Ag/AgCl foi utilizado como eletrodo de referência e uma haste de carbono vítreo como eletrodo auxiliar.

- ❖ Os estudos de TBHQ e GP em eletrodo de pasta de carbono foram realizados com auxílio de um potenciostato/galvanostato VersaStat II da Princeton Applied Research utilizando Ag/AgCl e um fio de platina, como eletrodo de referência e auxiliar, respectivamente.
- ❖ As medidas eletroquímicas do estudo simultâneo de TBHQ e BHA foram realizadas utilizando-se um potenciostato/ galvanostato AUTOLAB modelo GPSTAT 128N (Eco Chemie), interfaceado a um microcomputador e gerenciado pelo software GPES 4.9 (Eco Chemie) para aquisição dos dados. Novamente foram utilizados um eletrodo de referência de Ag/AgCl e um fio de platina como eletrodo auxiliar.
- ❖ As medidas cromatográficas foram realizadas utilizando um cromatógrafo Varian ProStar equipado com bomba ternária ProStar 210 e detector ProStar 325 UV-Vis (Varian Inc., Melbourne, Austrália). A injeção da amostra foi realizada através válvula injetora Rheodyne (Varian, Inc., Cotati CA, E.U.A.) com um ciclo de 20  $\mu$ L. A coluna utilizada foi de fase reversa C-18 OmniSpher (250 mm x 4,6 mm x 5  $\mu$ ) (Varian, E.U.A.) mantida a 25°C. Previamente as medidas a fase móvel foi desgaseificada e filtrada a vácuo através de membranas de nylon 0,45 Hm (Alltech Inc. Associados, Bélgica), e então bombeada a uma vazão de 0,70 ml.min<sup>-1</sup>.

## 2.4. Amostras

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

## 2.5. Procedimentos Experimentais

### 2.5.1. Limpeza dos Materiais

A limpeza dos materiais utilizados durante a otimização das metodologias foi procedida do seguinte modo: banho em detergente neutro (2% v/v), seguido de enxágue em: etanol comercial (1 vez), água comum (10 vezes), água destilada (3 vezes) e em água ultrapurificada (3 vezes).

Para os materiais utilizados durante as análises em amostras de biodiesel, a limpeza foi realizada de modo similar, apenas substituindo o banho em detergente pela lavagem em solução etanólica de hidróxido de potássio, os demais passos, exceto o enxágue em etanol foram mantidos. Após a limpeza, os materiais foram secos antes do seu uso.

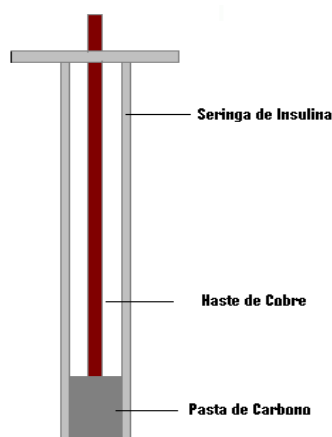
Os eletrodos foram limpos através de enxágue da superfície com etanol comercial e água ultrapurificada em abundância em seguida secos em papel macio antes do uso.

### **2.5.2. Confeção dos Eletrodos de Pasta de Carbono (EPC)**

Os eletrodos de pasta de carbono (EPC) foram preparados de forma similar ao procedimento descrito por Huang (2005), através da mistura de pó de grafite e vaselina (ou óleo mineral) como líquido aglutinante, em quantidades apropriadas, de acordo com as respectivas proporções estudadas, a mistura foi então homogeneizada com auxílio de almofariz e pistilo, ambos de vidro, por cerca de 40 minutos. O estudo de TBHQ foi realizado em EPC confeccionado com pó de grafite da marca Fisher Chemical, enquanto que o estudo de GP e TBHQ e BHA, foi efetuado com um EPC preparado com pó de grafite da Sigma-Aldrich.

A pasta de carbono obtida foi então embutida em um cilindro de teflon confeccionado a partir de uma seringa de insulina com área superficial de aproximadamente  $0,13 \text{ cm}^2$ , esta foi posteriormente compactada e um fio de cobre foi, então, inserido para estabelecer o contato elétrico do eletrodo, conforme apresentado na **Figura 5**.

A regeneração da superfície do eletrodo de pasta foi efetuada através do polimento sobre papel sulfite apoiado a uma superfície lisa (Svancara *et al.*, 2008).



**Figura 5:** Esquema ilustrativo do Eletrodo de Pasta de Carbono confeccionado.

### 2.5.3. Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas em uma cela eletroquímica, contendo 10 mL do eletrólito suporte, este foi previamente desaerado 10 minutos com  $N_2$  (White Martins) para minimizar a presença de oxigênio em solução. Utilizando o eletrólito desaerado, foram registradas as medidas voltamétricas, no intervalo de potencial de trabalho adequado a cada estudo.

Depois de registradas as medidas para o eletrólito suporte (branco), foram então adicionadas soluções padrão na concentração desejada do(s) antioxidante(s) ou outros reagentes, de acordo com o estudo em questão, a solução foi novamente desaerada e agitada por um tempo de 60 segundos, e então novas medidas eletroquímicas foram registradas. Todas as medidas foram realizadas em triplicata, e os resultados apresentados em todo trabalho correspondem às médias referentes a essas varreduras. A cada medida eletroquímica a superfície do eletrodo de trabalho foi renovada, quer seja por descarte automático como no caso do eletrodo de gota de mercúrio, ou pela renovação manual da superfície, como no caso do EPC (procedimento descrito no tópico anterior).

Os procedimentos efetuados para estabelecer os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) é descrito em detalhadamente na seção 3 em cada metodologia proposta.

### 2.5.4. Aditivção das amostras de biodiesel com antioxidantes

As massas dos padrões dos antioxidantes sintéticos estudados foram pesadas de acordo com o nível de aditivação do biodiesel em estudo. Em um balão volumétrico de 5 mL adicionou-se aproximadamente 4,5 mL de biodiesel à massa de antioxidante pesada, esta mistura foi então submetida a agitação vigorosa em mesa agitadora por 40 minutos para homogeneização, em seguida foi levada ao banho ultrasonico para dissolução do(s) antioxidante(s) por um período de 10 minutos, o volume foi então completado com biodiesel e o material novamente submetido a banho ultrasonico por mais 10 minutos.

O procedimento de agitação vigorosa para aditivação de biodiesel com antioxidantes foi adotado do trabalho de Domingos e autores (2007).

### **2.5.5. Preparo e análise das soluções amostra**

As soluções amostra foram preparadas através da diluição do biodiesel (sem e com aditivação) em metanol.

Para o preparo destas soluções, alíquotas apropriadas do biodiesel foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL com auxílio de micropipetas. Em seguida adicionou-se aproximadamente 9 mL de metanol, este material foi então levado a banho ultrasonico por 10 minutos para solubilização da amostra. O volume foi completado com metanol e a solução submetida a banho ultrasonico por mais 5 minutos para completa homogeneização. As alíquotas de biodiesel foram tomadas de acordo com o nível de aditivação de cada amostra.

Para as análises eletroanalíticas volumes normalmente de 30 a 60  $\mu\text{L}$  da amostra foram transferidos diretamente à cela eletroquímica (já contendo 10 mL do eletrólito suporte previamente desaerado ou outros reagentes tal como surfactantes, como será descrito na Seção 3) e as medidas voltamétricas foram então registradas. Em seguida foram adicionadas alíquotas adequadas da solução padrão do(s) antioxidante(s) em estudo, e a cada adição foram obtidos os voltamogramas correspondentes, de forma a determinar a concentração do antioxidante através da técnica de adição de padrão.

Para as medidas cromatográficas as soluções amostra foram preparadas de modo similar, 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.

### 2.5.6. Medidas Cromatográficas

As medidas cromatográficas foram realizadas com objetivo de estabelecer a comparação com os resultados obtidos através das metodologias eletroanalíticas propostas neste trabalho.

O procedimento utilizado foi adaptado da metodologia desenvolvida por Tagliabue e autores (2004). As medidas cromatográficas foram realizadas utilizando como fase móvel um sistema isocrático constituído de 55% de solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,004 mol  $\text{L}^{-1}$ , 35 % de acetonitrila e 10 % de metanol e vazão de 0,7 mL.  $\text{min}^{-1}$ . Assim como para as medidas eletroquímicas, as cromatográficas também foram efetuadas em triplicata.

Os experimentos cromatográficos constituíram-se da obtenção dos cromatogramas das soluções de padrão dos antioxidantes estudados em diferentes concentrações, para construção da 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

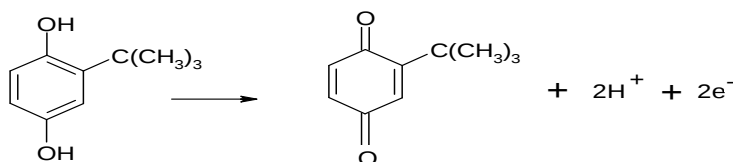
#### 3.1. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel utilizando eletrodo de gota de mercúrio

Embora o eletrodo de gota de mercúrio já tenha sido utilizado no desenvolvimento de metodologias para determinação de TBHQ em amostras de óleos comestíveis e milho de pipoca (CORTÉS *et al.*, 1993, CORTÉS *et al.*, 1994), até a realização deste trabalho não havia nenhum relato do seu uso para determinação deste antioxidante em amostras de biodiesel. Diante dessas informações, foi desenvolvida uma metodologia eletroanalítica para quantificação de TBHQ em amostras de biodiesel empregando este material eletródico e a técnica de VOQ.

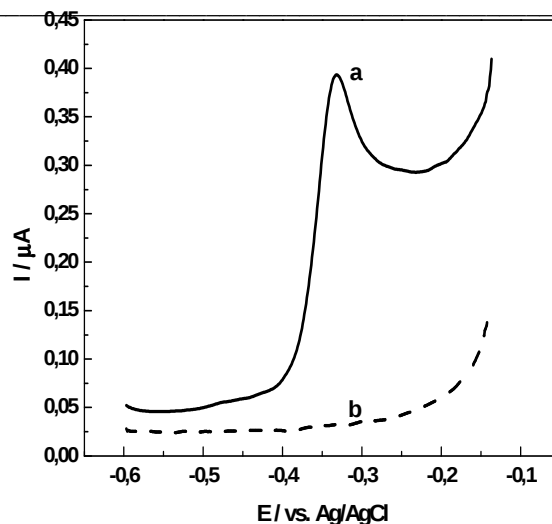
##### 3.1.1. Oxidação eletroquímica de TBHQ na superfície do eletrodo de gota de mercúrio

A oxidação eletroquímica de TBHQ foi investigada inicialmente em meio aquoso de tampão Britton Robinson (BR) pH 9,01 (0,04 mol L<sup>-1</sup>), empregando a técnica de Voltametria de Onda Quadrada (VOQ).

Como pode ser observado na **Figura 6**, após varredura anódica, o TBHQ (1,22 x10<sup>-5</sup> mol. L<sup>-1</sup>) apresentou um único pico de oxidação, em aproximadamente -0,33 V. De acordo com a literatura (CORTÉS *et al.*, 1993; CORTÉS *et al.*, 1994; FUENTE *et al.*, 1999; TONMANEE & ARCHER, 1982), esse pico anódico se deve a oxidação de TBHQ a quinona correspondente (**Esquema 2**).



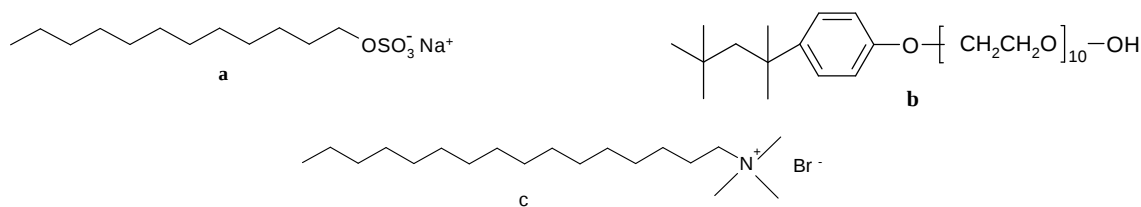
**Esquema 2:** Oxidação de TBHQ (CORTÉS *et al.*, 1993; CORTÉS *et al.*, 1994; FUENTE *et al.*, 1999; TONMANEE & ARCHER, 1982).



**Figura 6:** Oxidação eletroquímica de TBHQ (a) ( $1,22 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, em presença do eletrólito tampão Britton Robinson pH 9,01  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (b). Parâmetros instrumentais:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

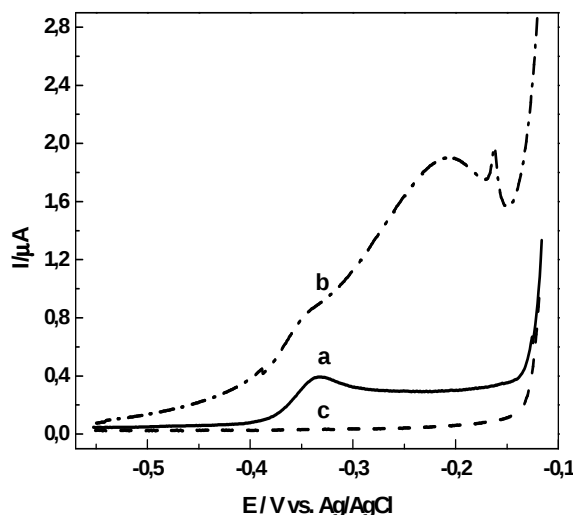
Como já mencionado previamente na introdução deste trabalho, o eletrodo de gota pendente de mercúrio foi utilizado no desenvolvimento de metodologias para determinação do antioxidante TBHQ em amostras de óleos comestíveis e pipoca comercial por Cortéz e autores (1993 e 1994, respectivamente). Nestes trabalhos, os autores investigaram o uso de surfactantes no desenvolvimento das metodologias eletroanalíticas com objetivo de promover a determinação direta de TBHQ nas amostras estudadas. Esses resultados foram alcançados com sucesso através do uso do surfactante neutro Pluronic F-68.

Diante disso, a influência de diferentes tipos de surfactantes foi avaliada na oxidação de TBHQ em eletrodo de gota de mercúrio, sendo eles: brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA) (catiônico), dodecilsulfato de sódio (aniônico) (DSS) e Triton X-100 (neutro) (TX-100) todos na concentração de 0,01% (m/v) condição similar a utilizada nos trabalhos descritos acima (Figura 7).

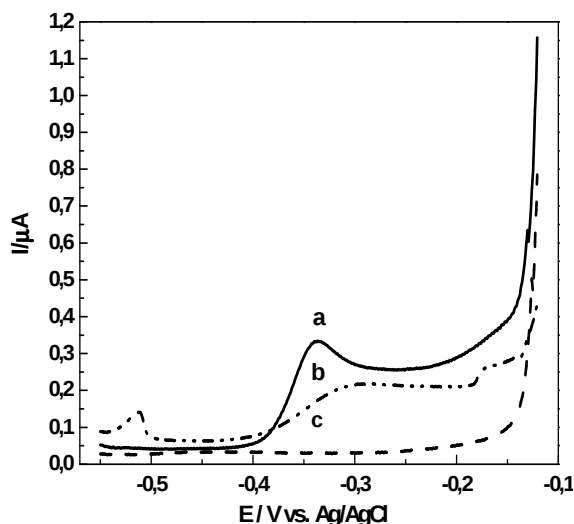


**Figura 7:** Estrutura química dos surfactantes: (a) Aniônico: Dodecilsulfato de sódio (DSS), Neutro: Triton X-100 (TX-100) e (c) Catiônico: Brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA).

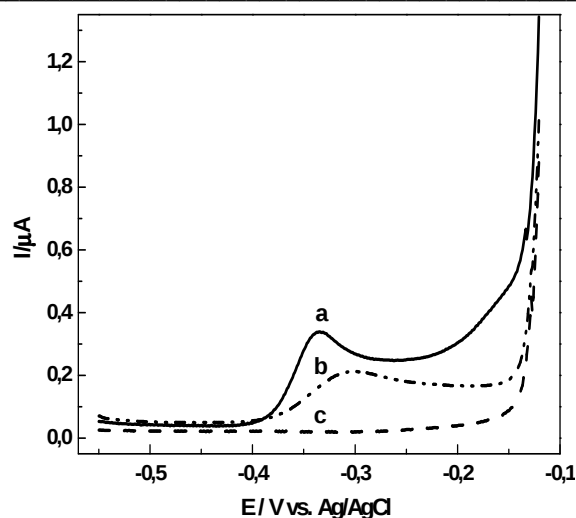
Este estudo foi realizado em meio aquoso constituído por tampão Britton Robinson pH 9,01 ( $0,04 \text{ mol. L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ. Os voltamogramas obtidos neste estudo são apresentados nas **Figuras 8**, **9** e **10**. Como pode ser observado, todos os surfactantes investigados na oxidação de TBHQ em eletrodo de gota de mercúrio comprometeram a resolução do pico deste antioxidante, no entanto, os surfactantes iônicos (BCTA e DSS) em maior extensão do que o surfactante neutro T - 100.



**Figura 8:** Oxidação eletroquímica de TBHQ ( $1,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, onde: (a) na ausência do surfactante, (b) na presença de BCTA 0,01% (m/v), e (c) eletrólito suporte tampão BR pH 9,01 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. Parâmetros instrumentais:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .



**Figura 9:** Oxidação eletroquímica de TBHQ ( $1,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, onde: (a) na ausência do surfactante DSS, (b) na presença de DSS 0,01% (m/v), e (c) eletrólito suporte tampão BR pH 9,01 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. Parâmetros instrumentais:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .



**Figura 10:** Oxidação eletroquímica de TBHQ ( $1,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, onde: (a) na ausência do surfactante TX-100, (b) na presença de TX-100 0,01% (m/v), e (c) eletrólito suporte tampão BR pH 9,01 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), respectivamente. Parâmetros instrumentais:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

Portanto, para o desenvolvimento de uma metodologia de determinação de TBHQ o uso de surfactantes foi inicialmente descartado, já que nenhum dos compostos estudados promoveu melhora do sinal analítico, pelo contrário, o uso dos mesmos prejudicou o pico de oxidação de TBHQ.

### 3.1.2. Efeito do pH do eletrólito suporte.

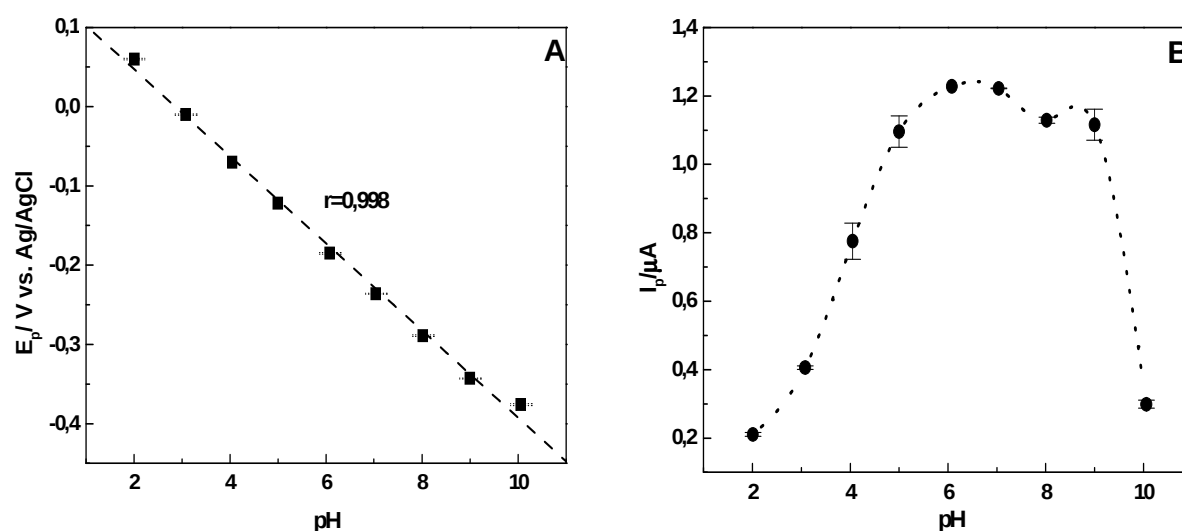
A oxidação de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi estudada empregando a técnica de VOQ, no intervalo de pH de 2,01 a 10,06, em tampão Britton Robinson ( $0,04 \text{ mol. L}^{-1}$ ).

O comportamento voltamétrico de TBHQ é marcadamente influenciado pelo pH do eletrólito suporte, este efeito é ilustrado através dos valores de corrente e potencial de pico apresentados nas **Figuras 11 A e B**.

Como é possível verificar, o aumento do pH do eletrólito suporte proporcionou o deslocamento do potencial de pico para valores mais negativos. Esse comportamento pode ser atribuído à existência de reações de protonação acopladas ao processo de transferência eletrônica (CORTÉS *et al.*, 1993; CORTÉS *et al.*, 1994; TONMANEE & ARCHER, 1982; TRINDADE *et al.*, 2007).

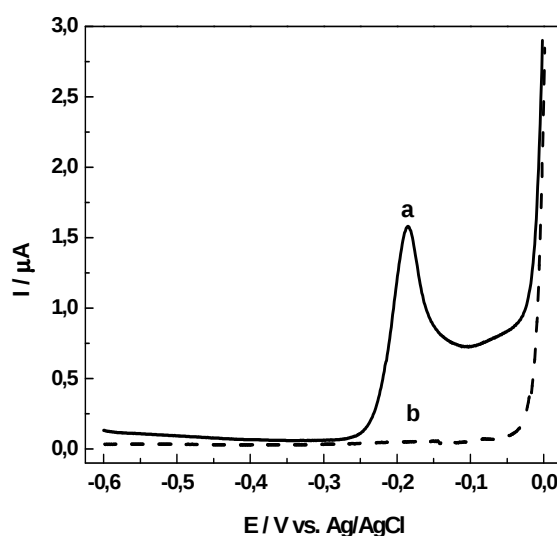
A análise da **Figuras 11 A** mostra que o  $E_p$  varia linearmente com o aumento do pH, apresentando apenas um segmento linear, com a equação de regressão linear:  $E_p \text{ (mV)} = 157,33 - 54,97 \times \text{pH}$  ( $r = 0,998$ ). Utilizando a relação:  $\Delta E_p / \Delta \text{pH} = 59 m_{H^+} / n$ , onde  $m_{H^+}$  corresponde ao número de prótons envolvidos na etapa química e  $n$ , o número de elétrons consumidos na etapa eletroquímica (BARD & FAULKNER, 2001), considerando que a t-butilhidroquinona é usualmente oxidada pela transferência eletrônica de dois elétrons (**Esquema 2**) (CORTÉS *et al.*, 1993; CORTÉS *et al.*, 1994; FUENTE *et al.*, 1999; TONMANEE & ARCHER, 1982), e a partir do valor de 54,97 mV/ pH obtido para inclinação do gráfico de  $E_p$  vs. pH, a aplicação da equação anterior fornece um valor de  $m_{H^+}$  de  $1,86 \approx 2$ . Este resultado indica que o processo de oxidação de TBHQ ocorre via transferência eletrônica envolvendo dois elétrons e dois prótons, portanto, em concordância com mecanismo apresentado na literatura (CORTÉS *et al.*, 1993; CORTÉS *et al.*, 1994; FUENTE *et al.*, 1999; TONMANEE & ARCHER, 1982).

Quanto à influência do pH na resposta da corrente de pico de TBHQ, observou-se que de pH 2,0 a 6,0 há um considerável aumento da  $I_p$ , a qual permanece aproximadamente constante até pH 7,0 e a partir deste sofre um decréscimo gradual.



**Figura 11:** Influência do pH do eletrólito suporte (tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup>) para  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>), empregando a técnica de VOQ. Parâmetros instrumentais:  $f = 90$  Hz,  $E_{sw} = 250$  mV e  $\Delta E_s = 1$  mV.

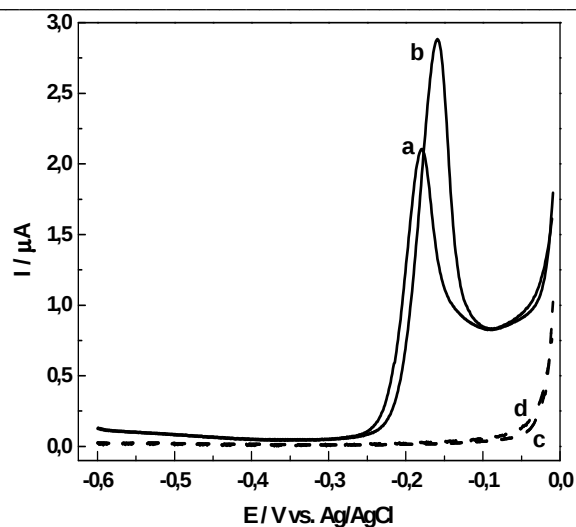
Do ponto de vista analítico, a resposta da  $I_p$  e do  $E_p$  em relação ao pH do eletrólito suporte, foi estudada de forma a otimizar um valor adequado para o desenvolvimento da metodologia para determinação de TBHQ. Para isso, vários fatores foram considerados, tais como a altura e a definição do pico. Conforme pode ser observado na **Figura 11B** a  $I_p$  apresentou maior valor em pH 6,0, além disso, o pico de oxidação de TBHQ neste pH também apresentou boa resolução (**Figura 12**), portanto, este valor foi adotado para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.



**Figura 12:** Voltamogramas de Onda Quadrada registrados para: (a) oxidação eletroquímica de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em presença do eletrólito suporte tampão BR pH 6,08 ( $0,04 \text{ mol. L}^{-1}$ ) (b). Parâmetros instrumentais:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

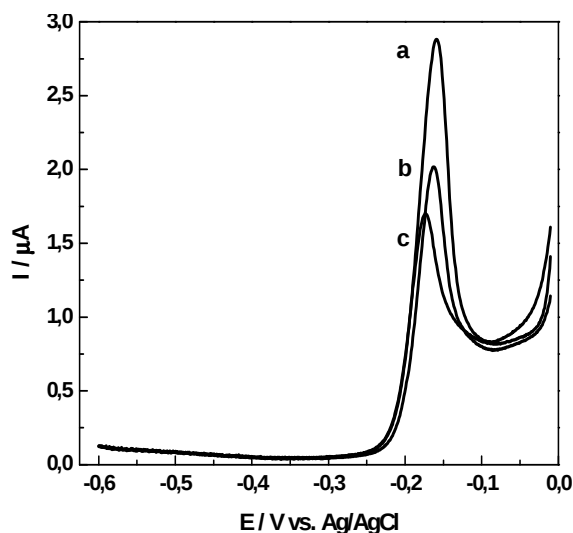
### 3.1.3. Influência do tipo e concentração do eletrólito suporte na oxidação de TBHQ

Após definido o pH 6,08 como meio mais adequado para a oxidação de TBHQ, a influência do tampão fosfato (pH 6,07 -  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) também foi estudada. Como é apresentado na **Figura 13**, o  $E_p$  para TBHQ apresentou-se em tampão fosfato 20 mV menos negativo que o  $E_p$  encontrado em tampão BR. Além disso, foi encontrada uma diferença para  $I_p$ , a qual apresentou maior valor em tampão fosfato. Considerando a diferença do comportamento deste antioxidante nestes tampões, o tampão fosfato pH 6,07 foi selecionado como eletrólito suporte para os demais estudos, em virtude da maior corrente de pico encontrada para TBHQ neste meio.



**Figura 13:** Voltamogramas de Onda Quadrada para  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ em diferentes eletrólitos: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,08), (b) tampão fosfato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,07). Os voltamogramas dos tampões BR e fosfato na ausência de TBHQ são apresentados, respectivamente, em c e d. Parâmetros instrumentais:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

Outro parâmetro avaliado para a oxidação de TBHQ foi a concentração do eletrólito suporte, a qual foi estudada em tampão fosfato pH 6,0, nas seguintes concentrações: 0,04, 0,08 e 0,12  $\text{mol L}^{-1}$  (**Figura 14**). Como apresentado, as diferentes concentrações do eletrólito suporte influenciaram na oxidação de TBHQ, o aumento da concentração do tampão fosfato promoveu a redução na corrente de pico do antioxidante, desta forma, a concentração de 0,04  $\text{mol L}^{-1}$  para o tampão fosfato, pH 6,07, foi mantida para os demais estudos.



**Figura 14:** Voltamogramas de Onda Quadrada para  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ em diferentes concentrações de tampão fosfato: (a)  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,07), (b)  $0,08 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,04), (c)  $0,12 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,05). Parâmetros instrumentais:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

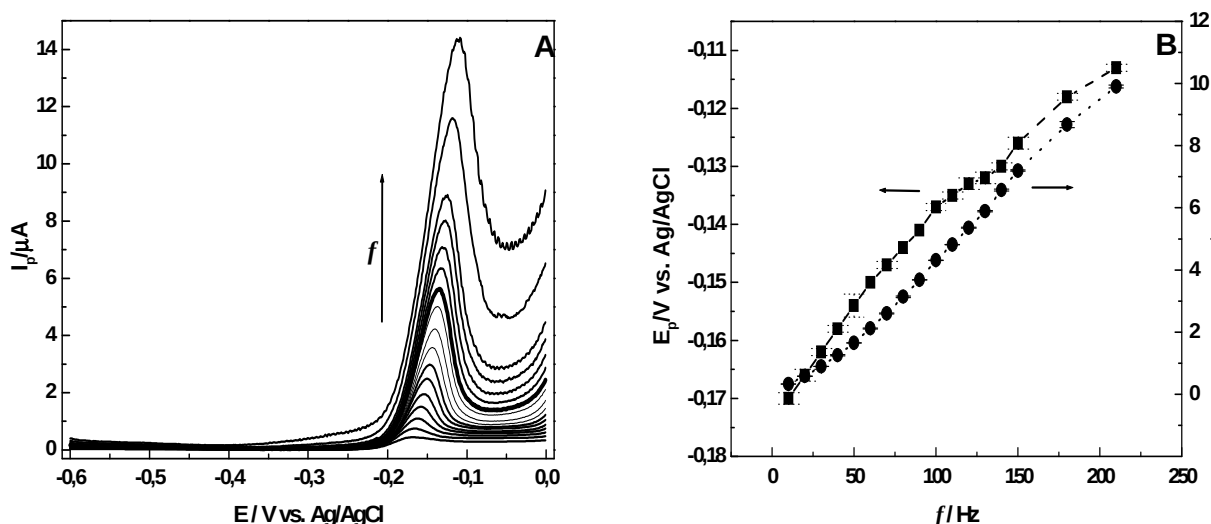
### 3.1.4. Influência dos Parâmetros Instrumentais

#### 3.1.4.1. Frequência de Aplicação de Pulsos de Potencial

A frequência de aplicação de pulsos da onda quadrada é um dos parâmetros mais importantes da VOQ, pois é ela que determina a intensidade dos sinais e, conseqüentemente a sensibilidade do método (PEDROSA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*; 2003; SOUZA *et al.*; 2004).

A dependência da  $I_p$  em função da variação da frequência de aplicação dos pulsos ( $f$ ) foi avaliada para uma solução  $5,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ, em tampão fosfato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,03, mantendo-se constante os parâmetros de incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ) igual a 1 mV e amplitude de aplicação dos pulsos de potencial ( $E_{sw}$ ) de 250 mV. A **Figura 15** apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos para a oxidação de TBHQ, em função da variação da frequência de 10 a 210 Hz, assim como, a influência deste parâmetro na  $I_p$  e  $E_p$ .

Como é possível verificar, com o aumento do valor das frequências há um aumento na intensidade da corrente de pico, assim como o deslocamento dos potenciais de pico para valores menos negativos. Para fins analíticos, otimizou-se a frequência de 110 Hz, pois valores de frequência mais altos prejudicaram a definição dos voltamogramas de TBHQ, problemas os quais poderiam afetar a determinação deste antioxidante na amostra.

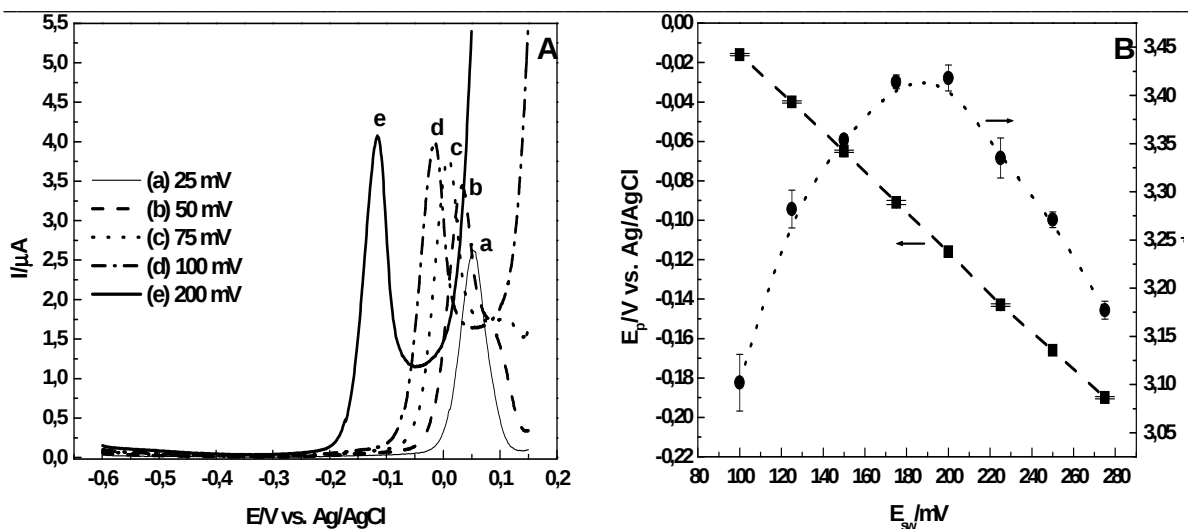


**Figura 15:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para influência da variação da frequência ( $f$ ) (10 - 210 Hz) na oxidação de TBHQ ( $5,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão fosfato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,03,  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$  e  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$ . O voltamograma em negrito corresponde ao obtido sob a frequência otimizada de 110 Hz. (B) Influência da  $f$  na resposta do  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ.

### 3.1.4.2. Amplitude de Aplicação dos Pulsos de Potencial

Outro parâmetro também avaliado na oxidação de TBHQ foi a influência da amplitude de aplicação dos pulsos de potencial ( $E_{sw}$ ). Como observado (**Figura 16 A**), para valores de  $E_{sw}$  menores que 100 mV o pico de oxidação de TBHQ apresenta-se muito próximo a oxidação do eletrodo de mercúrio, portanto, para fins analíticos este parâmetro somente passou a ser considerado a partir deste valor.

A **Figura 16 B** apresenta o efeito da variação de  $E_{sw}$  na corrente de pico para de TBHQ. Este parâmetro foi estudado mantendo a frequência em 110 Hz e o incremento de varredura igual a 1 mV. Como é possível constatar, a  $I_p$  aumenta continuamente com valores de amplitude de 100 a 200 mV, no entanto, a partir desse valor há um contínuo decréscimo da  $I_p$ . Em função disto, no desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ empregando a técnica de VOQ, a amplitude de 200 mV foi selecionada para prosseguir com os demais estudos, uma vez que sob estas condições o pico do antioxidante exibiu-se afastado da oxidação do eletrodo de trabalho, com satisfatória definição, além de maior corrente de pico, **Figura 16 A**.



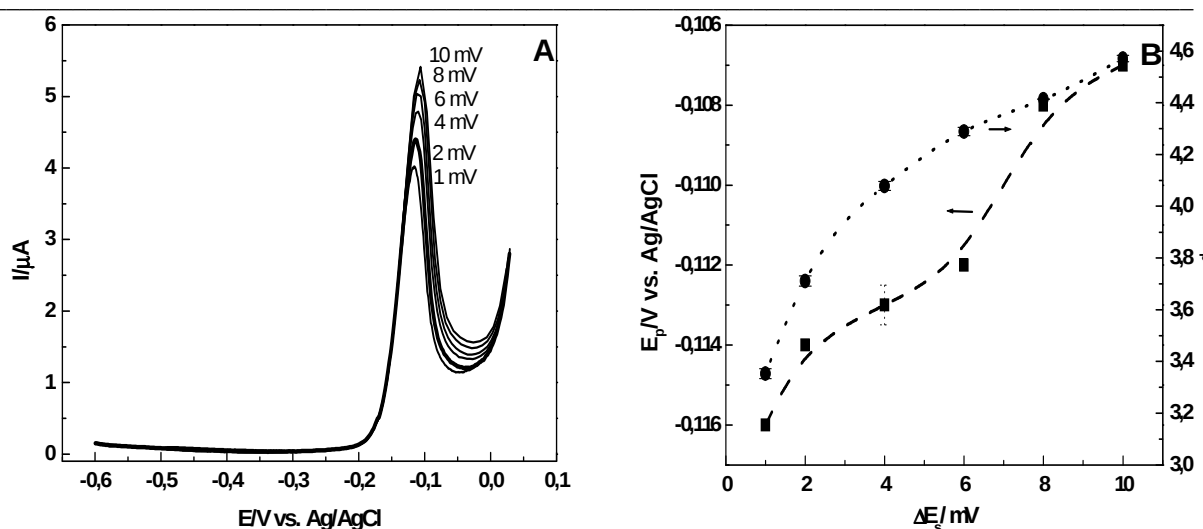
**Figura 16:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para uma solução  $5,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ, em tampão fosfato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,03, para algumas das amplitudes estudadas.  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$  e  $f = 110 \text{ Hz}$ . O voltamograma em negrito corresponde ao obtido sob a amplitude de pulso otimizada de 200 mV (B) Influência da variação da amplitude ( $E_{sw}$ ) na resposta de  $E_p$  e  $I_p$ .

### 3.1.4.3. Incremento de Varredura de Potencial

Outro parâmetro também muito importante na VOQ é o incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ), a velocidade efetiva da VOQ é o resultado do produto da frequência pelo incremento de varredura, assim, um  $\Delta E_s$  maior, pode aumentar o sinal obtido e, portanto melhorar a sensibilidade do método proposto. No entanto, é importante ressaltar que valores maiores de incrementos podem levar ao alargamento dos picos e, assim comprometer a resolução dos voltamogramas (PEDROSA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2004). Conseqüentemente, este parâmetro também deve ser analisado no desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica.

Utilizando os parâmetros otimizados de frequência e amplitude da onda quadrada, 110 Hz e 200 mV, respectivamente, investigou-se a influência do incremento de varredura de potencial,  $\Delta E_s$ , para a oxidação de TBHQ (**Figura 17**).

De acordo com os dados obtidos, a corrente de pico aumenta continuamente com o aumento de  $\Delta E_s$ . Entretanto, uma melhor definição para o pico é obtida até 2 mV, a partir deste valor observou-se um alargamento do pico e o deslocamento do  $E_p$  para valores mais positivos, portanto, este incremento de varredura foi adotado para os demais estudos.



**Figura 17:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para uma solução  $5,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ, em tampão fosfato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,03, sob os incrementos de potencial estudados,  $f = 110 \text{ Hz}$  e  $E_{sw} = 200 \text{ mV}$ . O voltamograma em negrito corresponde ao obtido sob o incremento de potencial otimizado - 2 mV. (B) Influência do incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ) na resposta de  $E_p$  e  $I_p$ .

### 3.1.5. Resumo dos parâmetros selecionados

Os parâmetros otimizados, bem como os demais utilizados no desenvolvimento desta metodologia são apresentados a seguir (Tabela 1):

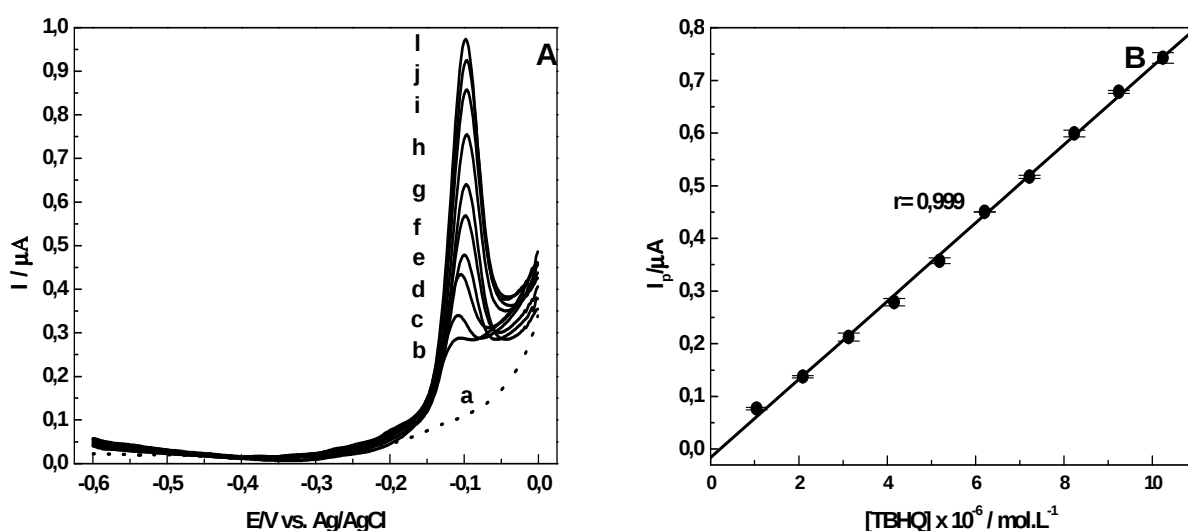
**Tabela 1:** Resumo dos parâmetros selecionados para determinação de TBHQ empregando a metodologia eletroanalítica proposta utilizando eletrodo de gota de mercúrio sob a técnica de VOQ.

| Parâmetros                 | Intervalo Avaliado                     | Selecionado              |
|----------------------------|----------------------------------------|--------------------------|
| Tipo de eletrólito         | Tampão BR e Fosfato                    | Tampão Fosfato           |
| Concentração do eletrólito | (0,04; 0,08; 0,12) $\text{mol L}^{-1}$ | 0,04 $\text{mol L}^{-1}$ |
| pH                         | 2,0 - 10,0                             | 6,00                     |
| Frequência do pulso        | 10 - 210 Hz                            | 110 Hz                   |
| Amplitude do pulso         | 25 - 275 mV                            | 200 mV                   |
| Incremento de varredura    | 1 - 10 mV                              | 2 mV                     |
| Tamanho da gota de Hg      | -                                      | 0,52 $\text{mm}^2$       |
| Velocidade de agitação     | -                                      | 1.500 rpm                |

### 3.1.6. Curvas Analíticas para TBHQ

Utilizando as condições de trabalho previamente otimizadas, foram realizados estudos em diferentes concentrações de TBHQ, monitorando-se o pico de oxidação eletroquímica deste composto. Na **Figura 18 (A)** são apresentados os voltamogramas obtidos em diferentes concentrações de TBHQ, no intervalo de  $1,05 \times 10^{-6}$  a  $1,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . A partir dos valores de  $I_p$  obtidos destes voltamogramas, foram construídas as curvas analíticas, as quais foram obtidas em triplicata, onde cada ponto representa a média de três medidas experimentais.

Uma das curvas analíticas construídas é apresentada na **Figura 18 B**. As curvas analíticas obtidas apresentaram linearidade em todo intervalo de concentração estudado, com equação de regressão linear de  $I_p (\mu\text{A}) = -1,92 \times 10^{-2} + 6,91 \times 10^{-2} \times [\text{TBHQ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$ , e coeficiente de correlação médio de 0,999.



**Figura 18:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada para diferentes concentrações molares do padrão de TBHQ, onde: (b)  $1,05 \times 10^{-6}$ ; (c)  $2,09 \times 10^{-6}$ ; (d)  $3,13 \times 10^{-6}$ ; (e)  $4,16 \times 10^{-6}$ ; (f)  $5,18 \times 10^{-6}$ ; (g)  $6,21 \times 10^{-6}$ ; (h)  $7,22 \times 10^{-6}$  (i)  $8,23 \times 10^{-6}$  (j)  $9,24 \times 10^{-6}$  (l)  $1,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e (a) tampão fosfato pH 6,03,  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ . Parâmetros:  $f = 110 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 200 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função do aumento da concentração de TBHQ.

Os dados reunidos na **Tabela 2** são resultado da média de cada parâmetro obtido para a triplicata das curvas analíticas de TBHQ. A partir destes parâmetros foi possível calcular o

limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) da metodologia proposta, empregando as seguintes relações matemáticas, respectivamente:  $(3 \times DP/b)$  e  $(10 \times DP/b)$  (LOPES *et al.*, 2007; MELO *et al.*, 2009; PEDROSA *et al.*, 2003; RIBANI *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2006 a; SOUZA *et al.*, 2007), onde, **DP** representa o desvio padrão da média aritmética de dez medidas do branco obtidas no mesmo potencial de oxidação da TBHQ, e **b**, a inclinação da média das curvas analíticas.

O LD obtido foi de  $1,70 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  e o LQ foi  $5,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  (**Tabela 2**), indicando detectibilidade aceitável quando comparado com o reportado na literatura (CORTÉZ *et al.*, 1993 e 1994), o que viabiliza a utilização da técnica no desenvolvimento de um método eletroanalítico para quantificação de TBHQ em amostras de biodiesel.

**Tabela 2:** Parâmetros quantitativos obtidos para o método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VOQ para análise de TBHQ utilizando eletrodo de gota de mercúrio.

| Parâmetros                                                     | Curva Analítica        |
|----------------------------------------------------------------|------------------------|
| Intervalo de concentração ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )           | 1,05 - 10,24           |
| Intercepto ( $\mu\text{A}$ ) <sup>a</sup>                      | $-1,92 \times 10^{-2}$ |
| Inclinação <sup>a</sup> ( $\mu\text{A.L.}\mu\text{mol}^{-1}$ ) | $6,91 \times 10^{-2}$  |
| Coeficiente de correlação (r) <sup>a</sup>                     | 0,999                  |
| LD ( $\text{mol L}^{-1}$ )                                     | $1,70 \times 10^{-7}$  |
| LQ ( $\text{mol L}^{-1}$ )                                     | $5,67 \times 10^{-7}$  |

<sup>a</sup> Média de três curvas analíticas; LD = Limite de Detecção; LQ = Limite de Quantificação.

### 3.1.7. Aplicação da metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel de soja.

Atualmente, a maior parte do biodiesel é produzida a partir do óleo de soja, isso em virtude do seu baixo custo e pela existência de uma infraestrutura de produção bem estabelecida (QUINTELLA *et al.*, 2009). Diante dessas informações, o biodiesel adotado em nossos estudos foi o produzido a partir deste grão.

Após selecionada a amostra para os estudos de recuperação, o próximo passo foi selecionar qual seria a concentração de antioxidante adicionada a este biodiesel. Isso, porque ainda não existe na literatura nenhuma norma que estabeleça o melhor antioxidante ou a concentração ótima para preservação de uma determinada amostra de biodiesel. Diante desse cenário, o trabalho de Domingos e colaboradores (2007) foi adotado como referência. Este estudo foi selecionado por se tratar de uma pesquisa realizada utilizando biodiesel de soja produzido por uma indústria brasileira, ou seja, uma amostra significativa no que diz respeito à realidade do biodiesel produzido no país.

Neste trabalho, Domingos e autores (2007) encontraram que para que o biodiesel de soja alcançasse o parâmetro de 6 horas frente ao ensaio de Rancimat, ou seja, estivesse de acordo com a resolução nº 7 da ANP (2008) no que diz respeito a estabilidade oxidativa, seria necessário aditivá-lo com antioxidantes. Os antioxidantes que proporcionaram este efeito foram BHT e TBHQ, em concentrações a partir de 8000 ppm, no entanto, os autores apontam que TBHQ apresentou maior potencial estabilizador que BHT quando utilizado em concentrações maiores.

Diante de todas essas informações, a metodologia eletroanalítica proposta foi então aplicada para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel de soja, inicialmente utilizando o nível de aditivação de 8000 ppm.

Selecionado o tipo de biodiesel e a concentração de antioxidante que seriam utilizados nos ensaios de recuperação de TBHQ, o próximo passo foi estabelecer o tratamento que seria utilizado no preparo da mesma, para realização dos experimentos eletroanalíticos.

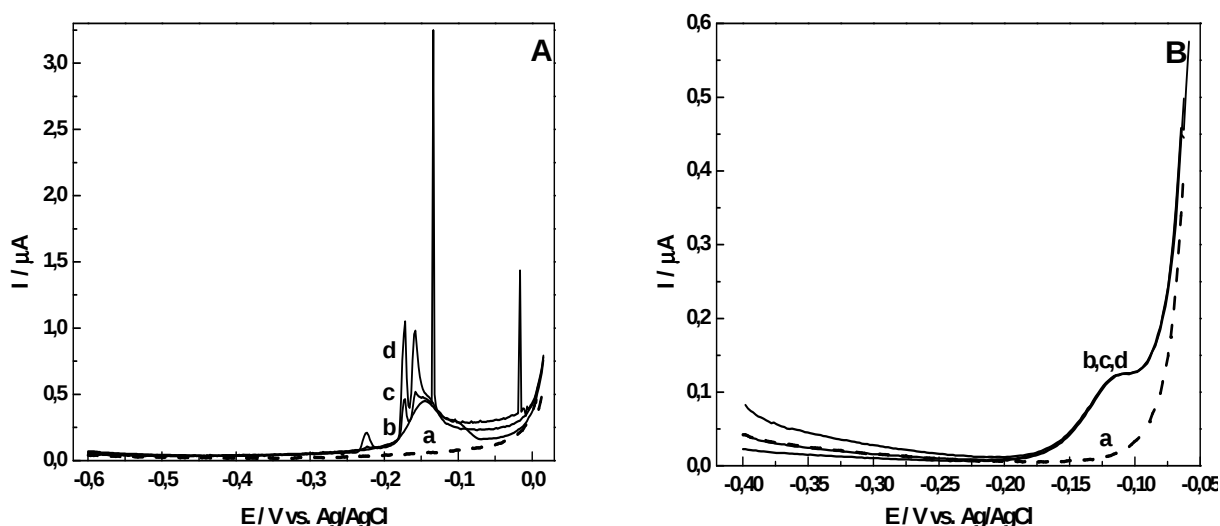
Uma das características que normalmente está associada aos métodos eletranalíticos é o fato de que normalmente as metodologias propostas empregando estas técnicas fazem uso de tratamentos simplificados da amostra ou até mesmo propõem a análise direta da mesma, tornando as análises muito simplificadas, de baixo custo associada a grande sensibilidade característica a estas técnicas (SOUZA & MACHADO, 2006 b).

Com objetivo de desenvolver um método para determinação direta deste antioxidante na matriz biodiesel, essa amostra sem e com aditivação de TBHQ foi apenas diluída em metanol (tópico 2.5.5) e submetida à análise, processo similar ao utilizado por Tagliabue e autores

(2004). A **Figura 19 A** apresenta a triplicata de varreduras efetuadas para TBHQ adicionado à amostra de biodiesel de soja, empregando a metodologia desenvolvida.

Como é possível verificar, a resposta obtida para o pico de TBHQ apresentou grande variação na corrente e formato do pico, isso provavelmente se deve a baixa solubilidade da amostra no eletrólito suporte. Essa grande instabilidade do sinal analítico poderia, portanto, comprometer os resultados das análises.

Desta forma, com objetivo de contornar esse problema foi então avaliado qual seria o efeito da adição de um surfactante no meio, já que o mesmo poderia promover uma melhora na solubilidade da amostra no eletrólito suporte. O surfactante adotado para este estudo foi Triton X -100, uma vez que o mesmo, dentre os tensoativos inicialmente estudados foi o que menos comprometeu a resolução do pico de oxidação de TBHQ, conforme apresentado no tópico 3.1.1.



**Figura 19:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para: (a) eletrólito suporte tampão fosfato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,06 ; (b - d) triplicata de  $30 \text{ } \mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja (3% v/v biodiesel/ metanol) aditivada com TBHQ (8.167 ppm) (preparo descrito na seção 2.5.5.), na ausência de TX-100; (B) Condições idênticas a A mas na presença de  $1,28 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100. Parâmetros instrumentais:  $f = 110 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 200 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .

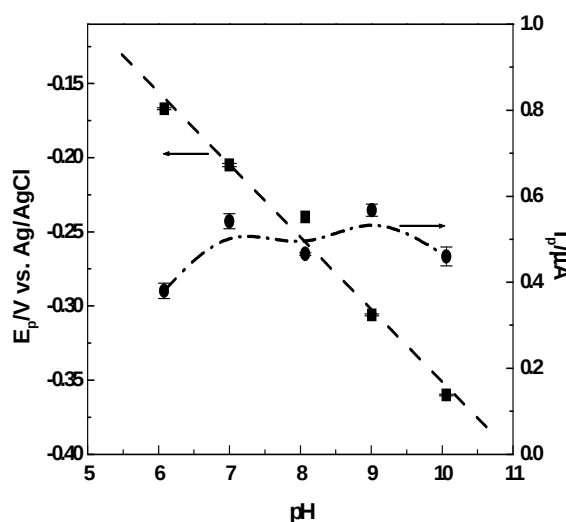
Como pode ser constado pela observação da **Figura 19 B**, o uso do TX-100 na concentração de  $1,28 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  promoveu uma maior estabilidade na resposta voltamétrica de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja. Portanto, este surfactante mostrou-se promissor para a determinação direta deste composto na amostra, assim, uma nova

metodologia para a quantificação deste antioxidante teve que ser desenvolvida, de forma a inserir o uso do tensoativo na mesma, este novo estudo é descrito no tópico apresentado a seguir.

### 3.1.8. Efeito do pH do eletrólito suporte para oxidação de TBHQ em presença do surfactante Triton X-100.

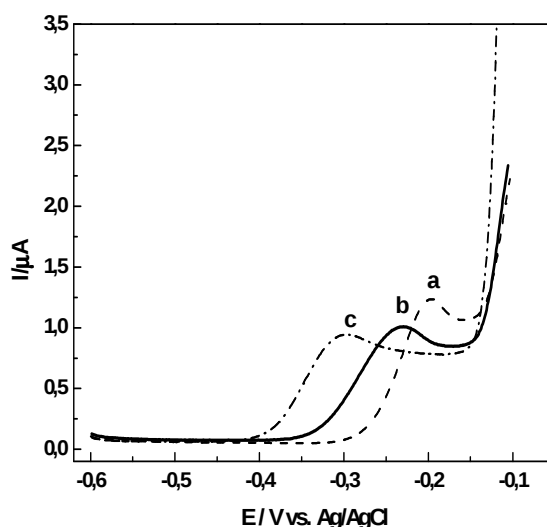
A oxidação de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi então novamente estudada empregando a técnica de VOQ, no intervalo de pH de 2,10 a 10,06, em tampão Britton Robinson ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) mas na presença do surfactante neutro Triton X -100 (TX-100) ( $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). Entre pH 2,10 a 5,08, o surfactante TX-100 exibiu uma resposta interferente a TBHQ, sobrepondo-se ao pico do antioxidante. Desta forma, estes valores de pH foram descartados no desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

Somente a partir do pH 6,08, foi possível estudar o pico de TBHQ sem a interferência da resposta de TX-100. Conforme é possível verificar na **Figura 20**, a  $I_p$  de TBHQ na presença de TX-100 não foi significativamente influenciada pelo pH do eletrólito suporte, já o  $E_p$  apresentou um comportamento similar ao estudo de pH na ausência deste surfactante, sofrendo deslocamento para valores mais negativos com aumento do pH.



**Figura 20:** Influência do pH do eletrólito suporte (tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) para  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) empregando a técnica de VOQ, em presença de TX-100 ( $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). Parâmetros:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

Para propósitos analíticos, o pH adotado para o eletrólito suporte foi 8,0, este valor foi selecionado pois a  $I_p$  sob estas condições apresentou-se próxima aos valores máximos obtidos, em pH 7,0 e 9,0, respectivamente, mas com a vantagem do  $E_p$  de TBHQ apresentar-se afastado da oxidação do eletrodo de mercúrio do que em pH 7,0 e com maior definição do que o pico obtido em pH 9,0 (**Figura 21**).



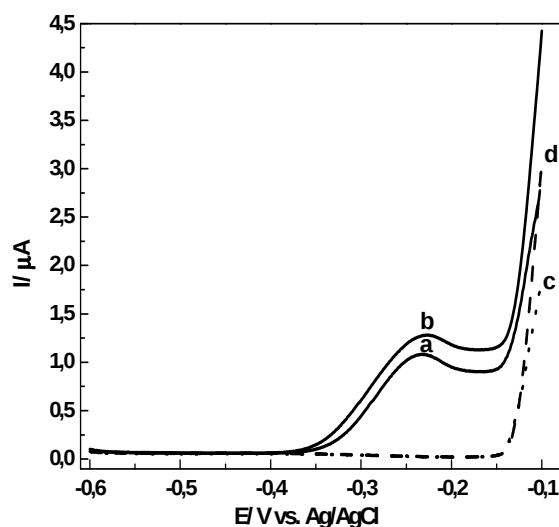
**Figura 21:** Voltamogramas de onda quadrada para oxidação de TBHQ ( $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em presença de TX-100 ( $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob diferentes pHs do eletrólito suporte (tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ): (a) 7,00, (b) 8,07, (c) 9,01. Parâmetros:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

### 3.1.9. Influência do tipo e concentração do eletrólito suporte para oxidação de TBHQ em presença de TX-100

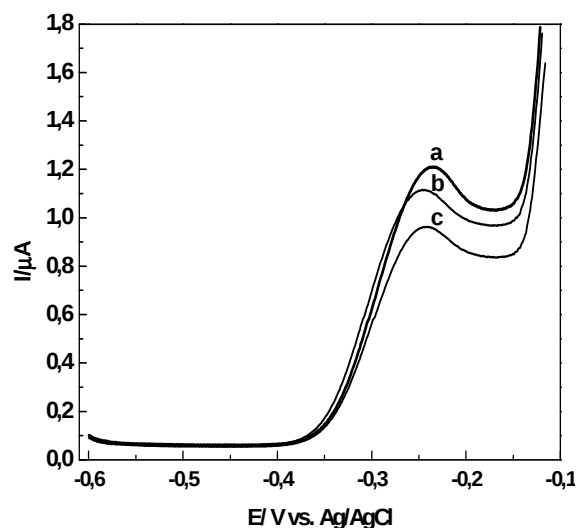
Otimizado o pH do eletrólito suporte, a resposta obtida para TBHQ em tampão BR foi então comparada com a obtida em tampão fosfato, ambos os estudos na presença de TX-100 ( $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). Conforme observado na **Figura 22**, as respostas encontradas para TBHQ nos dois tampões foram similares, diante disso, o tampão BR foi mantido para os demais estudos.

Em seguida, a oxidação de TBHQ em presença de TX-100 ( $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi investigada em diferentes concentrações do tampão BR: 0,04, 0,08 e  $0,12 \text{ mol L}^{-1}$  (**Figura 23**). Embora o comportamento obtido para TBHQ nas diferentes concentrações de tampão BR

tenha sido similar, a  $I_p$  apresentou-se ligeiramente maior na concentração de  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ , portanto, esta concentração foi mantida para o desenvolvimento da metodologia.



**Figura 22:** Voltamogramas de Onda Quadrada para  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ em diferentes eletrólitos: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 8,07), (b) tampão fosfato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 8,06), ambos os estudos realizados na presença de TX-100 ( $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). Os brancos dos tampões BR + T -100 ( $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) e tampão fosfato + T -100 ( $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) correspondem a: c e d, respectivamente. Parâmetros:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .



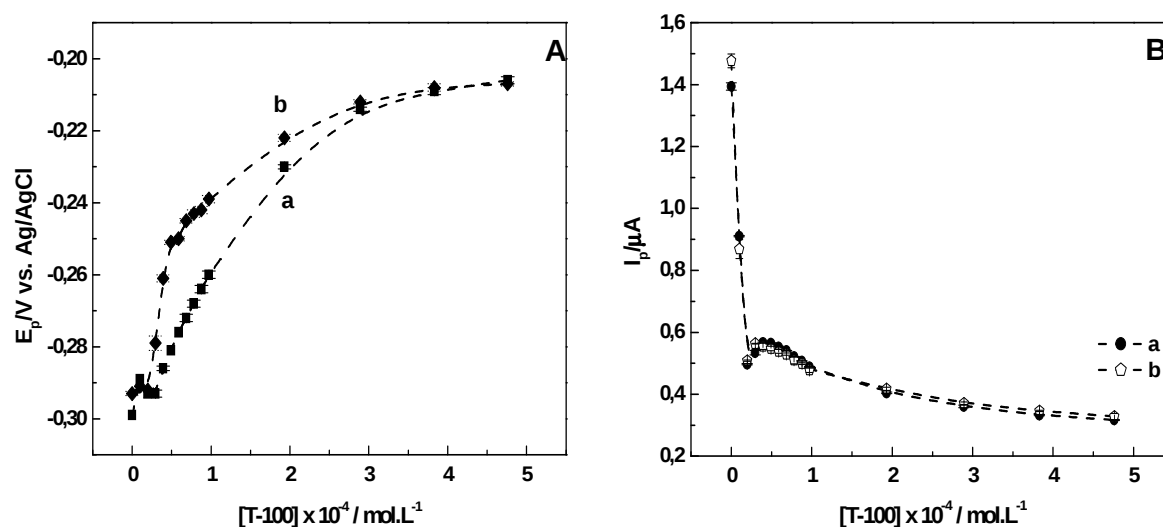
**Figura 23:** Voltamogramas de Onda Quadrada para  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ (em presença de  $1,48 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100) sob diferentes concentrações de tampão BR: (a)  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 8,07), (b)  $0,08 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 8,09), (c)  $0,12 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 8,07). Parâmetros:  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

### 3.1.10. Influência da concentração de TX-100 para oxidação de TBHQ

Como descrito anteriormente (Tópico 3.1.7) o uso do Triton X-100 foi de extrema importância para auxiliar na estabilização do pico de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja. Diante dessa informação, a influência da concentração de TX-100 na oxidação de TBHQ foi então investigada na ausência e na presença da amostra de biodiesel.

O efeito da concentração de TX-100 no potencial de pico de TBHQ é apresentado na **Figura 24 A**. Sob ambas as condições, ausência e presença da amostra, o  $E_p$  apresentou deslocamento para valores menos negativos com aumento da concentração do surfactante neutro, até aproximadamente  $1,93 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , a partir deste valor, o deslocamento tornou-se mais discreto para ambas as condições investigadas.

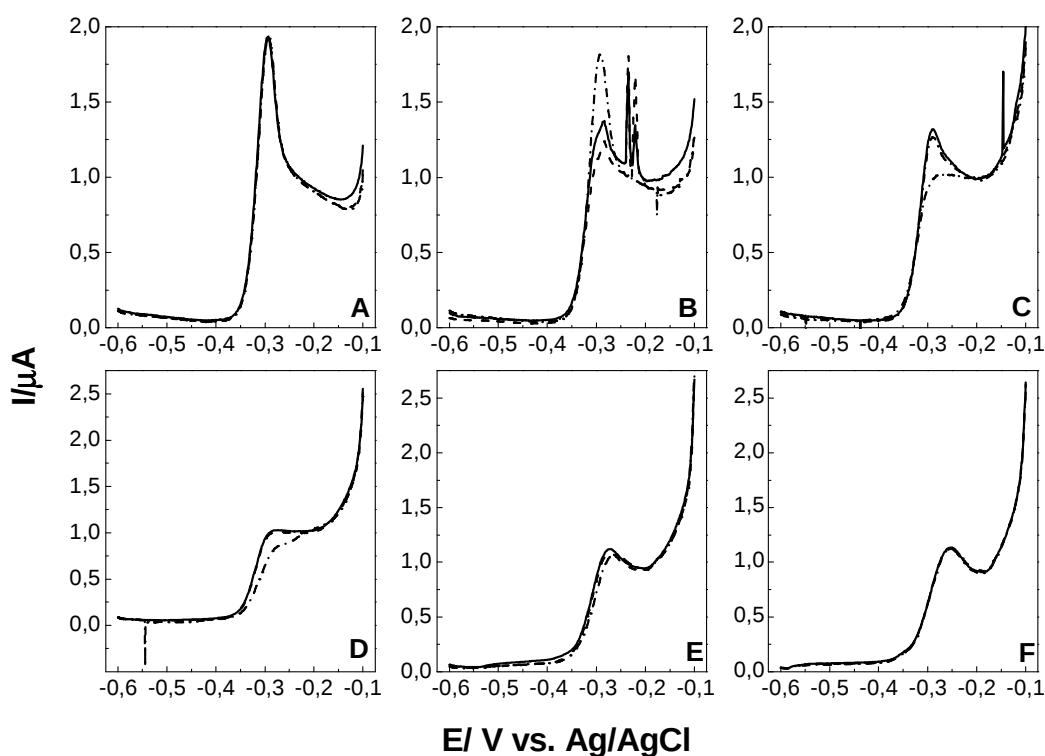
No que diz respeito à corrente de pico do antioxidante, houve uma redução drástica do valor de  $I_p$  com a adição de TX-100 até aproximadamente  $1,98 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , a partir desta concentração houve um ligeiro aumento de  $I_p$  até  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100 e, então, a  $I_p$  não foi mais significativamente influenciada pela concentração de TX-100 (**Figura 24 B**).



**Figura 24:** Influência do aumento da concentração de TX-100 no  $E_p$  (A) e na  $I_p$  (B) de  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 8,07, onde: (a) na ausência da amostra e (b) na presença de 30  $\mu\text{L}$  de uma solução amostra de biodiesel de soja preparada em metanol (3% v/v).

No entanto, como já mencionado, mesmo o surfactante TX-100 tendo reduzido a  $I_p$  de TBHQ e deslocando seu  $E_p$  em direção ao potencial de oxidação da superfície eletródica, o seu uso é favorável na presença da amostra, conforme apresentado na **Figura 25**.

Como é possível verificar (**Figura 25**), o aumento da concentração do surfactante TX-100 ( $0 - 1,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) promove inicialmente a redução na quantidade de ruídos das medidas, ao mesmo passo que a partir de  $2,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100, a triplicata das medidas exibiram uma maior repetibilidade, alcançando melhores resultados em  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Portanto,  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  foi a concentração otimizada de TX-100 para prosseguir com os demais estudos, a qual apresenta-se abaixo da CMC deste surfactante ( $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) (<http://www.roche-applied-science.com/pack-insert/1332481a.pdf>, acesso em dezembro de 2008).



**Figura 25:** Triplicatas dos voltamogramas de onda quadrada obtidos para diferentes condições experimentais: (A) TBHQ  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  na ausência de amostra, (B) TBHQ  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  na presença de  $30 \mu\text{L}$  de solução 3% de biodiesel (biodiesel/metanol v/v), (C) mesma condição de B +  $9,93 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100, (D) mesma condição de B +  $1,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100, (E) mesma condição de B +  $2,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100, (F) mesma condição de B +  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100, todos em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 8,07,  $f = 90 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ .

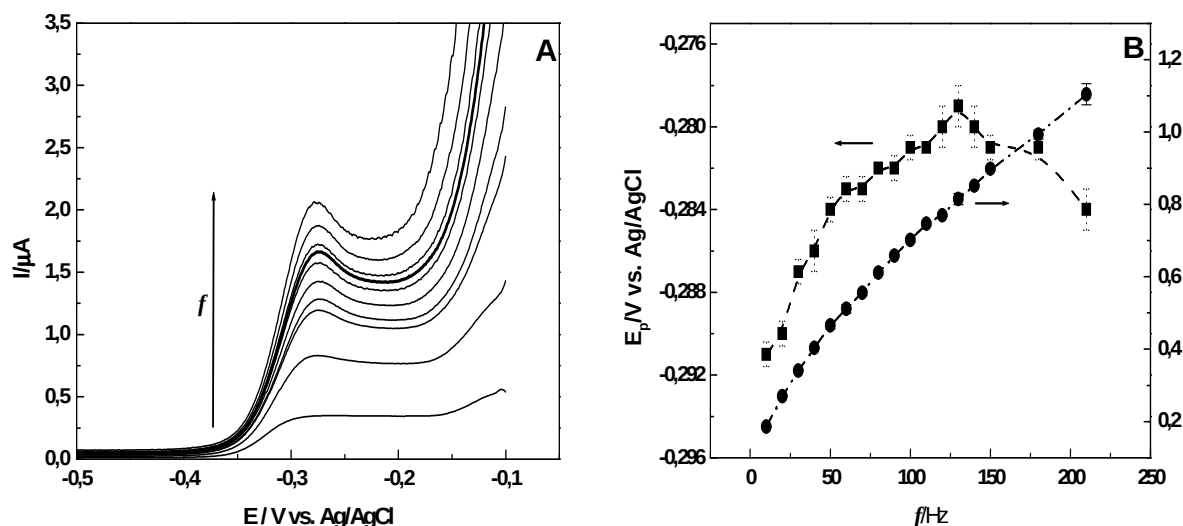
### 3.1.11. Influência dos Parâmetros Instrumentais para oxidação de TBHQ em presença de TX-100

Novamente, os parâmetros instrumentais da técnica de Voltametria de Onda Quadrada foram investigados de forma a otimizar a resposta de TBHQ, e assim, proporcionar melhores limites de detecção e quantificação para a metodologia em desenvolvimento.

### 3.1.11.1. Frequência de Aplicação de Pulsos de Potencial

A frequência de aplicação ( $f$ ) de pulsos foi avaliada de 10 - 210 Hz para uma solução de  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ, em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 8,07 na presença de  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100 (**Figura 26**). Os demais parâmetros instrumentais foram mantidos constantes: 1 mV para incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ) e 250 mV para amplitude de aplicação do pulso ( $E_{sw}$ ).

Os voltamogramas obtidos para este estudo são apresentados na **Figura 26 A**. Como observado, o aumento da frequência proporcionou o aumento contínuo da  $I_p$ , bem como o deslocamento de  $E_p$  para potenciais menos negativos até 130 Hz, sendo que, para valores mais altos de  $f$  o  $E_p$  voltou a deslocar para potenciais mais negativos.



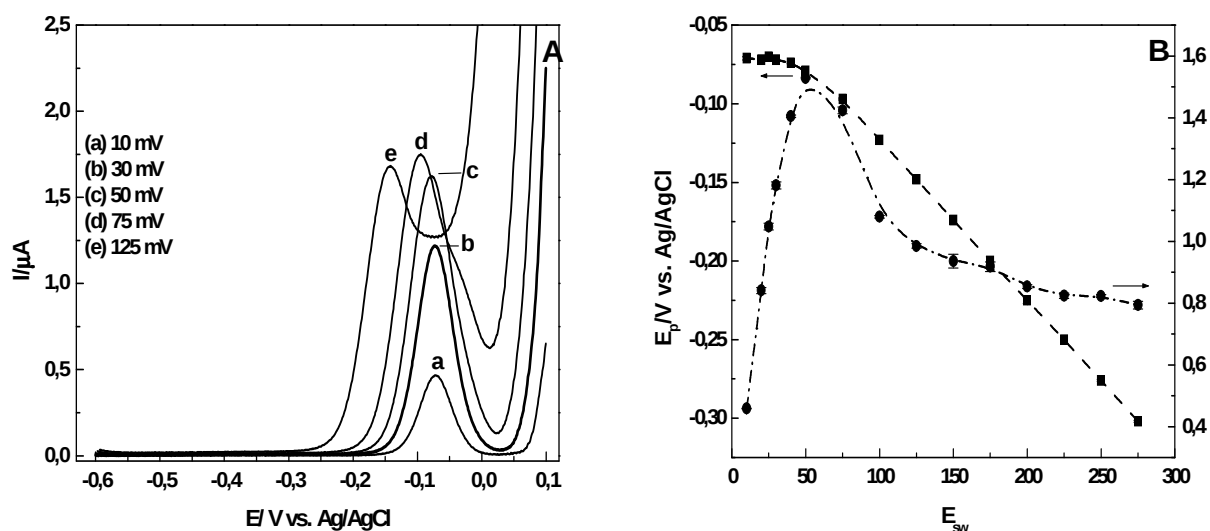
**Figura 26:** Voltamogramas de Onda Quadrada (**A**) para influência da variação da frequência ( $f$ ) (10-210 Hz) na oxidação de TBHQ  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 8,07 na presença de TX-100,  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  ( $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$  e  $E_{sw} = 250 \text{ mV}$ ). O voltamograma em negrito corresponde a  $f = 150 \text{ Hz}$ , valor otimizado no estudo. (**B**) Influência da  $f$  no  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ.

A frequência otimizada para a metodologia em desenvolvimento foi 150 Hz, esse valor foi selecionado por se tratar de uma condição onde a  $I_p$  apresenta um alto valor, ao mesmo passo que a oxidação do eletrodo de Hg encontra-se mais afastada do pico de TBHQ quando comparado a frequências como 180 e 210 Hz (**Figura 26**).

### 3.1.11.2. Amplitude de Aplicação dos Pulsos de Potencial

Na **Figura 27 A** são apresentados alguns dos voltamogramas obtidos para TBHQ na presença TX-100 ( $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) referentes ao estudo de otimização da amplitude da onda quadrada. Este estudo foi procedido mantendo-se constante: a frequência otimizada no estudo anterior (150 Hz) e o incremento de varredura de 1 mV.

Como é possível verificar na **Figura 27 A e B**, a corrente de pico de TBHQ aumenta gradativamente até a amplitude de 50 mV, a partir deste valor a  $I_p$  decresce continuamente. O  $E_p$  também foi afetado pelo aumento de  $E_{sw}$ , sendo deslocado para valores mais negativos, comportamento o qual seria favorável para o desenvolvimento da metodologia, por afastar o pico de TBHQ da oxidação da gota de mercúrio, no entanto, como é apresentado (**Figura 27 A**), a partir de 50 mV de  $E_{sw}$ , a resolução do pico de TBHQ fica comprometida.

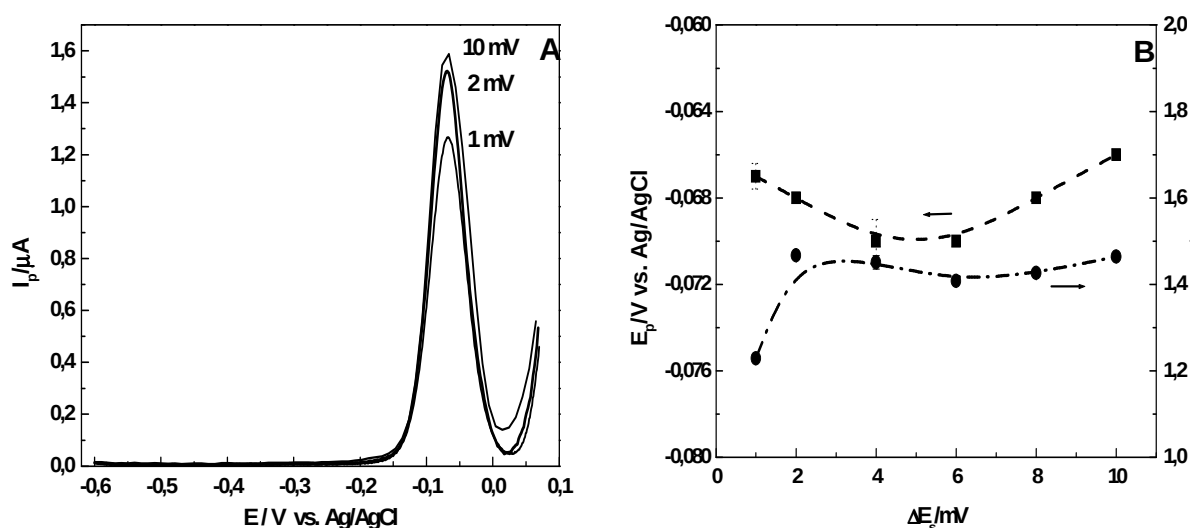


**Figura 27:** Voltamogramas de Onda Quadrada (**A**) para influência da variação da amplitude de onda quadrada ( $E_{sw}$ ) na oxidação de TBHQ  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 8,07 na presença de TX-100  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  ( $f = 150\text{Hz}$ ,  $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ ). O voltamograma em negrito corresponde a  $E_{sw} = 30 \text{ mV}$ , valor otimizado no estudo. (**B**) Influência da  $E_{sw}$  no  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ.

Portanto, para fins analíticos a amplitude otimizada foi 30 mV. Este valor foi selecionado por exibir: um pico simétrico e definido para TBHQ,  $I_p$  próxima ao valor máximo obtido neste estudo e pelo pico apresentar-se afastado da oxidação da superfície eletródica.

### 3.1.11.3. Incremento de Varredura de Potencial

Utilizando os parâmetros otimizados de frequência e amplitude da onda quadrada, 150 Hz e 30 mV, respectivamente, finalmente foi realizada a otimização do incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ) (Figura 28 B).



**Figura 28:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para uma solução  $5,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ, em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 8,07 na presença de TX-100 ( $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), sob alguns dos incrementos de potencial estudados.  $f = 150 \text{ Hz}$  e  $E_{sw} = 30 \text{ mV}$ . (B) Influência do incremento de varredura ( $\Delta E_s$ ) na resposta da  $E_p$  e  $I_p$ .

Como apresentado, **Figura 28 A e B**, a  $I_p$  de TBHQ aumenta com incremento de potencial de 1 para 2 mV, mas para valores maiores de  $\Delta E_s$ , a altura do pico praticamente permanece constante. O  $E_p$  tal como a  $I_p$  não foi expressivamente influenciado pelo aumento do incremento de varredura, desta forma, adotou-se 2 mV como valor otimizado de incremento de varredura.

### 3.1.12. Resumo dos Parâmetros Selecionados

As condições experimentais otimizadas para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel na presença de TX-100 são apresentadas na tabela a seguir (**Tabela 3**).

**Tabela 3:** Resumo dos parâmetros otimizados para análise de TBHQ empregando a técnica de VOQ em presença de TX-100 utilizando eletrodo de gota de mercúrio.

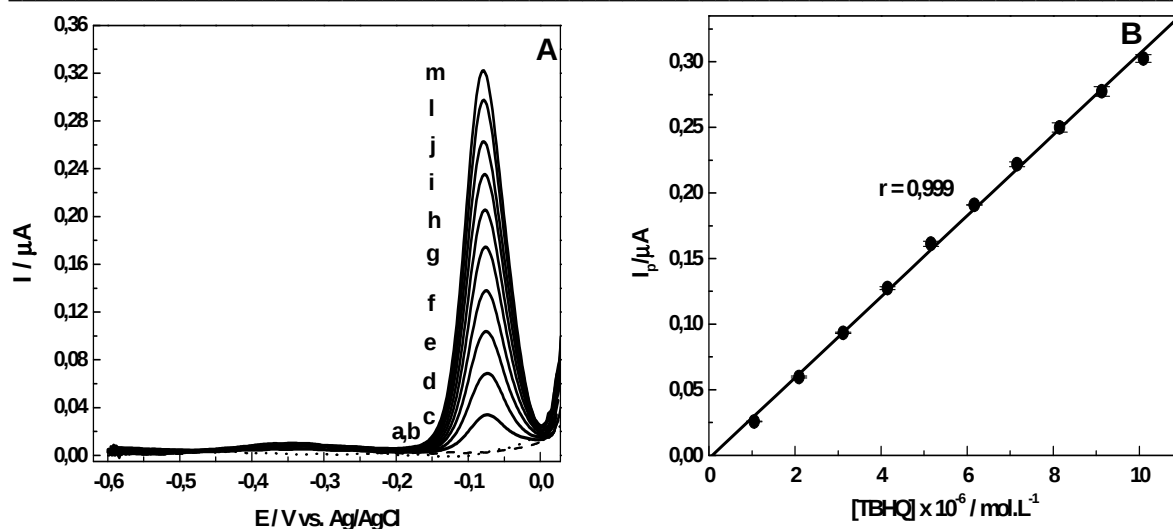
| Parâmetros                 | Intervalo Avaliado                             | Selecionado                                 |
|----------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Tipo de eletrólito         | Tampão BR e Fosfato                            | Tampão Britton-Robinson                     |
| Concentração do eletrólito | (0,04; 0,08; 0,12) mol L <sup>-1</sup>         | 0,04 mol L <sup>-1</sup>                    |
| pH                         | 2,0 - 10,0                                     | 8,00                                        |
| Tipo de surfactante        | BCTA, DSS, TX-100                              | TX-100                                      |
| Concentração de TX-100     | 0 - 4,8 x 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> | 3,94 x 10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> |
| Frequência do pulso        | 10 - 210 Hz                                    | 150 Hz                                      |
| Amplitude do pulso         | 10 - 275 mV                                    | 30 mV                                       |
| Incremento de varredura    | 1 - 10 mV                                      | 2 mV                                        |
| Tamanho da gota de Hg      | -                                              | 0,52 mm <sup>2</sup>                        |
| Velocidade de agitação     | -                                              | 1.500 rpm                                   |

### 3.1.13. Curvas analíticas para TBHQ

Estabelecidas as melhores condições de trabalho para monitorar a oxidação de TBHQ em presença do surfactante TX-100, foram registrados voltamogramas de onda quadrada em diferentes concentrações do antioxidante.

A **Figura 29 A** apresenta os voltamogramas obtidos no intervalo de concentração de TBHQ de 1,05 x 10<sup>-6</sup> a 1,01 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> para uma das três curvas analíticas construídas (**Figura 29 B**).

As curvas analíticas apresentaram linearidade em todo o intervalo de concentração investigado, com equação de regressão linear:  $I_p (\mu A) = 2,74 \times 10^{-3} + 0,03 [TBHQ] (\mu mol L^{-1})$ ,  $r = 0,999$ , cujos parâmetros estão reunidos na **Tabela 4**.



**Figura 29:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada para diferentes concentrações o padrão de TBHQ, onde: (c)  $1,05 \times 10^{-6}$ ; (d)  $2,09 \times 10^{-6}$ ; (e)  $3,12 \times 10^{-6}$ ; (f)  $4,15 \times 10^{-6}$ ; (g)  $5,16 \times 10^{-6}$ ; (h)  $6,17 \times 10^{-6}$ ; (i)  $7,16 \times 10^{-6}$  (j)  $8,15 \times 10^{-6}$  (l)  $9,13 \times 10^{-6}$  (m)  $1,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, (a) tampão BR pH 8,07, 0,04 mol L<sup>-1</sup> e (b)  $3,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de TX-100. Parâmetros:  $f = 150$  Hz,  $E_{sw} = 30$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV. (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração molar de TBHQ.

Assim como realizado anteriormente (Seção 3.1.6), os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados a partir do desvio padrão da média aritmética de dez medidas do branco obtidas no mesmo potencial de oxidação da TBHQ, e a partir da inclinação média das curvas analíticas construídas (em triplicata).

**Tabela 4:** Parâmetros quantitativos obtidos para o método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VOQ para análise de TBHQ em eletrodo de gota de mercúrio na presença do surfactante TX-100.

| Parâmetros                                                     | Curva Analítica       |
|----------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Intervalo de concentração ( $\mu\text{mol. L}^{-1}$ )          | 1,05 - 10,10          |
| Intercepto ( $\mu\text{A}$ ) <sup>a</sup>                      | $2,74 \times 10^{-3}$ |
| Inclinação <sup>a</sup> ( $\mu\text{A.L.}\mu\text{mol}^{-1}$ ) | $3,00 \times 10^{-2}$ |
| Coeficiente de correlação ( $r$ ) <sup>a</sup>                 | 0,999                 |
| LD ( $\text{mol L}^{-1}$ )                                     | $3,43 \times 10^{-8}$ |
| LQ ( $\text{mol L}^{-1}$ )                                     | $1,14 \times 10^{-7}$ |

<sup>a</sup> Média de três curvas analíticas; LD = Limite de Detecção; LQ = Limite de Quantificação.

Os LD e LQ obtidos foram respectivamente,  $3,43 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,14 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  (Tabela 4), como pode ser constatado, os limites estabelecidos foram melhores que os calculados anteriormente para metodologia de TBHQ na ausência do surfactante Triton X-100, e melhores que os obtidos por Cortés (1994), respectivamente  $6,20 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  e  $2,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . Esses resultados indicam que a metodologia proposta apresenta detectibilidade adequada para os propósitos deste trabalho, portanto, pode ser empregada para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel.

#### **3.1.14. Aplicação da metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel na presença de TX-100.**

A metodologia desenvolvida utilizando TX-100 foi então aplicada para análise de TBHQ em amostras de biodiesel de soja.

Inicialmente, a amostra de biodiesel de soja foi fortificada com 8.000 ppm de TBHQ (conforme procedimento descrito na seção 2.5.3), como já mencionado anteriormente, de acordo com os autores Domingos e colaboradores (2007) a partir desta concentração de antioxidante, a amostra de biodiesel de soja passa a exibir valores aceitáveis frente ao teste de Rancimat em concordância, portanto, com a resolução N° 7 da ANP (ANP, 2008).

Após aditivação do biodiesel de soja com uma concentração conhecida do antioxidante TBHQ, a amostra foi diluída em metanol e uma alíquota (30  $\mu\text{L}$ ) foi então adicionada a célula eletroquímica para subsequente análise (procedimento descrito na seção 2.5.5).

Embora esses experimentos tenham sido efetuados sob as condições otimizadas, as recuperações obtidas foram em torno de  $93,1\% \pm 1,3$  ( $n = 3$ ). Diante da concentração do analito presente na amostra, esses valores podem ser considerados ligeiramente abaixo dos valores aceitáveis para recuperação de um método analítico.

Com o objetivo de solucionar este problema, foi então inserida no eletrólito suporte uma alíquota de metanol, no intuito de melhorar a solubilidade da amostra no meio e assim permitir melhores recuperações do analito na presença da matriz. A proporção adotada foi 8 mL de tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 8,07 : 2 mL de metanol.

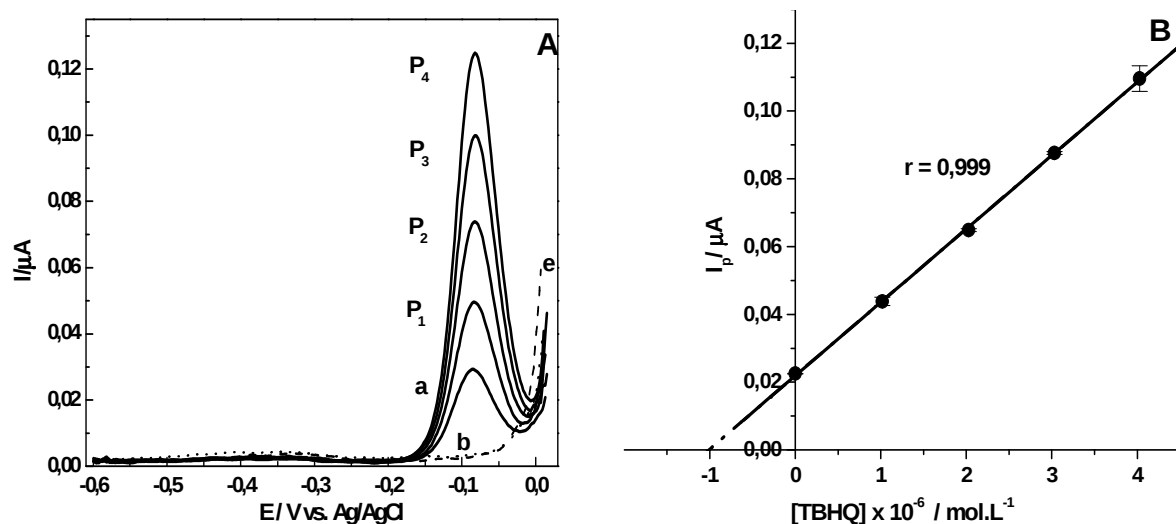
Utilizando a proporção descrita acima foi possível obter valores aceitáveis de recuperações para TBHQ na presença da amostra de biodiesel de soja, portanto, esta composição foi otimizada como eletrólito suporte.

Com objetivo de avaliar a eficiência da metodologia eletroanalítica proposta, também foram preparadas para posterior análise, amostras com níveis de concentração abaixo e acima de 8.000 ppm de TBHQ, respectivamente, 4.000 ppm e 16.000 ppm, sendo que todos os níveis de concentração foram preparados e analisados em triplicata.

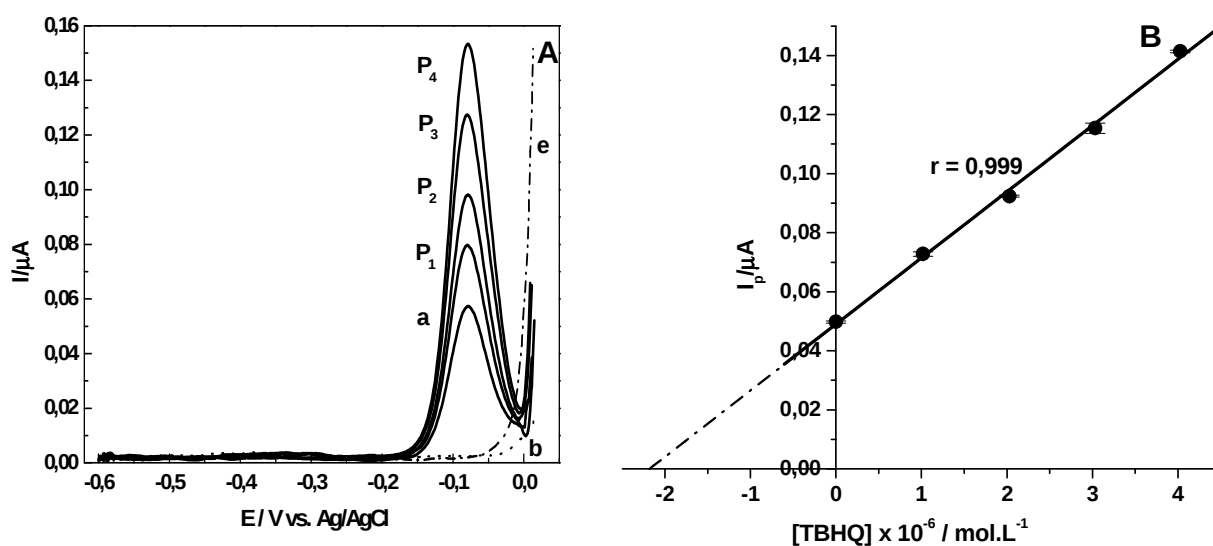
Para avaliar a presença de interferentes, inicialmente foram registrados voltamogramas referentes ao branco da amostra (biodiesel de soja sem aditivação) (**Figuras 30, 31, 32**, voltamogramas b), como é observado, a matriz não exibe picos interferentes ao analito.

As **Figuras 30, 31 e 32** ilustram algumas das análises realizadas para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel, nos diferentes níveis de aditivação estudados. Em todas essas figuras, os voltamogramas nomeados pela letra **a** correspondem a adição de 30 µL da solução da amostra de biodiesel (preparada como descrito na seção 2.5.5.) na célula contendo o eletrólito suporte (8 mL de tampão BR pH 8,00 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) + 2 mL de metanol) e  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100.

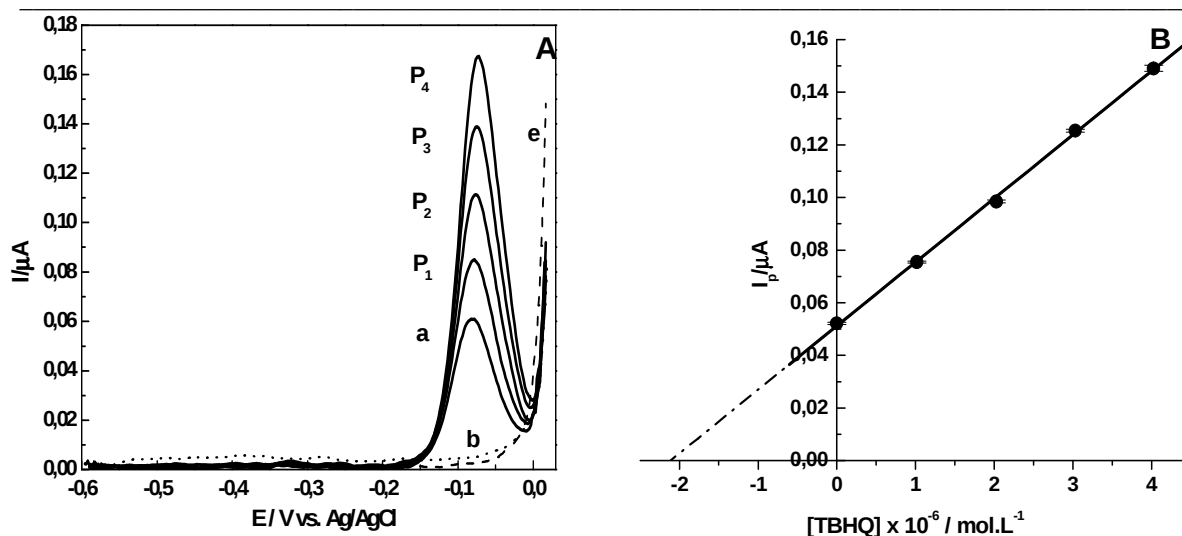
Como é possível verificar, o pico de TBHQ presente na amostra de biodiesel de soja (aditivada), pode ser observado sem o comprometimento de possíveis interferentes da matriz. Para determinar a concentração de TBHQ na amostra, foi utilizado o método de adição de padrão, os voltamogramas (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>) correspondem a estas adições.



**Figura 30:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (8 mL de tampão BR pH 8,07  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ; 2 mL metanol) em presença de  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100; (b) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 4.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e ( $P_1$ - $P_4$ ) adições de padrão de TBHQ. Parâmetros:  $f = 150 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 30 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (4.000 ppm).



**Figura 31:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (8 mL de tampão BR pH 8,07  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ; 2 mL metanol) em presença de  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100; (b) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 8.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e ( $P_1$ - $P_4$ ) adições de padrão de TBHQ. Parâmetros:  $f = 150 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 30 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (8.000 ppm).



**Figura 32:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (8 mL de tampão BR pH 8,07  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ : 2 mL metanol) em presença de  $3,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de TX-100; (b) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 16.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e ( $P_1$ - $P_4$ ) adições de padrão de TBHQ. Parâmetros:  $f = 150 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 30 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (16.000 ppm).

**Tabela 5:** Resultados obtidos para as determinações de TBHQ em biodiesel de soja empregando a metodologia eletroanalítica proposta utilizando eletrodo de gota de mercúrio na presença do surfactante TX-100, sob a técnica de voltametria de onda quadrada.

| Nível de Aditivção | Adicionado (ppm) | Encontrado (ppm) | Eficiência (%) | DPR (%) |
|--------------------|------------------|------------------|----------------|---------|
| 4.000 ppm          | 3.977            | 3.954            | 99,4           | 3,7     |
|                    | 4.093            | 4.018            | 98,2           | 1,1     |
|                    | 4.365            | 4.311            | 98,8           | 1,5     |
| 8.000 ppm          | 8.109            | 8.124            | 100,2          | 0,5     |
|                    | 7.876            | 7.877            | 100,0          | 0,7     |
|                    | 7.935            | 7.604            | 95,8           | 0,1     |
| 16.000 ppm         | 15.947           | 16.031           | 100,5          | 1,0     |
|                    | 16.102           | 15.530           | 96,4           | 0,5     |
|                    | 16.005           | 15.590           | 97,4           | 0,8     |

Os dados obtidos de todas as análises realizadas através da metodologia desenvolvida são apresentados na **Tabela 5** (página anterior). Conforme pode ser constatado os valores de recuperação foram satisfatórios, variando entre 95,8 e 100,5%, estes resultados indicam, portanto, a exatidão do método proposto. Adicionalmente os valores de desvio padrão relativo variaram entre 0,1 - 3,7%, estabelecendo, portanto, a precisão adequada da metodologia desenvolvida.

Desta forma, a metodologia proposta mostra-se promissora para a determinação do antioxidante TBHQ em amostras de biodiesel de soja, já que exibiu adequada exatidão, reduzido tempo de análise, baixo custo e grande simplicidade experimental, já que a amostra não necessita de tratamento prévio à análise, ao contrário, é apenas diluída e então submetida aos ensaios.

### **3.2. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel utilizando eletrodo de pasta de carbono**

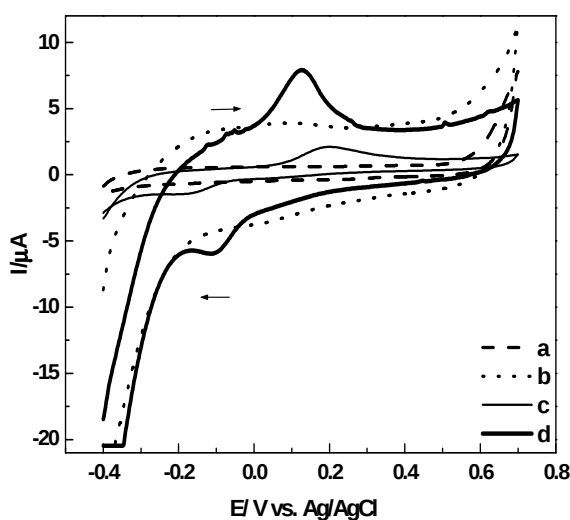
Uma das características de estudar a oxidação de TBHQ em superfícies eletródicas é que a quinona formada neste processo, normalmente passiva a superfície eletródica e assim, dificulta as medidas posteriores por consequente necessidade da limpeza contínua da superfície eletródica (CARVALHO *et al.*, 2003). No entanto, é de interesse que ao desenvolver um método eletroanalítico exista reprodutibilidade da superfície eletródica sem a necessidade de tratamentos de limpeza complexos e demorados. Diante disso, e do fato de que até a realização desta pesquisa não havia sido encontrado nenhum artigo científico em que a pasta de carbono tivesse sido utilizada para análise de TBHQ em amostras de biodiesel de soja, então uma das metodologias eletroanalíticas desenvolvidas neste trabalho fez uso deste tipo de eletrodo, conforme descrito a seguir.

#### **3.2.1. Oxidação eletroquímica de TBHQ em superfície do eletrodo de pasta de carbono**

A oxidação eletroquímica de TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi investigada inicialmente em meio aquoso de tampão Britton Robinson (BR) pH 6,52 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), empregando a técnica de VC utilizando um eletrodo de pasta de carbono (EPC) composto por 70% grafite/30% vaselina (m/m) como eletrodo de trabalho (ver preparo seção 2.5.2) (**Figura 33**).

Conforme é possível verificar, TBHQ exibiu um pico na varredura direta correspondente a oxidação da hidroquinona a quinona em aproximadamente 0,20 V, e um pico na varredura reversa em aproximadamente -0,17 V provavelmente devido a redução da quinona formada no processo eletródico (TONMANEE & ARCHER, 1982; CORTÉS *et al.*, 1993).

Embora TBHQ tenha exibido resposta eletroquímica sob a superfície do eletrodo de pasta de carbono, a mesma apresentou uma corrente de pico discreta. Diante dos objetivos analíticos deste trabalho, era de interesse que a metodologia em desenvolvimento apresentasse adequados limites de detecção e quantificação. Na tentativa de melhorar essa resposta, bem como, considerando o sucesso do uso do surfactante brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA) por Huang (2005) na determinação de bisfenol também em eletrodos de pasta de carbono, portanto, a influência deste tensoativo também foi investigada na oxidação de TBHQ em EPC.



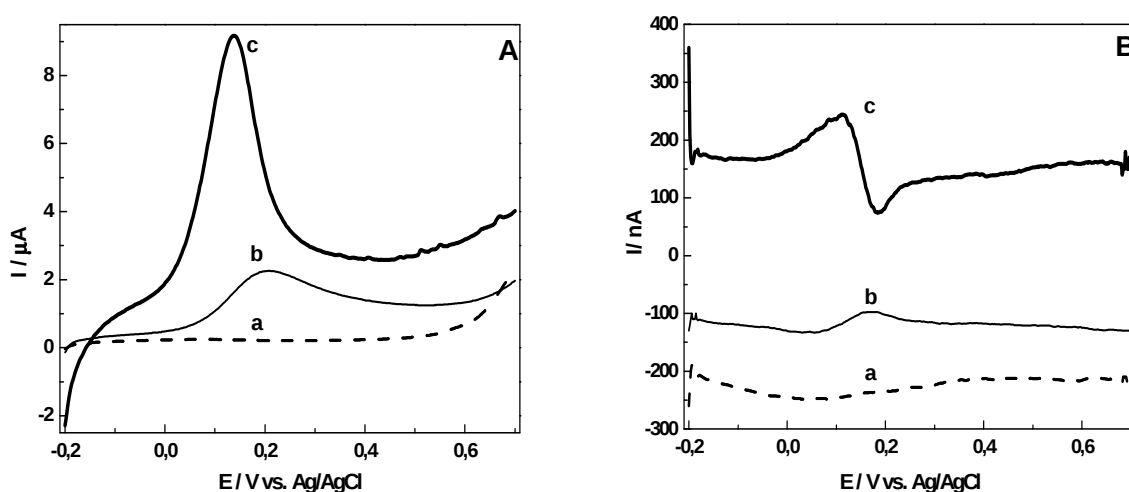
**Figura 33:** Voltamogramas Cíclicos para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, (d) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Como observado na **Figura 33**, a presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) favoreceu a oxi-redução de TBHQ aumentando a corrente de pico dos processos eletródicos, um comportamento similar ao obtido por Huang (2005). Desta forma, o uso do surfactante BCTA mostrou ser também de grande importância no desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para determinação do antioxidante TBHQ utilizando eletrodos de pasta de carbono.

### 3.2.2. Otimização da Técnica Voltamétrica para desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

A oxidação eletroquímica de TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi investigada em meio aquoso de tampão Britton Robinson (BR) pH 6,52 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), empregando as técnicas de VVL, VPD e VOQ, na ausência e presença do surfactante BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) com objetivo de selecionar qual técnica seria adotada no desenvolvimento da metodologia para análise de TBHQ.

Na **Figura 34** são apresentados os voltamogramas obtidos empregando as técnicas de VVL e VOQ. Os testes realizados através da VPD não foram apresentados porque nenhuma resposta foi obtida para TBHQ utilizando a mesma, inclusive na presença de BCTA.



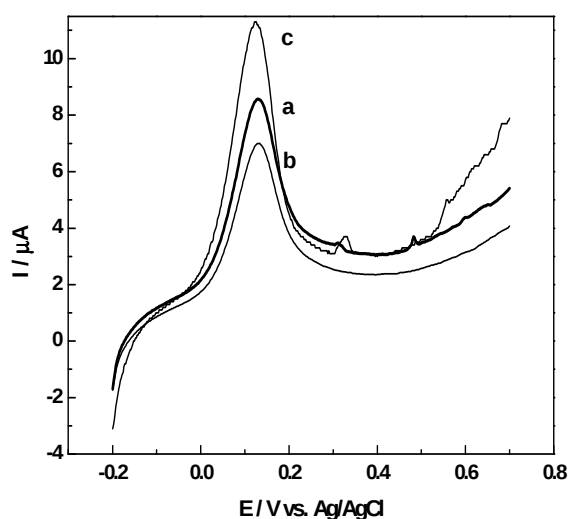
**Figura 34:** Voltamogramas de Varredura Linear ( $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ) (A) e Voltamogramas de Onda Quadrada ( $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ) (B) para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, (c) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ).

De acordo com os resultados obtidos, **Figura 34 A e B**, sob ambas as técnicas, o uso de BCTA ampliou o pico de oxidação de TBHQ, no entanto, o pico do antioxidante exibiu melhor definição e intensidade sob a técnica de VVL. Em virtude disso, a mesma foi otimizada para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para análise de TBHQ utilizando EPC.

### 3.2.3. Estudo da composição da pasta de carbono

Selecionada a técnica voltamétrica para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ, o passo seguinte foi otimizar a composição da pasta de carbono que seria utilizada no trabalho. Três composições foram estudadas: 70/30, 75/25, 80/20 % (grafite/ vaselina m/m).

A oxidação de TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi avaliada na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob estas três diferentes composições de pasta, conforme apresentado na **Figura 35**.



**Figura 35:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52 na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob diferentes composições da pasta de carbono: (a) 70/30% (b) 75/25% e (c) 80/20 % (grafite/vaselina m/m),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Como apresentado na **Figura 35**, a composição da pasta que apresentou maior  $I_p$  para TBHQ foi 80/20% (grafite/ vaselina m/m), no entanto, sob esta condição o pico do

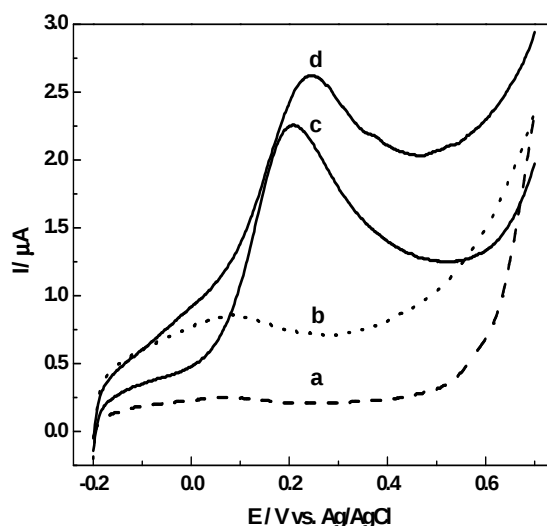
antioxidante apresentou uma grande quantidade de ruídos, em virtude disso, a composição selecionada para o trabalho foi 70/30, já que esta exibiu uma corrente de pico para TBHQ próxima a obtida na composição 80/20, aliada a uma melhor definição do sinal eletroanalítico.

#### **3.2.4. Influência do uso de diferentes tipos de surfactante na oxidação de TBHQ**

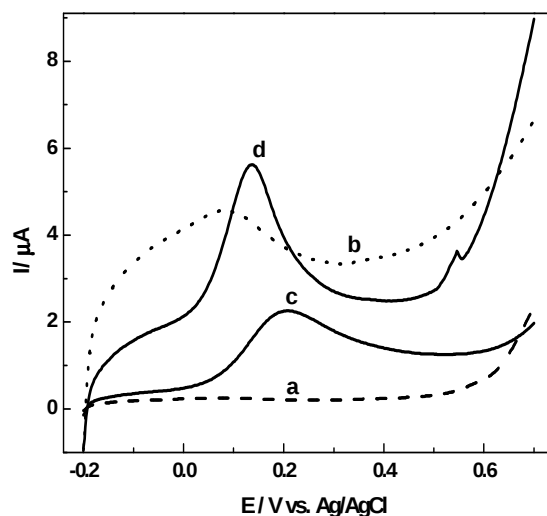
Considerando o sucesso do uso do surfactante BCTA na oxidação de TBHQ em EPC, o uso de outros tipos de surfactantes foi avaliado neste processo. Os tensoativos investigados foram: dodecilsulfato de sódio (aniônico) (DSS) e Triton X-100 (neutro) (TX-100), além do próprio BCTA (catiônico), voltamogramas apresentados nas **Figuras 36, 37 e 38**.

Observando os voltamogramas apresentados nas **Figuras 36, 37 e 38** é possível constatar que o surfactante DSS não favoreceu a oxidação de TBHQ no EPC, ao contrário dificultou o processo, pois na presença deste tensoativo o sinal do antioxidante teve sua resolução comprometida. Já o surfactante TX-100, favoreceu discretamente a oxidação de TBHQ, pois aumentou  $I_p$  e a resolução do sinal, mas não com tamanha intensidade como BCTA, ao mesmo passo que também exibiu uma resposta interferente ao pico de oxidação do antioxidante.

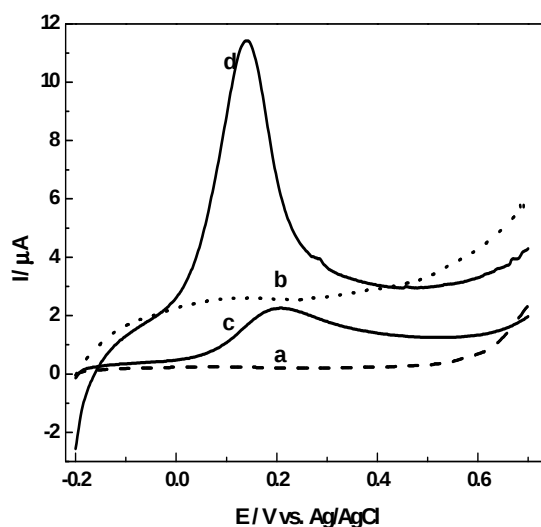
Em virtude dessas características, o surfactante catiônico BCTA foi otimizado para os demais estudos. Esse processo provavelmente está relacionado ao fato de que a interação que ocorre entre os surfactantes (presentes em uma concentração abaixo das suas respectivas CMCs) e o EPC, é uma interação do tipo hidrofóbica, ficando assim a porção polar do surfactante “cabeça” voltada para a solução, disponível para interagir com o analito presente no meio. As hidroxilas existentes na molécula do antioxidante fazem com que a oxidação de TBHQ na presença do surfactante aniônico seja comprometida em virtude da repulsão eletrostática surfactante-analito. Tal processo não existe quando o mesmo ocorre na presença do surfactante neutro TX-100, melhorando assim, a oxidação do antioxidante. No entanto, o processo é realmente favorecido na presença do surfactante catiônico BCTA, pois neste caso, há uma interação eletrostática entre a porção hidrofílica do surfactante (“cabeça”) e o analito, o que favorece, portanto, a oxidação do mesmo, proporcionando assim, maiores valores de corrente de pico (Huang, 2005).



**Figura 36:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) DSS ( $2,31 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de DSS, e (d) TBHQ ( $2,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de DSS ( $2,31 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

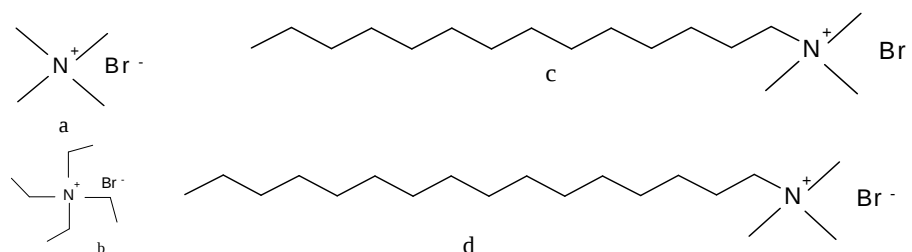


**Figura 37:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) TX-100 ( $2,31 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TX-100, e (d) TBHQ ( $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de TX-100 ( $2,31 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 38:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, e (d) TBHQ ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Avaliado o tipo de surfactante mais adequado para oxidação de TBHQ em EPC, o próximo passo foi avaliar a influência do tamanho da cadeia carbônica ligada ao grupo amônio. Para este estudo foram usados os seguintes compostos: brometo de tetrametilamônio (BTMA), brometo de tetraetilamônio (BTEA), brometo de tetradeciltrimetilamônio (BTDTA) e o próprio brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA) (estruturas apresentadas na **Figura 39**).



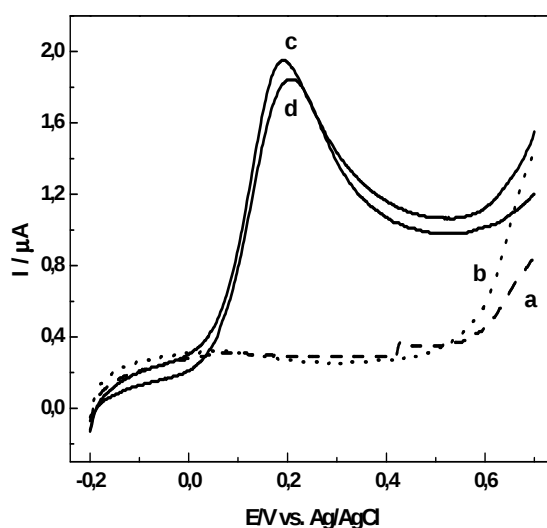
**Figura 39:** Estrutura química dos compostos de amônio quaternário, onde: (a) brometo de tetrametilamônio, (b) brometo de tetraetilamônio, (c) brometo de tetradeciltrimetilamônio, (d) brometo de cetiltrimetilamônio.

Como é possível verificar nas **Figuras 40, 41 e 42**, e na **Figura 38** (apresentada acima), os compostos de amônio de cadeia carbônica menor, BTMA e BTEA praticamente não

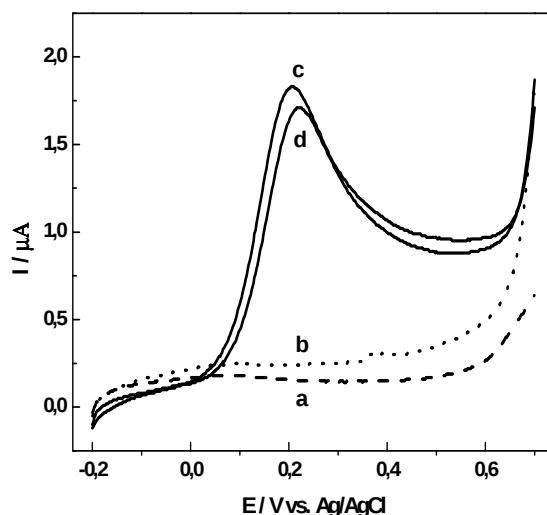
modificaram a oxidação de TBHQ sob a superfície do EPC, enquanto os de cadeia maior BTDTA e BCTA promoveram uma melhora significativa na oxidação do antioxidante.

Esse comportamento, provavelmente se deve ao fato de que os compostos de cadeia menor, BTMA e BTEA, são repelidos da superfície eletródica - carregada positivamente (varredura no sentido de oxidação), isso devido ao fato de que a porção hidrofílica da molécula (com carga positiva) encontra-se muito próxima à porção hidrofóbica (cadeia pequena), não permitindo, portanto, que o eletrodo possa ser modificado de forma a melhorar a oxidação do analito. Isso pode ser constatado pela grande similaridade encontrada nas respostas obtidas para TBHQ na ausência e na presença destes compostos.

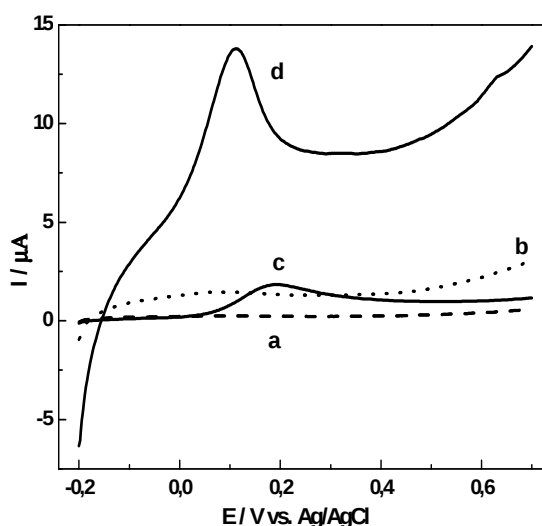
Já para os compostos de cadeia maior, BTDTA e BCTA, a grande porção hidrofóbica permite a interação com o EPC sem grandes problemas de repulsão entre o eletrodo e a porção hidrofílica dos surfactantes, melhorando assim a resposta de TBHQ sob tais condições.



**Figura 40:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) BTMA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BTMA, e (d) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BTMA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 41:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) BTEA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BTEA e (d) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BTEA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 42:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 6,52, (b) BTDTA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de TBHQ, (c) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BTDTA, e (d) TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BTDTA ( $2,32 \times 10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$ ),  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

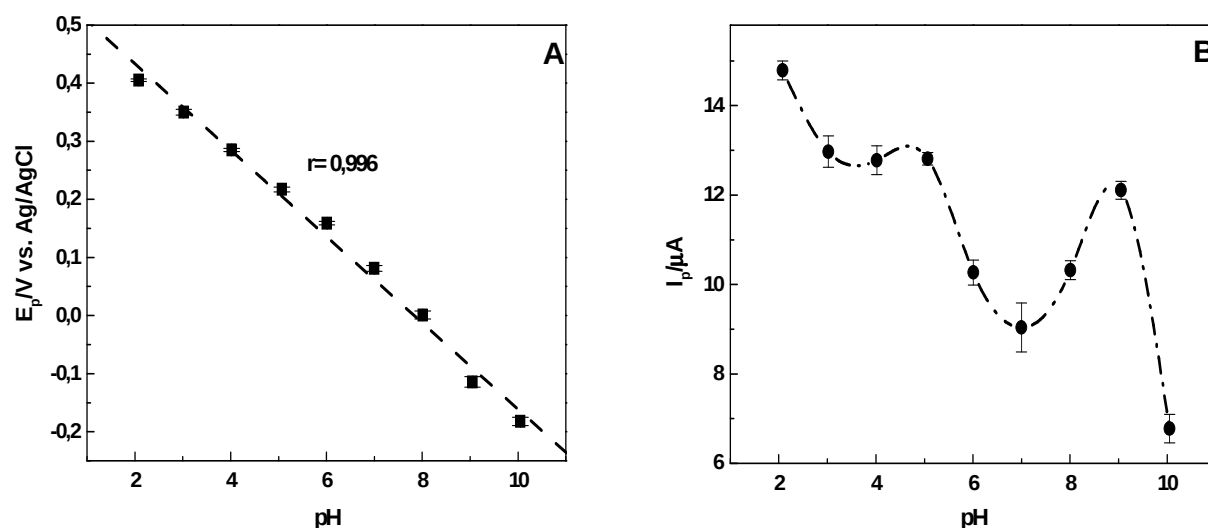
Para fins analíticos, novamente o surfactante BCTA (**Figura 38**) exibiu melhores resultados para oxidação de TBHQ, já que apresentou um pico com melhor definição e intensidade, tendo assim, sido mantido para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

### 3.2.5. Estudo do pH do eletrólito suporte

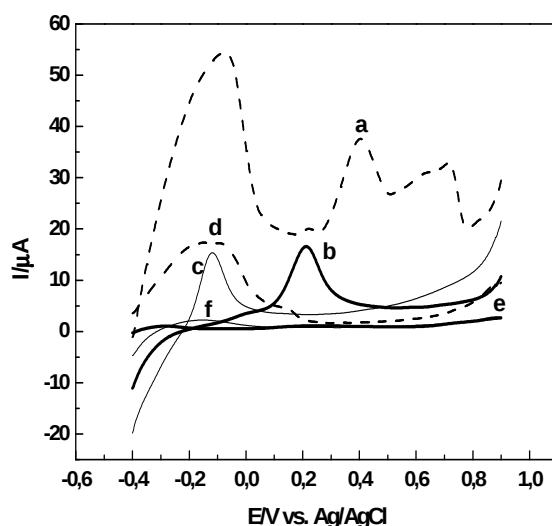
Outro parâmetro também avaliado para oxidação de TBHQ ( $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em EPC foi o pH do eletrólito suporte, este estudo foi realizado em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  no intervalo de pH de 2,0 a 10,0 em presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). A influência do pH do eletrólito suporte na  $I_p$  e  $E_p$  de TBHQ é apresentada na **Figura 43 (A e B)**.

A  $I_p$  de TBHQ foi significativamente influenciada pelo pH, em pH 2,08 este parâmetro apresentou um valor máximo o qual decaiu em pH 3,02 permanecendo praticamente constante até pH 5,07, a partir deste valor voltou novamente a decair até pH 7,00, aumentando novamente seu valor até pH 9,05 decaindo novamente em pH 10,05.

No que diz respeito ao  $E_p$ , o aumento do pH promoveu o deslocamento de  $E_p$  para valores mais negativos, apresentando um único segmento linear em toda a faixa estudada, com a seguinte equação de regressão linear  $E_p \text{ (mV)} = 581,38 - 74,61 \times \text{pH}$  ( $r = 0,996$ ). Da mesma forma como procedido anteriormente na seção 3.1.2., foi calculado o número de prótons envolvidos no processo utilizando EPC, o valor encontrado foi  $2,53 \approx 2$ , o que confirma a participação de dois prótons na oxidação de TBHQ.



**Figura 43:** Influência do pH do eletrólito suporte no  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) para oxidação de TBHQ ( $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), através da técnica de VVL em EPC.



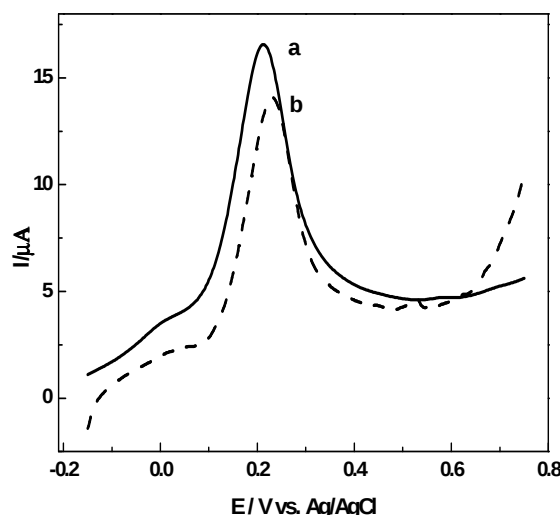
**Figura 44:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de TBHQ ( $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), em diferentes pHs do tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ : (a) pH 2,08, (b) pH 5,07 e (c) 9,05 ; os brancos dos tampões são representados pelos voltamogramas (d) 2,08, (e) 5,07 e (f) 9,05,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Para fins analíticos, o pH adotado foi 5,00. Este valor foi selecionado por apresentar corrente de pico com valor próximo ao máximo obtido para este parâmetro (o qual foi obtido em pH 2,0), ao mesmo passo que exibiu um pico com maior definição que em pH 2,08 (Figura 44).

### 3.2.6. Estudo do tipo de eletrólito suporte

A oxidação de TBHQ ( $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) também foi investigada em tampão acetato ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) sob o pH otimizado no estudo anterior (pH 5,05), também em presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ).

Como é verificado no voltamograma apresentado na Figura 45, embora a resposta obtida para TBHQ em tampão BR e acetato tenha sido similar, uma melhor resolução do pico de TBHQ foi obtida em tampão BR, em virtude disso, esse tampão foi mantido no desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.



**Figura 45:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de TBHQ ( $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), nos tampões: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,07 e (b) Tampão acetato  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,05,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

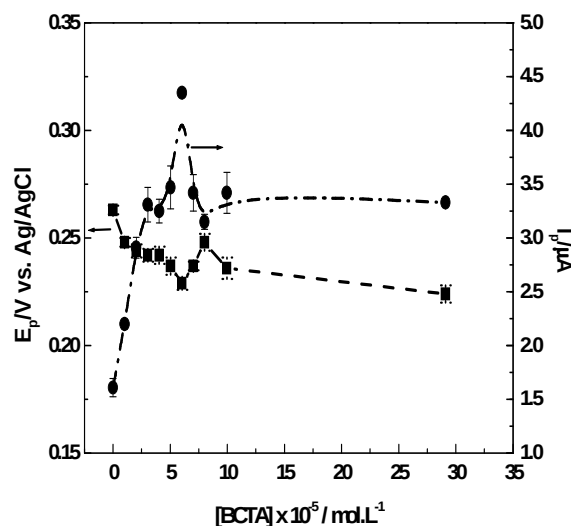
### 3.2.7. Estudo da concentração do surfactante BCTA

A concentração do surfactante BCTA foi outro parâmetro investigado na oxidação de TBHQ ( $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,07, os resultados obtidos para este estudo são apresentados na **Figura 46**.

Como é constatado, o aumento da concentração de BCTA promoveu o aumento da corrente de pico de TBHQ até aproximadamente  $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  do surfactante. A partir desta concentração a corrente de pico decaiu, permanecendo praticamente constante para concentrações maiores de BCTA.

O  $E_p$  de TBHQ também foi influenciado pelo aumento da concentração de BCTA, até aproximadamente  $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  houve o deslocamento do  $E_p$  para valores menos positivos, a partir desta concentração o potencial voltou a deslocar para valores mais positivos até  $8,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA, retornando para valores mais negativos de  $E_p$  em concentrações maiores do surfactante.

De acordo com este estudo, selecionou-se  $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  (abaixo da sua CMC -  $9 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  - Stadlober *et al.*, 1996) como concentração de BCTA adequada determinação de TBHQ em eletrodo de pasta de carbono. Este valor foi adotado por se tratar da concentração do surfactante onde foi obtida a máxima  $I_p$  para TBHQ aliada a uma melhor definição do pico do sinal eletroanalítico.



**Figura 46:** Influência da concentração de BCTA no  $E_p$  e  $I_p$  de TBHQ ( $1,99 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,07,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

### 3.2.8. Resumo dos Parâmetros Selecionados

As condições experimentais otimizadas para determinação de TBHQ em biodiesel utilizando eletrodo de pasta de carbono são apresentadas na tabela a seguir (**Tabela 6**).

**Tabela 6:** Resumo dos parâmetros otimizados e utilizados para determinação de TBHQ sobre eletrodo de pasta de carbono empregando a técnica de VVL.

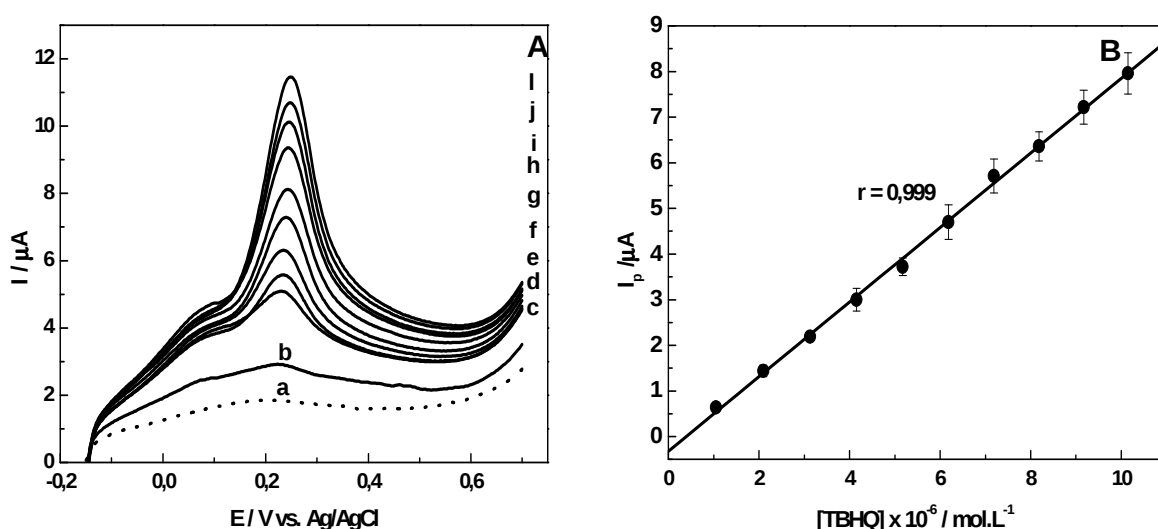
| Parâmetro Avaliado          | Intervalo Avaliado                             | Selecionado                              |
|-----------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Composição do EPC           | (70/30; 75/25; 80/20) % (m/m grafite/vaselina) | 70/30%                                   |
| Tipo de eletrólito          | Tampão BR e Acetato                            | Tampão BR                                |
| Concentração do eletrólito  | -                                              | $0,04 \text{ mol L}^{-1}$                |
| pH                          | 2,0 - 10,0                                     | 5,00                                     |
| Tipo de Surfactante         | BCTA; DSS; TX-100                              | BCTA                                     |
| Composto de Amônio          | BTMA; BTEA; BTDTA; BCTA                        | BCTA                                     |
| Concentração do Surfactante | $0 - 2,91 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$   | $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ |
| Velocidade de varredura     | -                                              | $100 \text{ mV s}^{-1}$                  |

### 3.2.9. Construção da Curva Analítica

Depois de estabelecidas as melhores condições de trabalho para monitorar a oxidação eletroquímica de TBHQ em EPC, foram registrados voltamogramas de varredura linear em diferentes concentrações deste antioxidante.

A **Figura 47 A** exibe os voltamogramas obtidos no intervalo de concentração de  $1,05 \times 10^{-6}$  a  $1,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. A partir dos valores de  $I_p$  obtidos destes voltamogramas foram construídas curvas analíticas, em que cada ponto representa a média de três medidas experimentais (**Figura 47 B**). A relação linear obtida em todo o intervalo de concentração avaliado apresenta a seguinte equação de regressão linear:  $I_p (\mu A) = -0,339 + 0,78 [TBHQ] (\mu mol L^{-1})$ ,  $r = 0,999$ , cujos parâmetros estão reunidos na **Tabela 7**.

Com base nos parâmetros apresentados na **Tabela 7** foram calculados os LD e LQ da metodologia proposta utilizando o tratamento estatístico:  $(3 \times DP/b)$  e  $(10 \times DP/b)$  (RIBANI *et al.*, 2004). Neste caso, o **DP** representa o desvio padrão da média aritmética dos interceptos de três curvas analíticas para TBHQ, e **b**, a inclinação da média das curvas analíticas. Optou-se neste caso por trabalhar com o intercepto das curvas, pelo fato de que o  $E_p$  de TBHQ apresentar certa variação de acordo com a renovação da superfície eletródica.



**Figura 47:** (A) Voltamogramas de Varredura Linear para diferentes concentrações o padrão de TBHQ, onde: (b)  $1,05 \times 10^{-6}$ ; (c)  $2,09 \times 10^{-6}$ ; (d)  $3,13 \times 10^{-6}$ ; (e)  $4,15 \times 10^{-6}$ ; (f)  $5,17 \times 10^{-6}$ ; (g)  $6,18 \times 10^{-6}$ ; (h)  $7,19 \times 10^{-6}$  (i)  $8,18 \times 10^{-6}$  (j)  $9,17 \times 10^{-6}$  (l)  $1,01 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, (a) branco (Tampão BR pH 5,07, 0,04 mol. L<sup>-1</sup> e  $6,04 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de BCTA),  $v = 100$  mV s<sup>-1</sup>. (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração molar de TBHQ.

Os valores obtidos para LD e LQ foram respectivamente:  $7,11 \times 10^{-8}$  e  $2,37 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, valores próximos aos obtidos por Cortés e autores (1994). Esses resultados indicaram que a metodologia desenvolvida apresentou detectibilidade adequada para os propósitos deste trabalho de quantificar TBHQ em amostras de biodiesel de soja.

**Tabela 7:** Parâmetros quantitativos do método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VVL para determinação de TBHQ utilizando EPC na presença do surfactante BCTA.

| Parâmetros                                                     | Curva Analítica       |
|----------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Intervalo de concentração ( $\mu\text{mol. L}^{-1}$ )          | 1,05 - 10,15          |
| Intercepto ( $\mu\text{A}$ ) <sup>a</sup>                      | -0,339                |
| D.P. do intercepto                                             | $1,86 \times 10^{-8}$ |
| Inclinação <sup>a</sup> ( $\mu\text{A.L.}\mu\text{mol}^{-1}$ ) | $7,83 \times 10^{-1}$ |
| Coeficiente de correlação (r) <sup>a</sup>                     | 0,999                 |
| LD ( $\text{mol L}^{-1}$ )                                     | $7,11 \times 10^{-8}$ |
| LQ ( $\text{mol L}^{-1}$ )                                     | $2,37 \times 10^{-7}$ |

<sup>a</sup> Média de três curvas analíticas; D.P. = Desvio Padrão; LD = Limite de Detecção; LQ = Limite de Quantificação.

### 3.2.10. Aplicação da metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel de soja utilizando EPC na presença de BCTA.

A metodologia desenvolvida utilizando eletrodo de pasta de carbono em presença do surfactante BCTA foi então aplicada para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel de soja.

O método proposto foi novamente aplicado para uma amostra de biodiesel de soja com três níveis diferentes de concentração de TBHQ: 4.000, 8.000 e 16.000 ppm, como mencionado anteriormente, essas concentrações foram selecionadas por se tratar de concentrações abaixo, iguais e acima do indicado pelo trabalho de Domingos e autores (2007)

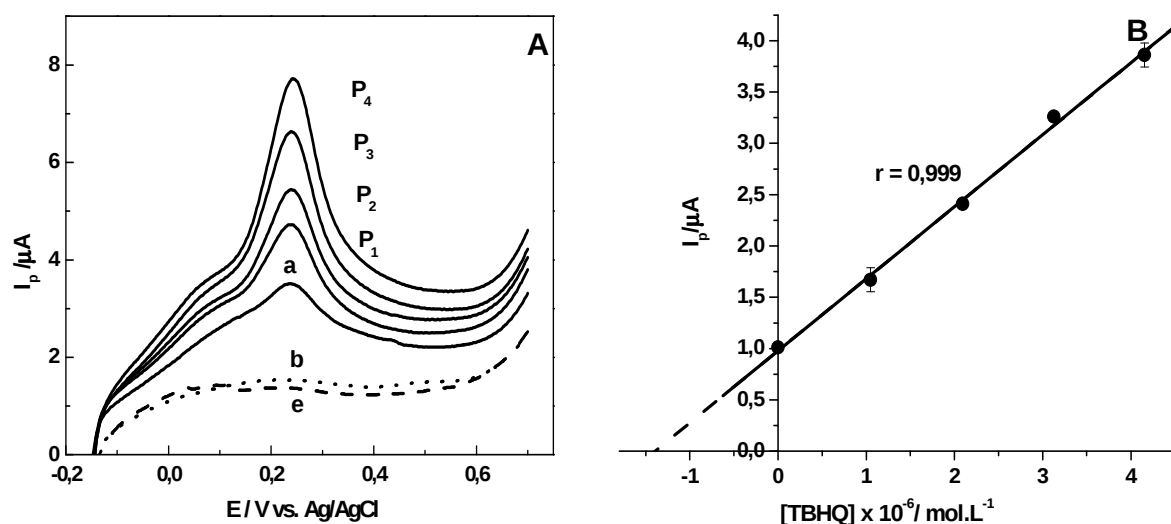
para alcançar o período de estabilidade oxidativa de 6 horas, de acordo com os parâmetros da resolução N° 7 da ANP (ANP, 2008).

Após a adição do antioxidante TBHQ ao biodiesel de soja em uma concentração conhecida, a amostra foi diluída em metanol e uma alíquota (30 µL) foi então adicionada à célula eletroquímica para subsequente análise (procedimento descrito na seção 2.5.5.). Todos os níveis de concentração foram preparados em triplicata.

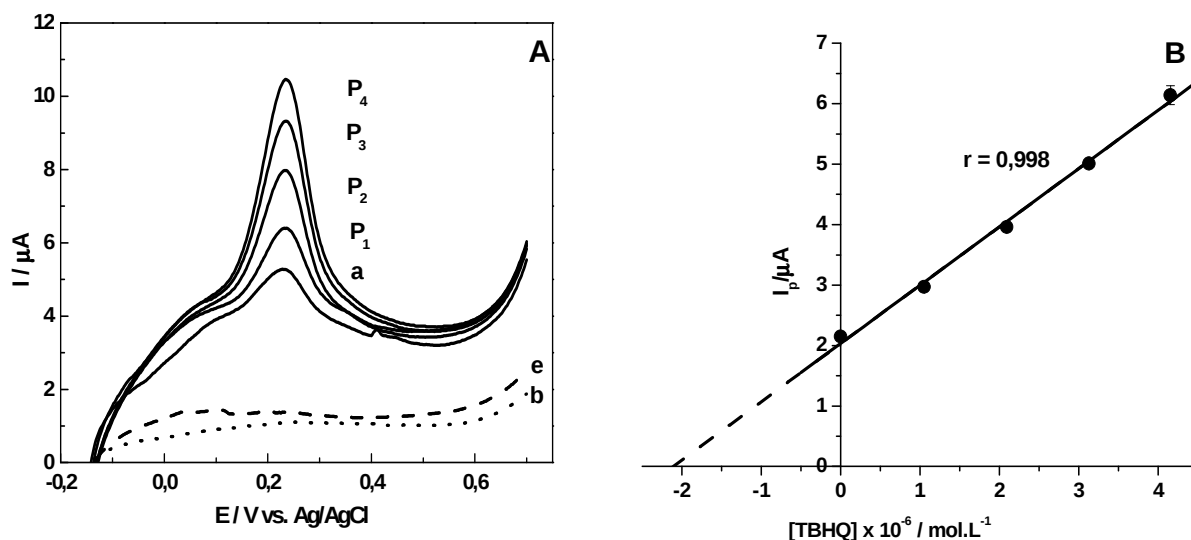
De forma a avaliar a presença de interferentes, inicialmente foram registrados voltamogramas referentes ao branco da amostra (solução preparada a partir do biodiesel de soja não aditivado) (**Figuras 48, 49, 50**, voltamogramas b), como observado, a matriz não exibe picos interferentes ao analito, o que permite a aditivação e posterior análise deste biocombustível.

Três das análises efetuadas são apresentadas nas **Figuras 48, 49 e 50**, nos diferentes níveis de aditivação estudados. Nestas figuras, os voltamogramas nomeados pela letra **a** correspondem à adição de 30 µL da solução da amostra de biodiesel aditivado (preparada como descrito na seção 2.5.5.) na célula contendo 10 mL do eletrólito suporte tampão BR pH 5,06 e  $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA.

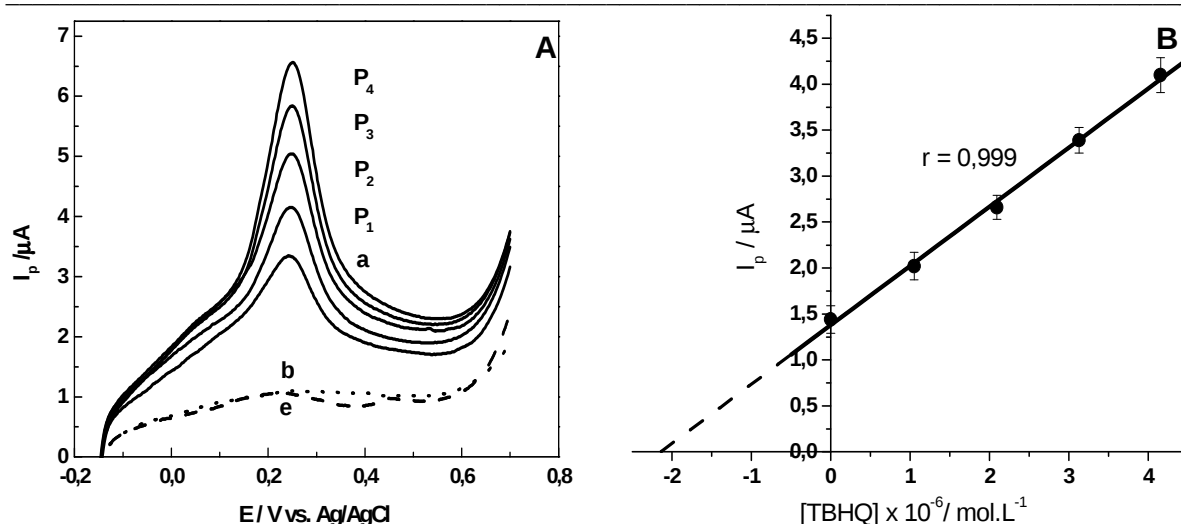
Como é possível verificar nestas figuras, novamente o pico de TBHQ presente na amostra de biodiesel de soja (aditivado), pode ser observado sem qualquer interferência de compostos presentes na matriz. De forma a determinar a concentração de TBHQ na amostra, utilizou-se o método de adição de padrão, onde os voltamogramas (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>) correspondem às respectivas adições.



**Figura 48:** (A) Voltamogramas de Varredura Linear obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (tampão BR pH 5,06,  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) em presença de BCTA ( $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ); (b) 30  $\mu\text{L}$  de solução amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 4.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e ( $P_1$ - $P_4$ ) adições de padrão de TBHQ,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (4.000 ppm).



**Figura 49:** (A) Voltamogramas de Varredura Linear obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (tampão BR pH 5,06,  $0,04 \text{ mol. L}^{-1}$ ) em presença de BCTA ( $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ); (b) 30  $\mu\text{L}$  de solução amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a) 30  $\mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 8.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e ( $P_1$ - $P_4$ ) adições de padrão de TBHQ,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (8.000 ppm).



**Figura 50:** (A) Voltamogramas de Varredura Linear obtidos para adição de padrão de TBHQ na amostra de biodiesel, onde: (e) eletrólito suporte (tampão BR pH 5,06,  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) em presença de BCTA ( $6,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ); (b)  $30 \mu\text{L}$  de solução amostra de biodiesel de soja não aditivada com TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); (a)  $30 \mu\text{L}$  de solução de amostra de biodiesel de soja aditivada com 16.000 ppm de TBHQ (ver preparo seção 2.5.5.); e ( $P_1$ - $P_4$ ) adições de padrão de TBHQ,  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões de TBHQ em presença da amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ (16.000 ppm).

Na **Tabela 8** são apresentados os resultados de todas as análises efetuadas empregando a metodologia desenvolvida. Conforme pode ser observado, os valores de recuperação foram aceitáveis, variando entre 95,0 e 103,5%. Estes resultados indicam que a metodologia desenvolvida apresenta exatidão satisfatória. Além disso, os valores de desvio padrão relativo foram adequados variando entre 0,3 e 4,5 %, o que estabelece, portanto, uma precisão adequada.

Estes resultados indicam que a metodologia desenvolvida é promissora para determinação do antioxidante sintético TBHQ em amostras de biodiesel de soja, pois constitui uma metodologia que utiliza um eletrodo de trabalho de fácil preparo e baixo custo, aliada a uma análise que não exige tratamento prévio da amostra, e de grande rapidez no ensaio. Estas características permitem-nos apontar a metodologia eletroanalítica desenvolvida como uma nova opção no controle de TBHQ em biodieseis.

**Tabela 8:** Resultados obtidos para as determinações de TBHQ em biodiesel de soja utilizando a metodologia proposta fazendo uso do EPC empregando a técnica de voltametria de VVL e em presença do surfactante BCTA.

| Nível de Aditivção | Adicionado (ppm) | Encontrado (ppm) | Eficiência (%) | DPR (%) |
|--------------------|------------------|------------------|----------------|---------|
| 4.000 ppm          | 4.132            | 4.279            | 103,5          | 1,3     |
|                    | 4.210            | 4.266            | 101,3          | 1,1     |
|                    | 3.996            | 3.935            | 98,5           | 4,5     |
| 8.000 ppm          | 8.167            | 8.096            | 99,1           | 1,4     |
|                    | 8.070            | 7.825            | 97,0           | 1,1     |
|                    | 8.051            | 7.839            | 97,4           | 1,2     |
| 16.000 ppm         | 16.121           | 16.100           | 99,9           | 2,1     |
|                    | 16.180           | 15.370           | 95,0           | 0,3     |
|                    | 16.180           | 16.050           | 99,2           | 2,7     |

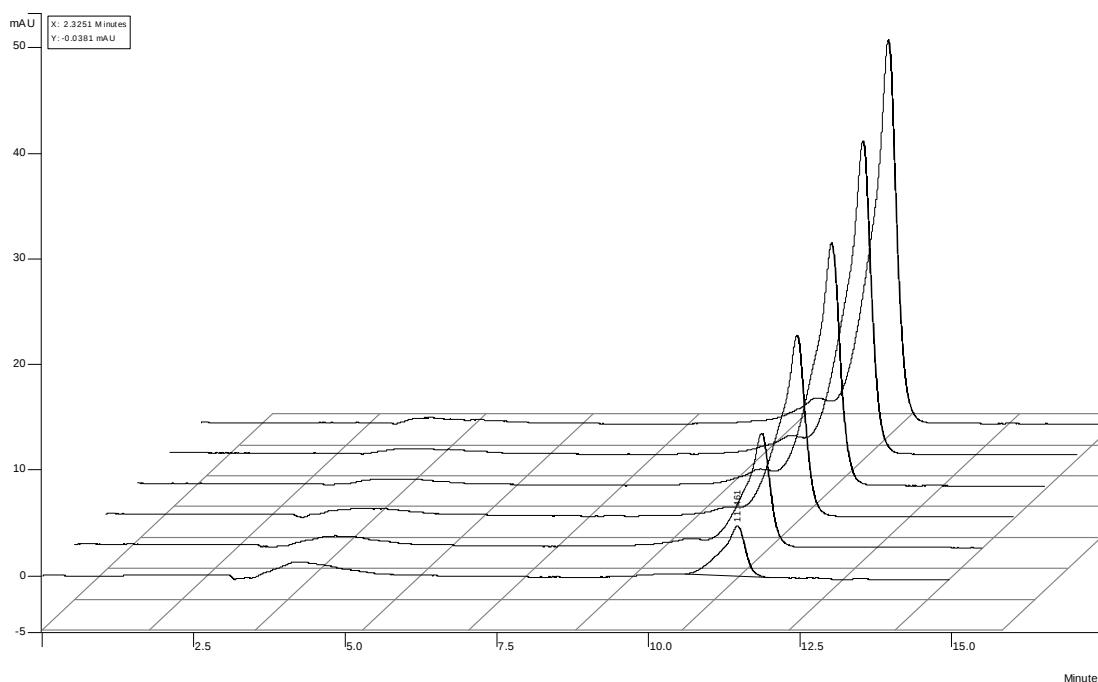
### 3.3. Comparação entre os resultados obtidos para as metodologias eletroanalíticas propostas para TBHQ e o método descrito na literatura por CLAE.

Como descrito na seção 2.5.6., o procedimento cromatográfico utilizado para validação das metodologias propostas foi adaptado do método proposto por Tagliabue e autores (2004). O procedimento descrito por estes autores envolve a determinação de seis antioxidantes utilizando a separação cromatográfica em coluna do tipo C-8 no modo gradiente (**Tabela 9**). Considerando que TBHQ é eluído sob estas condições em aproximadamente 6,2 minutos, o procedimento foi então adaptado para o modo isocrático constituído de 55% de solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,004 mol  $\text{L}^{-1}$ , 35 % de acetonitrila e 10 % de metanol. As demais condições utilizadas foram: vazão de 0,70 mL  $\text{min}^{-1}$  e detecção em 280 nm (comprimento de onda adotado neste trabalho para detecção de TBHQ).

**Tabela 9:** Composição do gradiente utilizado para determinação cromatográfica (CLAE) de antioxidantes sintéticos em biodiesel, metodologia proposta por Tagliabue e autores (2004).

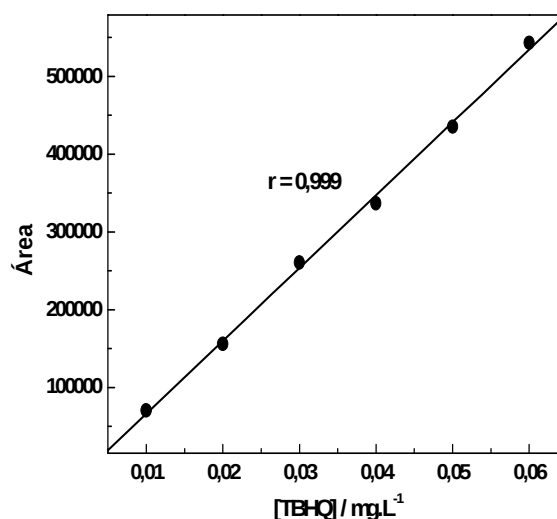
| Tempo<br>(Minutos) | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,004 mol L <sup>-1</sup><br>(%) | Acetonitrila<br>(%) | Metanol<br>(%) |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------|----------------|
| 0                  | 55                                                              | 35                  | 10             |
| 30                 | 15                                                              | 20                  | 65             |
| 40                 | 0                                                               | 70                  | 30             |
| 50                 | 55                                                              | 35                  | 10             |

Utilizando as condições cromatográficas adaptadas (coluna C18 e sistema de eluição isocrático) e as otimizadas por Tagliabue e autores (2004) foram realizados experimentos monitorando a detecção em diferentes concentrações de TBHQ. A **Figura 51** apresenta os cromatogramas registrados no intervalo de concentração de 0,011 a 0,066 mg L<sup>-1</sup>.



**Figura 51:** Cromatogramas obtidos para separação de TBHQ em diferentes concentrações. Condições experimentais: Coluna C18, fase móvel composta por 55% de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,004 mol L<sup>-1</sup>, 35 % de acetonitrila e 10 % de metanol, fluxo de 0,70 mL min<sup>-1</sup>, detecção em  $\lambda = 280$  nm.

A partir dos valores de área extraídos dos correspondentes cromatogramas de TBHQ foi construída uma curva analítica (**Figura 52**), a qual apresentou linearidade em todo o intervalo de concentração de antioxidante estudado, com equação de regressão linear de  $\text{Área} = -27.460,87 + 8,516 \times 10^6 \times [\text{TBHQ}] \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$ , e coeficiente de correlação de 0,999.

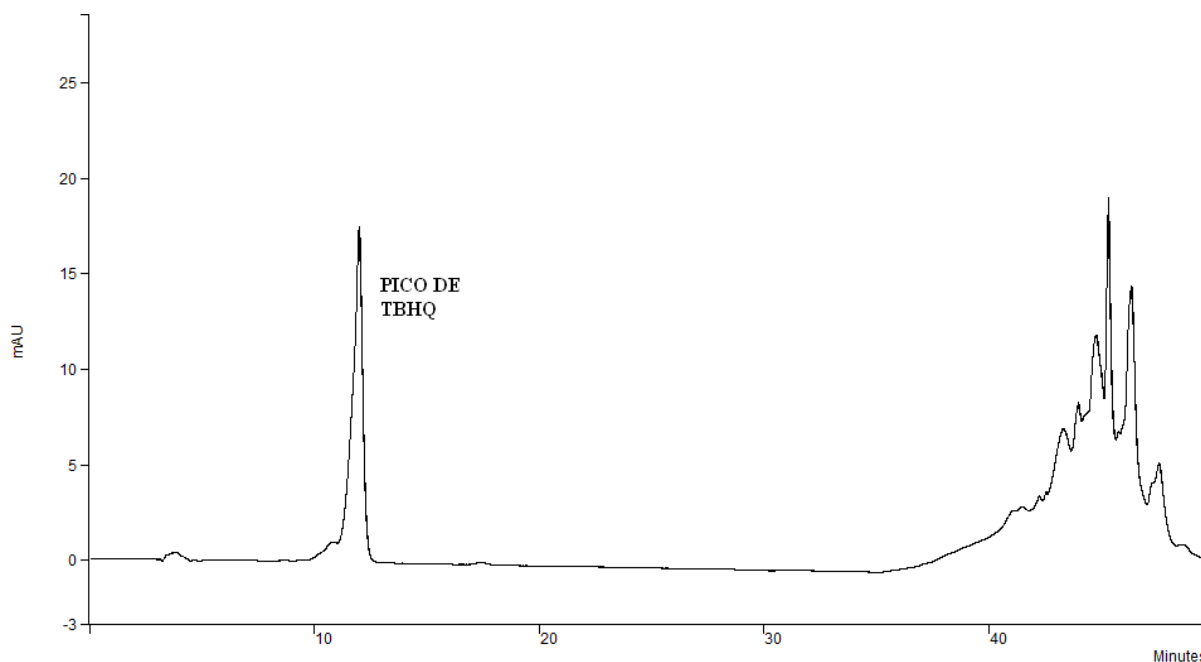


**Figura 52:** Curva analítica obtida para a detecção do antioxidante TBHQ em diferentes concentrações através da CLAE. Condições experimentais: Coluna C18, fase móvel composta por 55% de solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,004 \text{ mol L}^{-1}$ , 35 % de acetonitrila e 10 % de metanol, fluxo de  $0,70 \text{ mL.min}^{-1}$ , detecção em  $\lambda = 280 \text{ nm}$ .

Com objetivo de comparar os resultados obtidos empregando os métodos eletroanalíticos propostos com a técnica cromatográfica, uma amostra de biodiesel de soja foi aditivada com uma concentração de 8.245 ppm de TBHQ, e então submetida simultaneamente as análises eletroanalíticas e cromatográfica após sua diluição em metanol (conforme descrito na seção 2.5.6).

A determinação de TBHQ foi realizada empregando dos métodos eletroanalíticos utilizando o método de adição de padrão, e para a metodologia cromatográfica utilizando o método de padrão externo.

A **Figura 53** apresenta o cromatograma obtido para a amostra de biodiesel de soja aditivada com TBHQ.



**Figura 53:** Cromatograma registrado para análise da amostra de biodiesel aditivada com TBHQ. Condições experimentais: Coluna C18, fase móvel composta por 55% de solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,004 \text{ mol L}^{-1}$ , 35 % de acetonitrila e 10 % de metanol, fluxo de  $0,70 \text{ mL min}^{-1}$ , detecção em  $\lambda = 280$ .

Na **Tabela 10** são apresentados os resultados obtidos para determinação de TBHQ em biodiesel de soja, através das análises realizadas. Como é verificado, a concordância entre os resultados experimentais obtidos com os métodos propostos e o método cromatográfico (reportado na literatura), indicam a exatidão dos resultados obtidos neste trabalho para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel.

**Tabela 10:** Determinação de TBHQ em biodiesel de soja.

| Método                       | Adicionado<br>(ppm) | Encontrado<br>(ppm) | Eficiência<br>(%) | DPR<br>(%) |
|------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|------------|
| CLAE                         | 8.245               | 8.581               | 104,1             | 7,8        |
| Eletroanalítico <sup>1</sup> | 8.245               | 7.878               | 95,5              | 0,8        |
| Eletroanalítico <sup>2</sup> | 8.245               | 8.262               | 100,2             | 1,0        |

<sup>1</sup> Método desenvolvido empregando eletrodo de mercúrio; <sup>2</sup> Método desenvolvido empregando eletrodo de pasta de carbono; D.P.R. = Desvio Padrão Relativo.

### 3.4. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de GP em amostras de biodiesel utilizando EPC

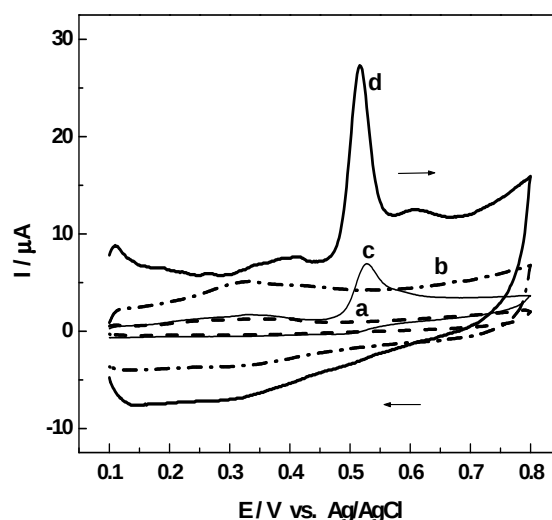
Um dos antioxidantes que também pode ser utilizado com eficiência na preservação de amostras de biodiesel contra processos oxidativos é o Galato de Propila (GP), conforme apresentado no trabalho de Guzman e autores (2009). Diante dessa informação, é também de interesse o desenvolvimento de um método eletroanalítico que permita a determinação deste composto em amostras de biodiesel. Com este objetivo selecionou-se o EPC, uma vez que o mesmo já foi utilizado com sucesso na determinação individual de TBHQ em amostras de biodiesel, e além disso, o uso do eletrodo de gota de mercúrio seria inviável para tal estudo, pois o GP oxida-se na região de potencial positivo, sendo esta região inapropriada para uso deste material eletródico.

#### 3.4.1. Oxidação eletroquímica de GP em superfície de EPC

Inicialmente investigou-se a oxidação eletroquímica de GP ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em meio aquoso constituído por tampão BR pH 2,00 ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ), empregando a técnica de Voltametria Cíclica (VC), em EPC de composição 75/25 (m/m, grafite/vaselina) (ver preparo seção 2.5.2.) (**Figura 54**).

Pela **Figura 54** pode-se observar que o GP apresenta um pico de oxidação em torno de +0,52 V vs. Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ ), com características de um processo irreversível, uma vez que o voltamograma não apresenta pico no sentido da varredura reversa, resposta essa em concordância com os estudos reportados anteriormente literatura (DIEGO *et al.*, 1997; GUNKEL *et al.*, 1998; SZYMULA & MICHAŁEK, 2006).

Diante do sucesso do uso de BCTA, na determinação de TBHQ em EPC, a influência deste surfactante também foi avaliada na oxidação eletroquímica de GP (**Figura 54**). Conforme é possível observar, o uso de BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) também promoveu uma significativa melhora na resposta de GP, aumentando a definição e corrente do pico em cerca de 3 vezes, processo esse, de grande importância para o propósito analítico deste trabalho.

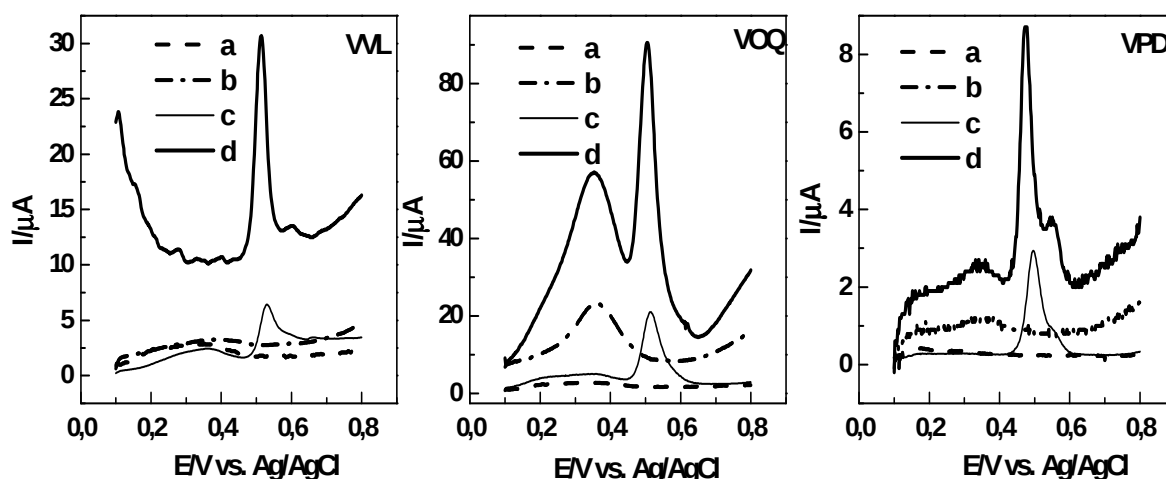


**Figura 54:** Voltamogramas Cíclicos para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00, (b) BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de GP, (c) GP ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, (d) GP ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

### 3.4.2. Otimização da Técnica Voltamétrica para desenvolvimento da metodologia eletroanalítica

Após definidas as condições iniciais para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica para determinação de GP, o passo seguinte foi investigar qual técnica voltamétrica seria utilizada com esse propósito. As técnicas investigadas foram: Voltametria de Varredura Linear (VVL), Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) e Voltametria de Onda Quadrada (VOQ) utilizando as mesmas condições do estudo anterior (Seção 3.4.1).

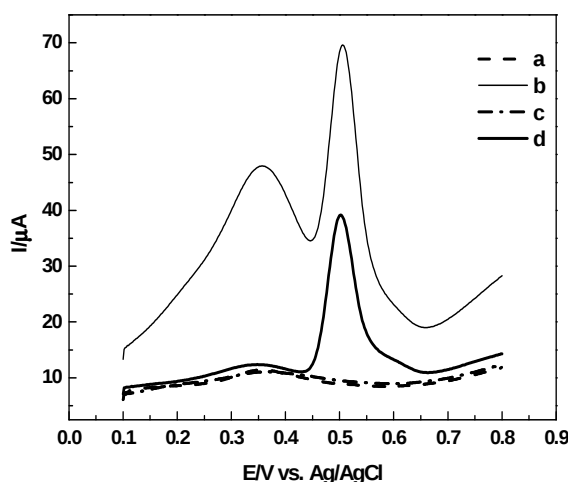
Na **Figura 55** são apresentados os voltamogramas obtidos neste estudo. Como é possível verificar, sob as três técnicas voltamétricas investigadas foi observado o aumento do pico de GP com a adição de BCTA, tendo sido obtida uma maior corrente de pico para este antioxidante utilizando a VOQ. No entanto, sob esta técnica também foi observada uma resposta interferente, em aproximadamente  $+ 0,35\text{V}$ . Diante destes resultados, os estudos prosseguiram inicialmente utilizando as técnicas em que foram obtidas melhores respostas, VVL e VOQ, no sentido de avaliar mais parâmetros que pudessem auxiliar na definição da técnica que seria definitivamente adotada para o desenvolvimento desta metodologia.



**Figura 55:** Voltamogramas de Varredura Linear (VVL) ( $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ), Voltamogramas de Onda Quadrada (VOQ) ( $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ) e Voltamogramas de Pulso Diferencial (VPD) ( $a = 25 \text{ mV}$ ,  $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ) para: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00, (b) BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de GP, (c) GP ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, (d) GP ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ).

### 3.4.3. Estudo da composição da pasta de carbono

Na tentativa de minimizar o pico interferente apresentado na técnica de VOQ, a resposta de GP ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi então avaliada frente a um EPC construído com um aglutinante de maior pureza, neste caso óleo mineral e comparada com a obtida no eletrodo até então utilizado, EPC elaborado com vaselina, ambos com a composição 75/25 (m/m grafite/aglutinante) e em presença de BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) (**Figura 56**).

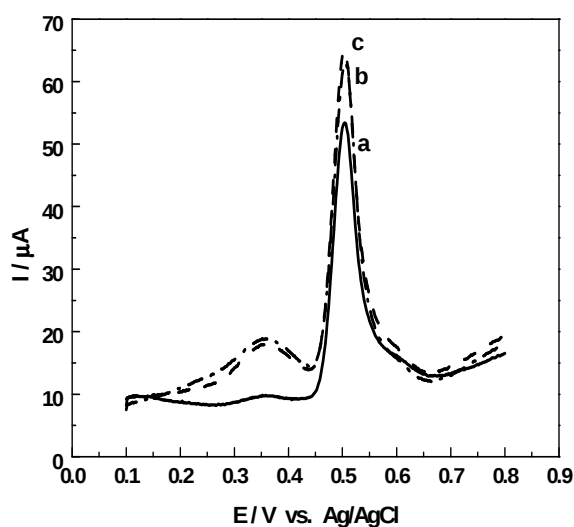


**Figura 56:** Voltamogramas de Onda Quadrada para tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 em presença de BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), e para oxidação de GP ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em eletrodos de pasta de carbono constituído por: vaselina (a e b) e óleo mineral (c e d), respectivamente. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .

Conforme apresentado na **Figura 56**, a resposta de GP em EPC confeccionado com óleo mineral apresentou uma melhor definição que a obtida em EPC preparado com vaselina, ou seja, com uma menor resposta interferente. Portanto, o uso deste aglutinante foi otimizado na constituição do EPC. Diante desse resultado, a técnica de VOQ foi então otimizada para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

Após a escolha do melhor aglutinante, avaliou-se a composição de pasta de carbono que seria utilizada no trabalho. Para tal, a oxidação de GP ( $2,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi investigada na presença de BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob três composições de pasta de carbono: 75/25, 70/30 e 80/20 (m/m grafite/óleo mineral).

Como mostrado na **Figura 57**, GP apresentou uma maior  $I_p$  frente à pasta 80/20, no entanto, uma menor interferência do pico exibido em + 0,35V foi observada quando utilizada a pasta 70/30, sem grande prejuízo na corrente de pico do antioxidante, diante desta resposta, essa composição foi adotada para os demais estudos.

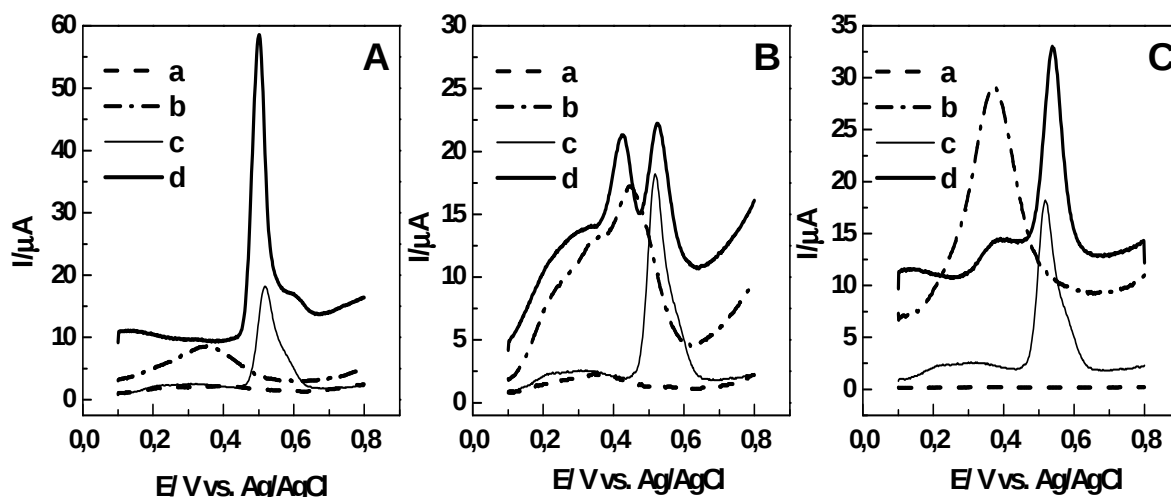


**Figura 57:** Voltamogramas de Onda Quadrada para oxidação de GP ( $2,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 em presença de BCTA ( $2,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob diferentes composições da pasta de carbono: (a) 70/30% (b) 75/25% e (c) 80/20% (m/m grafite/óleo mineral). Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .

#### 3.4.4. Influência do uso de diferentes tipos de surfactantes na oxidação de GP

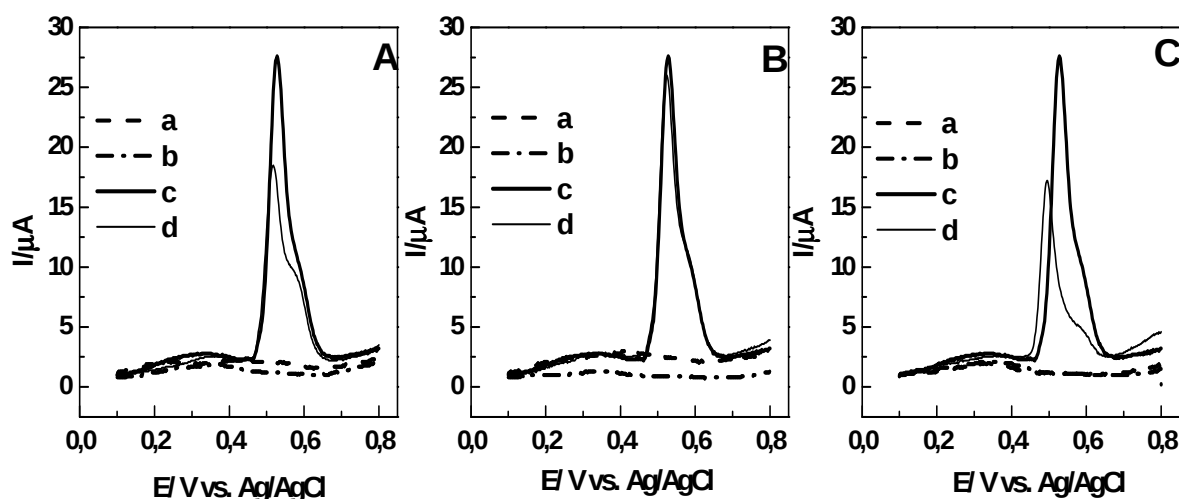
Assim como para o estudo de TBHQ, a influência de diferentes tipos de surfactantes também foi avaliada na oxidação eletroquímica de GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) sobre a superfície do EPC. Os surfactantes investigados além de BCTA (catiônico) foram: dodecilsulfato de sódio - DSS (aniônico) e Triton X-100 - TX-100 (neutro), todos na concentração de  $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Os voltamogramas obtidos nestes estudos são apresentados a seguir (**Figura 58**).

De acordo com os resultados obtidos é possível constatar que o surfactante DSS não favoreceu a oxidação de GP, comprometendo o pico do mesmo e ainda apresentou uma resposta interferente (**Figura 58 B**). Já o surfactante TX-100 melhorou discretamente a resposta de GP, mas assim como DSS, também exibiu um pico interferente (**Figura 58 C**), portanto, o uso do surfactante catiônico (**Figura 58 A**) mostrou-se mais adequado para o desenvolvimento da metodologia quando comparado aos demais tipos de surfactantes.



**Figura 58:** Voltamogramas de Onda Quadrada para: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00, (b) surfactante em estudo ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de GP, (c) GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência do surfactante em estudo, e (d) GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença do surfactante em estudo ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ): (A) BCTA, (B) DSS e (C) TX-100. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .

Diante deste comportamento, a influência de outros compostos contendo o grupo amônio com diferentes tamanhos de cadeia carbônica foi avaliada na oxidação de GP, sendo eles: brometo de tetrametilamônio (BTMA), brometo de tetraetilamônio (BTEA) e brometo de tetradeciltrimetilamônio (BTDTA) (**Figura 59**).



**Figura 59:** Voltamogramas de Onda Quadrada para: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00, (b) Composto de amônio em estudo ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de GP, (c) GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência do composto de amônio em estudo, e (d) GP ( $2,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença do composto de amônio em estudo ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ): (A) BTMA, (B) BTEA e (C) BTDTA. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{\text{sw}} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .

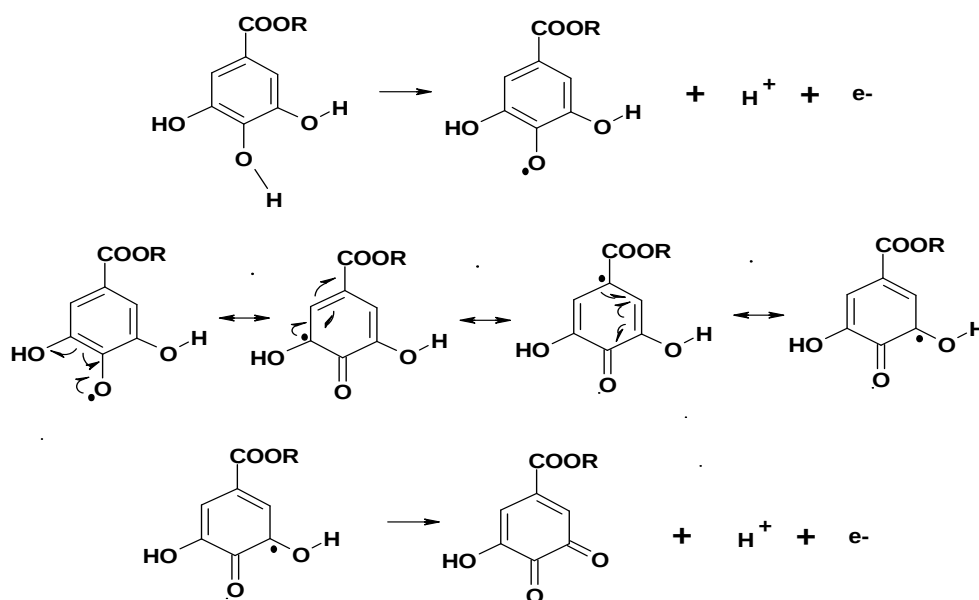
Como verificado, todos os compostos investigados prejudicaram a oxidação de GP, sendo que BTDTA em maior extensão que BTMA e BTEA, comportamento totalmente diferente de quando utilizado BCTA. Desta forma, este surfactante foi então adotado para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

### 3.4.5. Influência do pH do eletrólito suporte

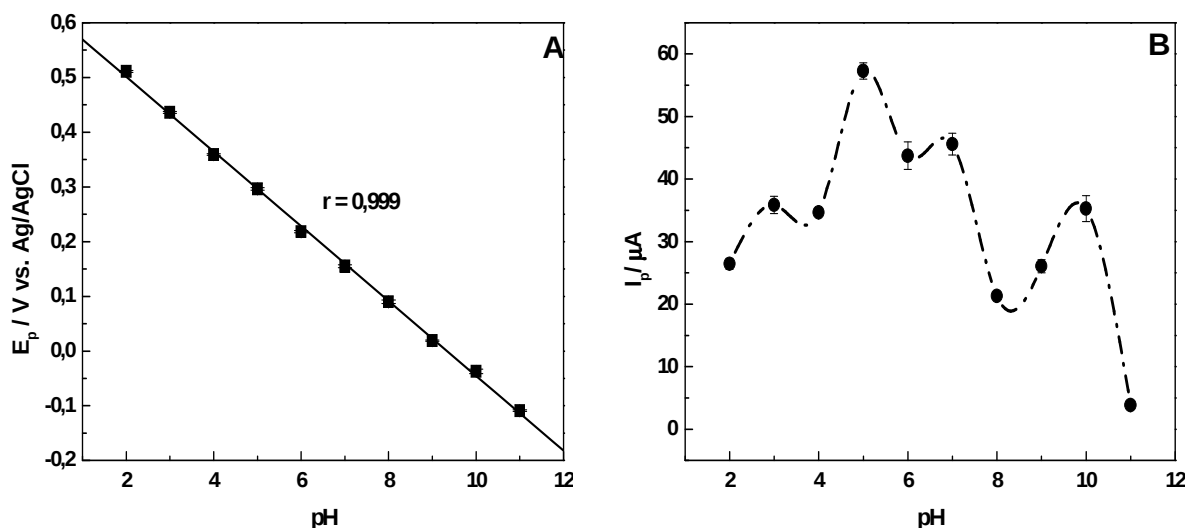
Definido o uso do surfactante BCTA para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica, o passo seguinte foi avaliar a influência do pH do eletrólito suporte, para tal, a oxidação de GP ( $2,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi estudada em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  no intervalo de pH de 2 a 11 em presença deste surfactante ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ).

O pH do eletrólito suporte influenciou consideravelmente a oxidação de GP, conforme é possível verificar na **Figura 60 A e B**. Assim como para TBHQ, o aumento de pH promoveu o deslocamento do  $E_p$  de GP para valores mais negativos, comportamento o qual, revela o envolvimento de prótons na oxidação deste antioxidante, também em concordância com o reportado na literatura (GUNKEL *et al.*, 1998). Uma relação linear foi observada em todo intervalo de pH estudado (**Figura 60B**) segundo a equação de regressão linear:  $E_p \text{ (mV)} = 637,85 - 68,31 \times \text{pH}$  ( $r = 0,999$ ). A partir da inclinação de  $68,31 \text{ mV/pH}$  obtida para a

relação  $E_p$  vs. pH, a aplicação da equação:  $\Delta E_p / \Delta pH = 59 m_{H^+}/n$ , e considerando que Galato de Propila é normalmente oxidado através da transferência de 2 elétrons (GUNKEL *et al.*, 1998) obtém-se um valor igual a 2,31, ou seja, dois prótons são envolvidos na etapa química (Esquema 3). Estes resultados estão em concordância com aqueles obtidos para oxidação eletroquímica de alquil galatos em eletrodo de carbono vítreo.



**Esquema 3:** Mecanismo de oxidação de alquilgalatos (GUNKEL *et al.*, 1998).



**Figura 60:** Influência do pH do eletrólito suporte no  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) na oxidação de GP ( $2,01 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), através da técnica de VOQ. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .

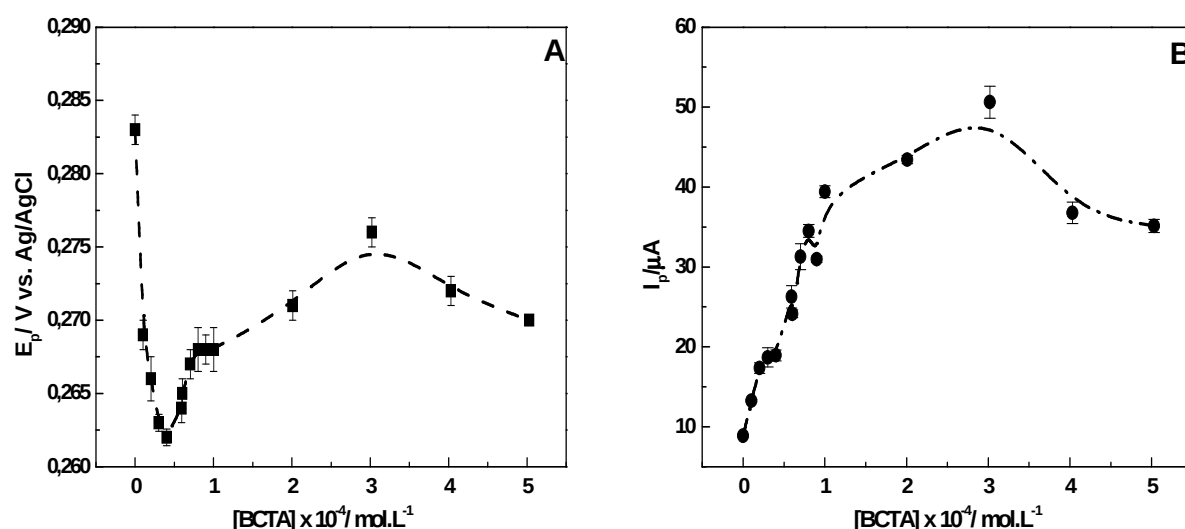
A  $I_p$  de GP também foi influenciada pelo pH do meio, tendo sido obtido valor máximo em pH 5,00, considerando que neste meio a resposta do antioxidante apresentou uma melhor definição, este pH foi então selecionado para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica.

### 3.4.6. Estudo da concentração do surfactante BCTA

Diante do sucesso do uso de BCTA na oxidação de GP, a concentração deste surfactante foi outro parâmetro avaliado para o desenvolvimento da metodologia. Este estudo foi realizado em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,00 para  $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de antioxidante (Figura 61).

Como é possível verificar (Figura 61A), o aumento da concentração de BCTA provocou um acentuado deslocamento do pico de GP para valores menos positivos de potencial até  $4,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , contudo, a partir desta concentração de BCTA o  $E_p$  voltou a se deslocar para valores mais positivos.

Por outro lado, o aumento da concentração do surfactante provocou um aumento da  $I_p$  de GP, tendo sido encontrado um valor máximo com a concentração de  $3,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA, portanto, a mesma foi então otimizada para a metodologia.



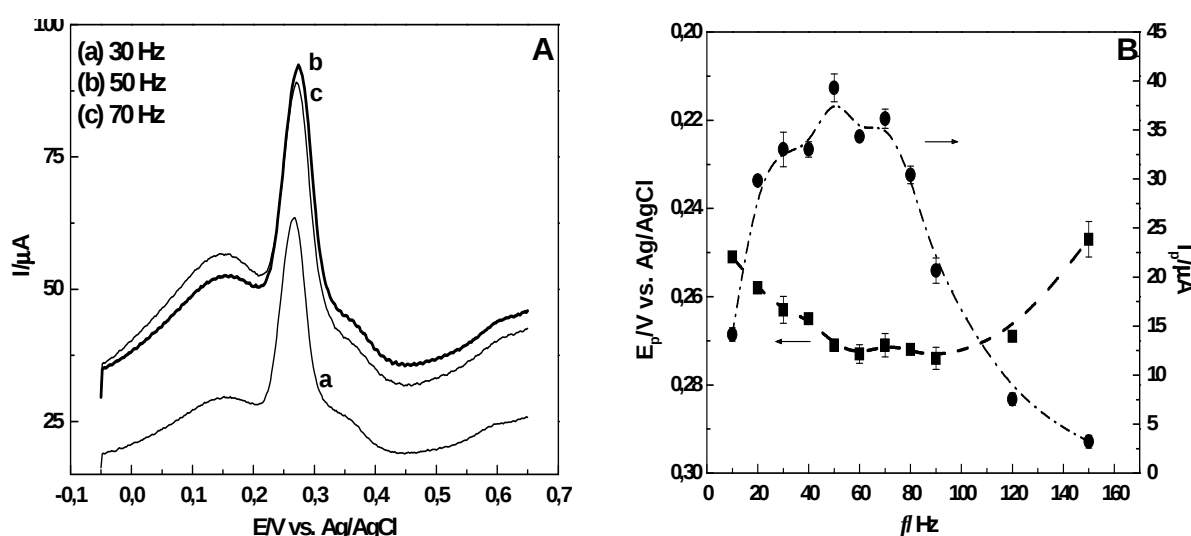
**Figura 61:** Influência da concentração de BCTA no  $E_p$ (A) e  $I_p$  (B) de GP ( $2,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) através da técnica VOQ, em tampão BR ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) pH 5,00. Parâmetros:  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .

### 3.4.7. Otimização de Parâmetros Instrumentais

Os parâmetros instrumentais que influenciam na resposta voltamétrica obtida pela técnica de VOQ, os quais se destacam, a frequência de aplicação de pulsos de potencial ( $f$ ), a amplitude de aplicação dos pulsos de potencial ( $E_{sw}$ ) e o incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ) foram avaliados nos seguintes intervalos:  $f$  de 10 a 150 Hz,  $E_{sw}$  de 25 a 100 mV e  $\Delta E_s$  de 2 a 10 mV, para oxidação de GP em EPC na presença de BCTA.

Inicialmente, avaliou-se a influência da  $f$  sobre a intensidade da corrente de pico e no comportamento voltamétrico do antioxidante GP ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $3,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,00, mantendo-se constante os parâmetros  $E_{sw}$  e  $\Delta E_s$  iguais a 25 mV e 2 mV, respectivamente.

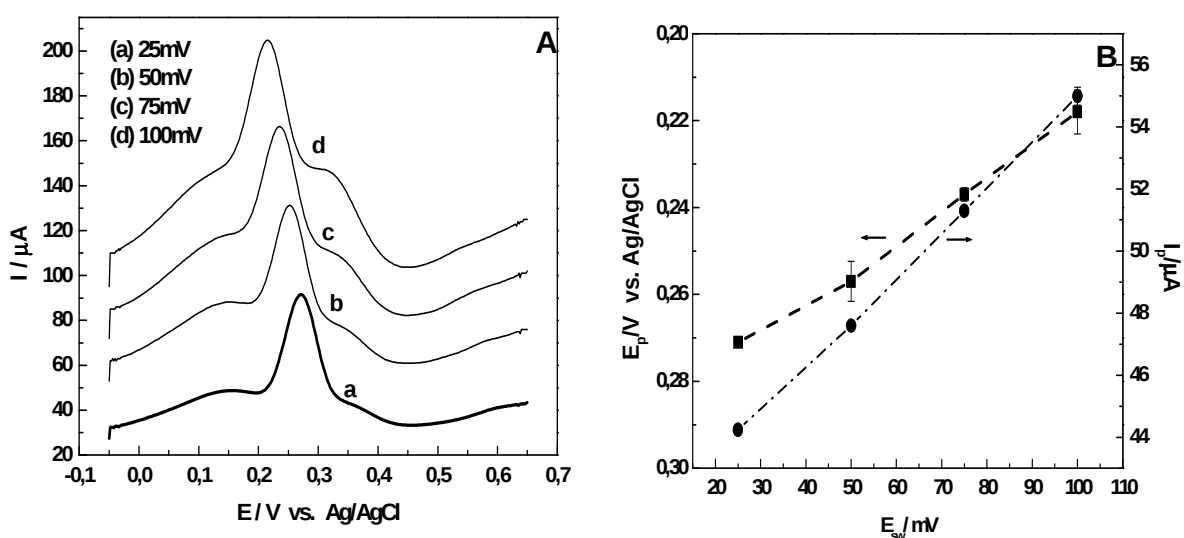
O aumento da  $f$  (**Figura 62B**) proporcionou o aumento da  $I_p$  de GP até 50 Hz, a partir desta frequência, esse parâmetro não influenciou positivamente a resposta do antioxidante em EPC. Considerando que a resposta voltamétrica de GP nesta frequência apresentou melhor definição (**Figura 62A**), este valor foi adotado para demais estudos.



**Figura 62:** Voltamogramas de Onda Quadrada (A) para influência da variação da frequência ( $f$ ) (30, 50 e 70 Hz) na oxidação de GP ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $3,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,00 ( $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ). O voltamograma em negrito corresponde ao obtido sob a frequência otimizada de 50 Hz. (B) Influência da  $f$  no  $E_p$  e  $I_p$  de GP.

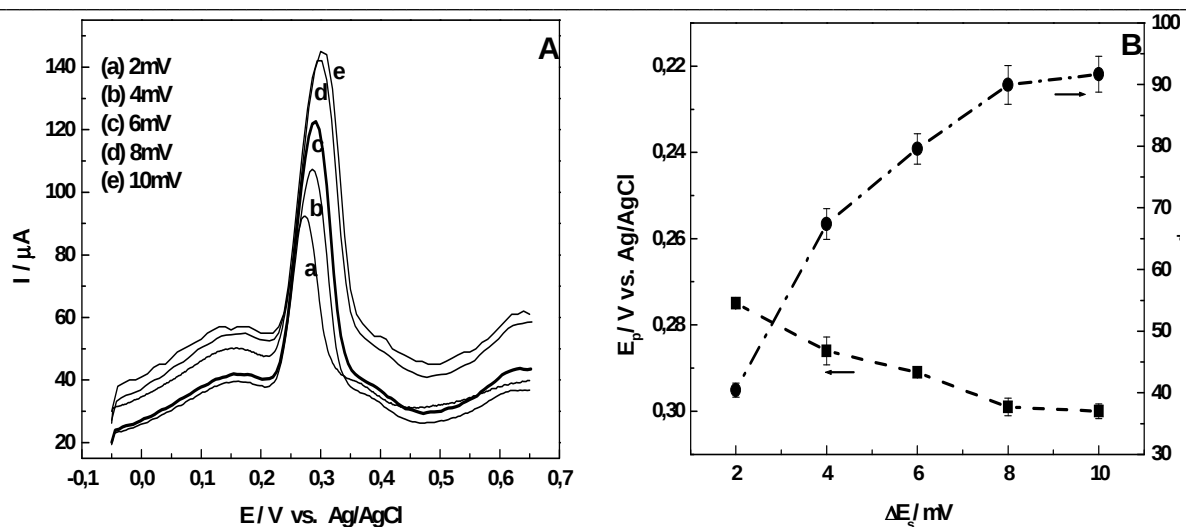
Na tentativa de melhorar a sensibilidade voltamétrica e os limites de detecção e quantificação do método proposto, foi então avaliado a influência de  $E_{sw}$  na oxidação de GP sob condições similares ao estudo anterior, mantendo-se constante  $f$  de 50 Hz e  $\Delta E_s$  igual a 2 mV.

Como verificado (**Figura 63**), a  $I_p$  do GP aumentou proporcionalmente com o aumento de  $E_{sw}$ . No entanto, uma melhor definição do pico do antioxidante foi obtida em 25 mV, uma vez que valores maiores de amplitude promoveram o alargamento do sinal eletroquímico, além de comprometer a linha base. Portanto, este valor foi adotado para a metodologia em desenvolvimento.



**Figura 63:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada para uma solução  $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de GP na presença de BCTA ( $3,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,00, sob as amplitudes estudadas ( $f = 50 \text{ Hz}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ). O voltamograma em negrito corresponde a  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ , valor otimizado no estudo. (B) Influência da variação da amplitude ( $E_{sw}$ ) na resposta de  $I_p$ .

Utilizando os parâmetros otimizados de  $f$  e  $E_{sw}$ , iguais a 50 Hz e 25 mV, respectivamente, estudou-se a influência de  $\Delta E_s$  na melhora da detectabilidade analítica da VOQ para oxidação de GP, **Figura 64**. De acordo com os dados obtidos, a corrente de pico aumenta gradativamente com o aumento do incremento de varredura. Entretanto, uma melhor definição da  $I_p$  é obtida até 6 mV, portanto, este valor foi selecionado para o procedimento proposto.



**Figura 64:** (A) Voltamogramas de onda quadrada de GP ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH = 5,00, na presença de BCTA ( $3,02 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob diferentes incrementos de varredura ( $f = 50 \text{ Hz}$  e  $E_{\text{sw}} = 25 \text{ mV}$ ). O voltamograma em negrito corresponde a  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ , valor otimizado no estudo. (B) Influência do incremento de varredura na resposta do  $E_p$  e  $I_p$  de GP.

### 3.4.8. Resumo dos Parâmetros Seleccionados

Todas as condições investigadas e otimizadas, para a determinação de GP utilizando EPC em amostra de biodiesel estão reunidas na **Tabela 11**.

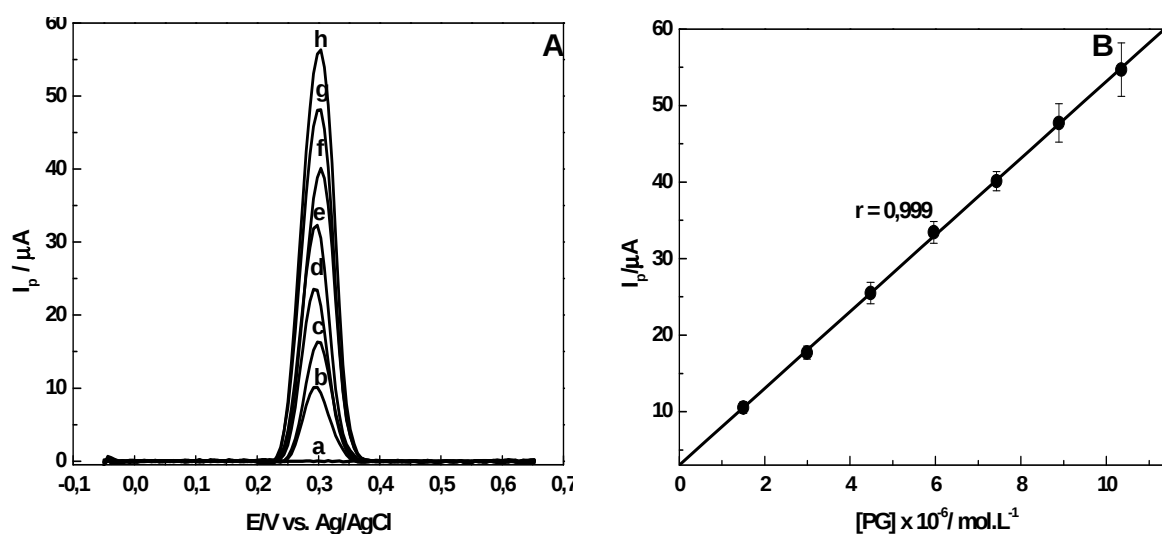
**Tabela 11:** Resumo dos parâmetros otimizados para determinação de GP utilizando EPC empregando a técnica de VOQ.

| Parâmetro Avaliado                | Intervalo Avaliado                                 | Seleccionado                             |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Composição do EPC                 | (70/30; 75/25; 80/20) % (m/m grafite/óleo mineral) | 70/30 %                                  |
| Tipo e Concentração do eletrólito | Tampão BR ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ )            | Tampão BR ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ )  |
| pH                                | 2,0 - 11,0                                         | 5,00                                     |
| Tipo de Surfactante               | BCTA, DSS e TX-100                                 | BCTA                                     |
| Composto de Amônio                | BTMA, BTEA, BTDTA e BCTA                           | BCTA                                     |
| Conc. do Surfactante              | 0 - $5,03 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$       | $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ |
| Frequência do Pulso               | 10 - 150 Hz                                        | 50 Hz                                    |
| Amplitude do Pulso                | 25 - 100 mV                                        | 25 mV                                    |
| Incremento de Varredura           | 2 - 10 mV                                          | 6 mV                                     |

### 3.4.9. Construção da Curva Analítica

Utilizando as condições otimizadas de trabalho, estudos foram realizados monitorando a oxidação eletroquímica de GP em diferentes concentrações. Alguns dos voltamogramas registrados nas concentrações entre  $1,50 \times 10^{-6}$  e  $1,03 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> são apresentados na **Figura 65A**, com a sua linha base corrigida, este procedimento foi efetuado para proporcionar uma melhor visualização do aumento da  $I_p$  com a concentração do antioxidante. A partir dos valores de  $I_p$  obtidas dos voltamogramas, foram construídas curvas analíticas, em que cada ponto representa a média de três medidas experimentais. Uma destas curvas é apresentada na **Figura 65B**.

Em todo intervalo de concentração estudado foi obtida uma relação linear com  $I_p$ , com equação de regressão linear:  $I_p (\mu A) = 2,99 + 4,99 [GP] (\mu mol L^{-1})$ ,  $r = 0,996$ , cujos valores dos parâmetros obtidos estão reunidos na **Tabela 12**.



**Figura 65:** (A) Voltamogramas de Onda Quadrada para diferentes concentrações do padrão de GP, onde: (b)  $1,50 \times 10^{-6}$ ; (c)  $2,99 \times 10^{-6}$ ; (d)  $4,48 \times 10^{-6}$ ; (e)  $5,96 \times 10^{-6}$ ; (f)  $7,43 \times 10^{-6}$ ; (g)  $8,89 \times 10^{-6}$ ; (h)  $1,03 \times 10^{-5}$  e em (a) tampão BR pH 5,00,  $0,04 \text{ mol L}^{-1} + 3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA. Parâmetros:  $f = 50 \text{ Hz}$ ,  $E_{sw} = 25 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração molar de GP.

**Tabela 12:** Parâmetros quantitativos do método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VOQ, para determinação de GP utilizando EPC, na presença do surfactante BCTA.

| Parâmetros                                                     | Curva Analítica       |
|----------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Intervalo de concentração ( $\mu\text{mol. L}^{-1}$ )          | 1,5 - 10,30           |
| Intercepto ( $\mu\text{A}$ ) <sup>a</sup>                      | 2,99                  |
| Inclinação ( $\mu\text{A.L.}\mu\text{mol}^{-1}$ ) <sup>a</sup> | 4,99                  |
| Coefficiente de correlação (r) <sup>a</sup>                    | 0,996                 |
| LD ( $\text{mol L}^{-1}$ )                                     | $2,90 \times 10^{-7}$ |
| LQ ( $\text{mol L}^{-1}$ )                                     | $9,70 \times 10^{-7}$ |

<sup>a</sup> Média de três curvas analíticas; D.P. = Desvio Padrão; LD = Limite de Detecção; LQ = Limite de Quantificação.

Os limites de detecção e quantificação foram determinados utilizando as seguintes relações matemáticas:  $(3 \times \text{DP}/b)$  e  $(10 \times \text{DP}/b)$ , respectivamente, onde **DP** representa o desvio padrão da média aritmética de dez medidas de correntes do branco, obtidas no mesmo potencial de oxidação de GP, e **b**, a inclinação da curva analítica (**Tabela 12**) (LOPES *et al.*, 2007; MELO *et al.*, 2009; PEDROSA *et al.*, 2003; RIBANI *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2006 a; SOUZA *et al.*, 2007).

Os LD e LQ para o método proposto foram respectivamente,  $2,90 \times 10^{-7}$  e  $9,70 \times 10^{-7}$   $\text{mol L}^{-1}$ , indicando detectibilidade adequada aos propósitos analíticos deste trabalho, além disso, esses valores são ligeiramente inferiores aos obtidos por Agüí e autores (1996), respectivamente:  $4,00 \times 10^{-7}$  e  $1,00 \times 10^{-6}$   $\text{mol L}^{-1}$ .

#### 3.4.10. Testes iniciais para aplicação da metodologia eletroanalítica

Atualmente, testes iniciais estão sendo conduzidos de forma a avaliar a recuperação de GP na presença da amostra de biodiesel utilizando a metodologia proposta.

### 3.5. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação de simultânea de BHA e TBHQ em amostras de biodiesel utilizando EPC

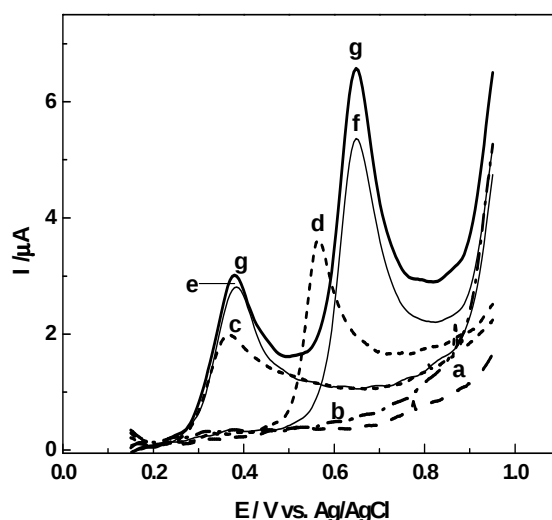
Como descrito na introdução deste trabalho (Tópico 1.7), Guzman e colaboradores (2009), apresentaram recentemente um estudo onde demonstraram um maior efeito sinérgico para os antioxidantes BHA e TBHQ, na estabilização de amostras de biodiesel de soja e gordura, contra processos oxidativos. Logo, é de interesse a determinação simultânea destes compostos nestas matrizes. Portanto, uma metodologia eletroanalítica utilizando EPC vem sendo desenvolvida com este propósito. Considerando que TBHQ foi determinado com sucesso em amostras de biodiesel de soja em EPC, empregando a técnica de VVL, essas condições foram adotadas para realização deste estudo.

### 3.5.1. Oxidação eletroquímica de BHA e TBHQ em EPC

A resposta voltamétrica de BHA ( $1,97 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi avaliada inicialmente, em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,0 contendo 2% de metanol (v/v), empregando a técnica de VVL em EPC (75/25 m/m grafite/ óleo mineral). Este meio foi adotado considerando a baixa solubilidade de BHA em meio aquoso, e, por já ter sido utilizado com sucesso na determinação simultânea destes antioxidantes juntamente com BHT, em amostras de maionese, por Raymundo e colaboradores (2007).

Conforme observado na **Figura 66**, os voltamogramas de varredura linear (**c** e **d**) obtidos individualmente para TBHQ e BHA apresentaram picos em aproximadamente, +0,36 V e +0,56 V, respectivamente, ou seja, com uma diferença de potencial de cerca de 200 mV. Em seguida, a influência do surfactante BCTA foi avaliada no comportamento voltamétrico de cada antioxidante (**Figura 66**, voltamogramas **e** e **f**), para isso, a concentração utilizada do tensoativo foi  $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , concentração otimizada na metodologia de determinação individual de TBHQ (Seção 3.2).

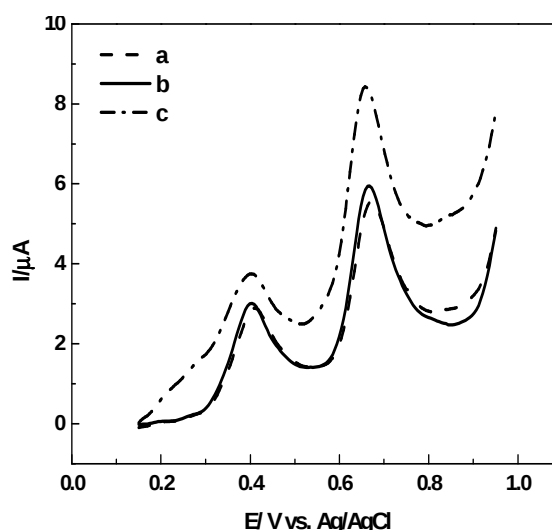
Como é possível verificar, para ambos os antioxidantes (**Figura 66**, voltamogramas **f** e **g**), a adição de BCTA promoveu o aumento da corrente de pico, melhorando, portanto, a definição da resposta voltamétrica. Além disso, a adição deste surfactante promoveu o deslocamento dos picos dos antioxidantes, de forma mais significativa para BHA, o qual ampliou a separação dos picos de BHA e TBHQ para cerca 270 mV, possibilitando uma melhor resolução e favorecendo o desenvolvimento de uma metodologia eletroanalítica para determinação simultânea destes antioxidantes.



**Figura 66:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) Tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 contendo 2% metanol (v/v), (b) BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de antioxidantes, (c) TBHQ ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, (d) BHA ( $1,97 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BCTA, (e) TBHQ ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), (f) BHA ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), (g) TBHQ ( $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e BHA ( $1,97 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

### 3.5.2. Estudo da Composição do Eletrodo de Pasta de Carbono

A influência da composição da pasta de carbono foi avaliada na resposta voltamétrica de BHA e TBHQ, em presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) (**Figura 67**).



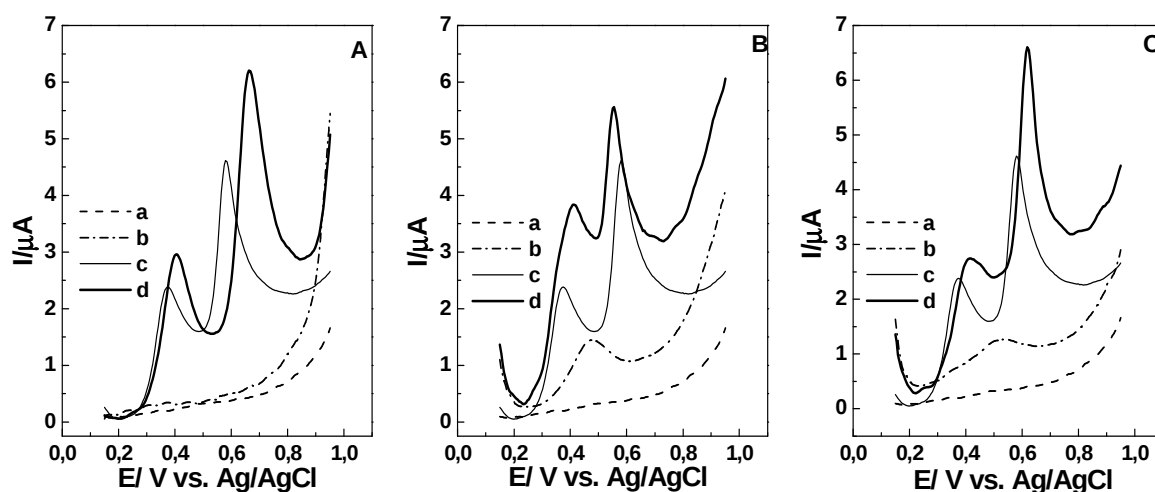
**Figura 67:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de BHA ( $2,04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 + 2% metanol, em presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) sob diferentes composições da pasta de carbono: (a) 70/30% (b) 75/25% e (c) 80/20% (m/m grafite/óleo mineral).

A composição otimizada para este estudo foi 75/25% (m/m grafite/ óleo mineral), já que sob estas condições, a resposta voltamétrica de BHA e TBHQ apresentou uma melhor definição, assim como, uma melhor linha base (**Figura 67**).

### 3.5.3. Influência do uso de diferentes tipos de surfactantes na oxidação de GP

Assim como, para o estudo individual de TBHQ e GP, a influência de diferentes tipos de surfactantes também foi investigada na oxidação simultânea de BHA e TBHQ, os resultados obtidos para este estudo são apresentados na **Figura 68**.

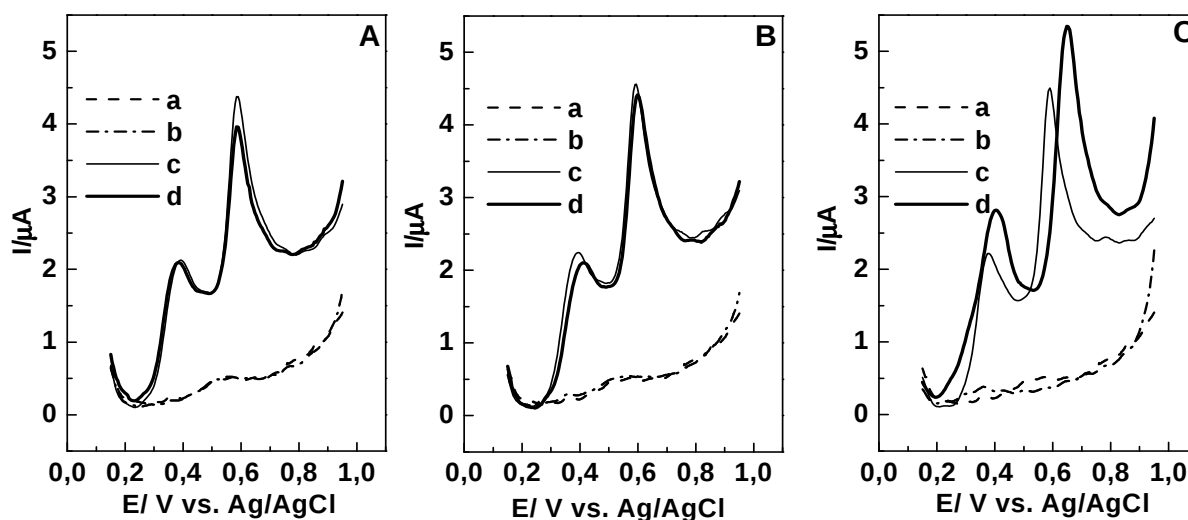
Novamente foi obtida uma melhor resposta para os antioxidantes investigados, quando utilizado o surfactante catiônico BCTA. Os demais surfactantes empregados neste estudo, DSS (aniônico) e TX-100 (neutro), além de exibirem um pico interferente, também prejudicaram a resposta simultânea de BHA e TBHQ.



**Figura 68:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 + 2% metanol, (b) surfactante em estudo ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência de BHA e TBHQ, (c) BHA ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na ausência do surfactante em estudo, e (d) BHA ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,06 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença do surfactante em estudo ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ): (A) BCTA, (B) DSS e (C) TX-100.

Os compostos de amônio, BTMA, BTEA e BTDTA, também foram investigados na oxidação simultânea de BHA e TBHQ, em EPC. Conforme visualizado na **Figura 69**, os

compostos de cadeia menor, BTMA e BTEA praticamente não influenciaram na resposta voltamétrica de BHA e TBHQ, enquanto, BTDTA agiu positivamente. No entanto, ainda sim, BCTA, foi o composto que promoveu uma melhora significativa nos picos dos antioxidantes, tendo sido, portanto, selecionado para os demais estudos.



**Figura 69:** Voltamogramas de Varredura Linear para: (a) tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 2,00 + 2% metanol, (b) Composto de amônio em estudo ( $6,00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência de BHA e TBHQ, (c) BHA ( $2,12 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) e TBHQ ( $2,07 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na ausência do composto em estudo, e (d) BHA ( $2,12 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) e TBHQ ( $2,07 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) na presença do composto em estudo ( $6,00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>): (A) BTMA, (B) BTEA e (C) BTDTA.

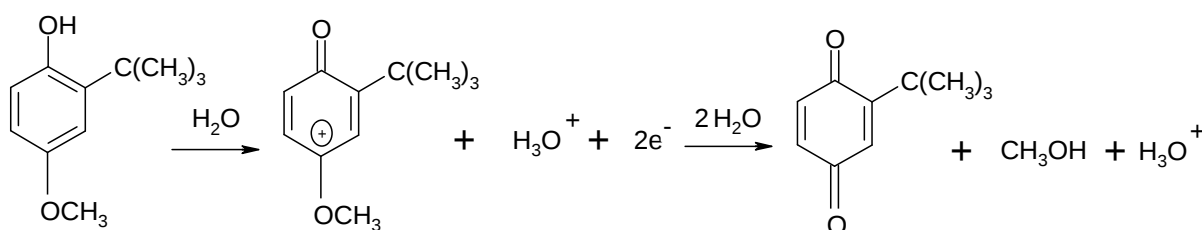
### 3.5.4. Influência do pH do eletrólito suporte

A oxidação eletroquímica de BHA e TBHQ foi avaliada em tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> no intervalo de pH de 2,00 a 10,00 (contendo 2% metanol v/v) em presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>).

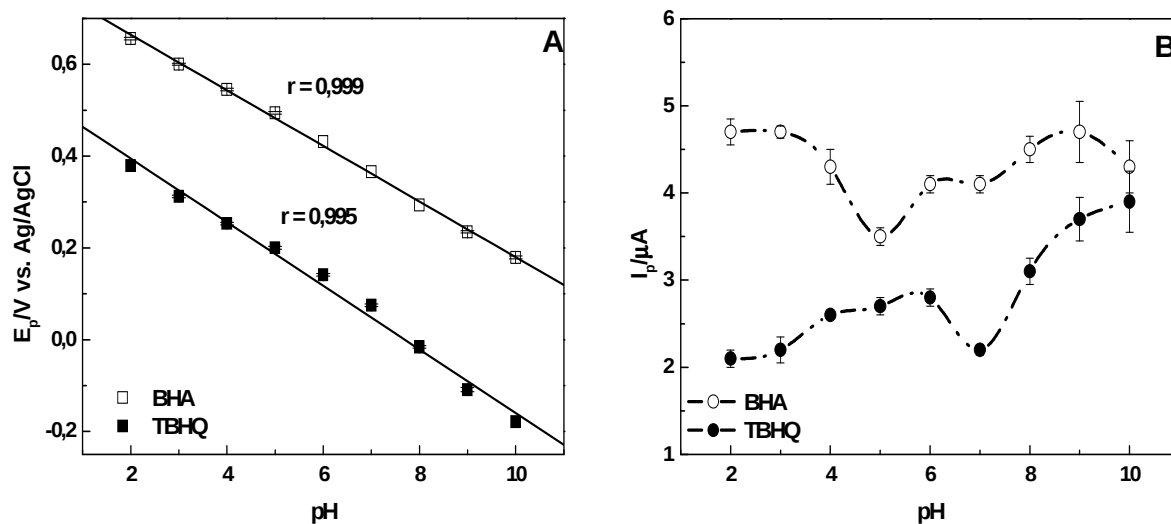
Como verificado na **Figura 70A**, o aumento do pH do eletrólito suporte promoveu o deslocamento do  $E_p$  tanto de BHA, como de TBHQ para valores negativos, indicando que o processo eletródico para ambos, é influenciado por reações de protonação, portanto, em concordância com o descrito na literatura (CORTÉS *et al.*; 1993; CORTÉS *et al.*; 1994; FUENTE *et al.*, 1999; TONMANEE & ARCHER *et al.*, 1982).

Para ambos os antioxidantes, uma relação linear foi observada em todo intervalo de pH investigado com as seguintes equações de regressão linear:  $E_{pBHA}$  (mV) = 786,63 - 60,72 x pH

( $r = 0,999$ ) e  $E_{pTBHQ}$  (mV) =  $534,67 - 69,50 \times \text{pH}$  ( $r = 0,995$ ). Utilizando a relação  $\Delta E_p / \Delta \text{pH} = 59 \text{ m}_{H^+}/n$ , as inclinações obtidas do gráfico  $E_p$  vs. pH para BHA e TBHQ, 60,72 mV/pH e 69,50 mV/pH, respectivamente, e considerando que estes antioxidantes são normalmente oxidados através da transferência de 2 elétrons (CORTÉS *et al.*, 1993; CORTÉS *et al.*, 1994; FUENTE *et al.*, 1999; MEDEIROS *et al.*, 2010; TONMANEE & ARCHER *et al.*, 1982) obtém-se desta forma os valores de  $m_{H^+}$  de 2,06 para BHA e 2,35 para TBHQ. Estes resultados indicam que o processo de oxidação destes compostos ocorre via transferência eletrônica envolvendo dois elétrons e dois prótons, portanto, em concordância com a literatura (Esquema 2 na página 39 e Esquema 4).

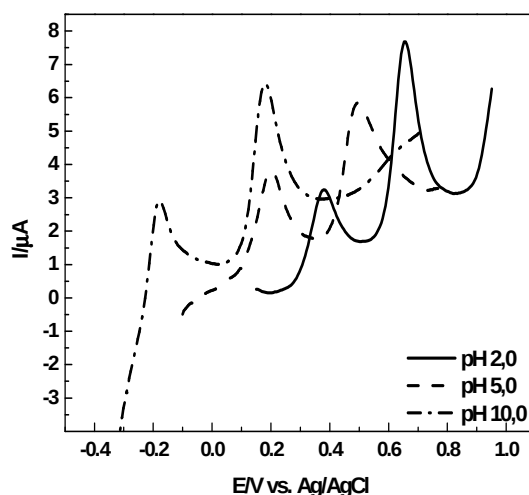


**Esquema 4:** Mecanismo de oxidação de BHA (FUENTE *et al.*, 1999; MEDEIROS *et al.*, 2010).



**Figura 70:** Influência do pH do eletrólito suporte no  $E_p$  (A) e  $I_p$  (B) na oxidação de BHA ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), através da técnica de VVL.

A influência do pH na  $I_p$  dos antioxidantes em estudo também é mostrada na **Figura 70(B)**, onde se observa um valor máximo para BHA em pH 2,00 e para TBHQ em pH 10,00. No entanto, como é possível verificar na **Figura 71**, que o aumento do pH promove o alargamento dos picos dos antioxidantes e o comprometimento da linha base, portanto, embora em pH 2,00 não tenha sido observada a corrente máxima para TBHQ, o mesmo foi adotado para a metodologia em desenvolvimento por ter exibido uma melhor definição para ambos os picos.



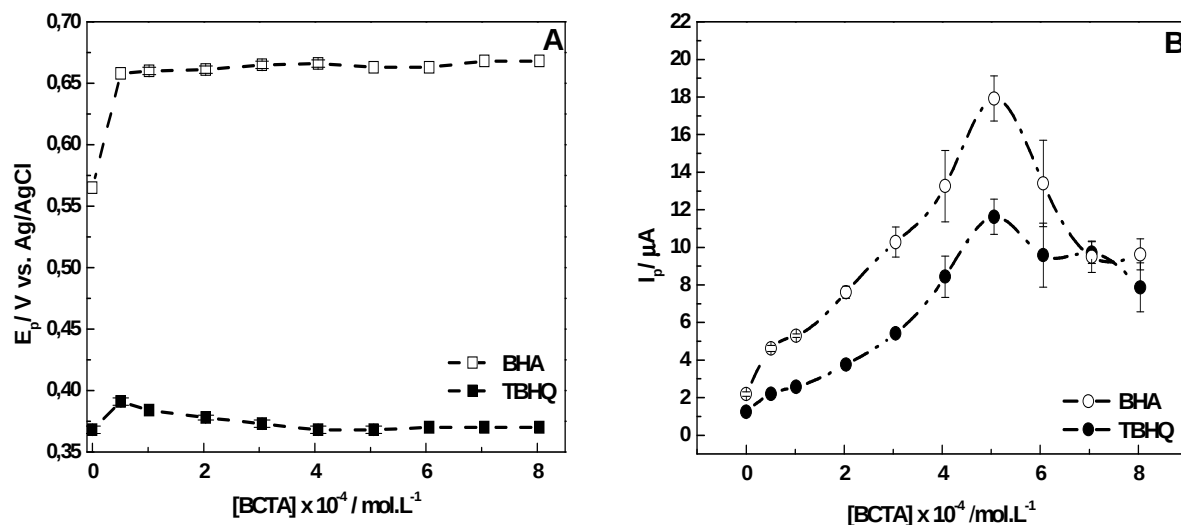
**Figura 71:** Voltamogramas de Varredura Linear para oxidação de BHA ( $2,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de BCTA ( $6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), em diferentes pHs do tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (contendo 2% metanol v/v).

### 3.5.5. Estudo da concentração do surfactante BCTA

A influência da concentração de BCTA foi avaliada na oxidação simultânea de BHA ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e TBHQ ( $2,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,00 contendo 2% v/v de metanol (**Figura 72**). No meio estudado (pH 2,0) e no intervalo de concentração avaliado para BCTA, os  $E_p$  de BHA e TBHQ não foram significativamente influenciados pelo aumento da concentração do surfactante (**Figura 72 A**). Enquanto que as  $I_p$  dos antioxidantes sofreram um aumento do seu valor até a concentração de  $5,06 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA, valor abaixo da CMC -  $9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  (STADLOBER *et al.*, 1996).

No entanto, é importante destacar que para altas concentrações de surfactante, as respostas tornam-se muito instáveis em função da grande quantidade de bolhas formadas no meio. Diante deste comportamento, a concentração de  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  foi então selecionada

para esta metodologia.



**Figura 72:** Influência da concentração de BCTA no  $E_p$ (A) e  $I_p$ (B) de BHA ( $2,07 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) e TBHQ ( $2,07 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) através da técnica VVL, em tampão BR (0,04 mol L<sup>-1</sup>) pH 2,00 contendo 2% metanol (v/v).

### 3.5.6. Resumo dos Parâmetros Seleccionados

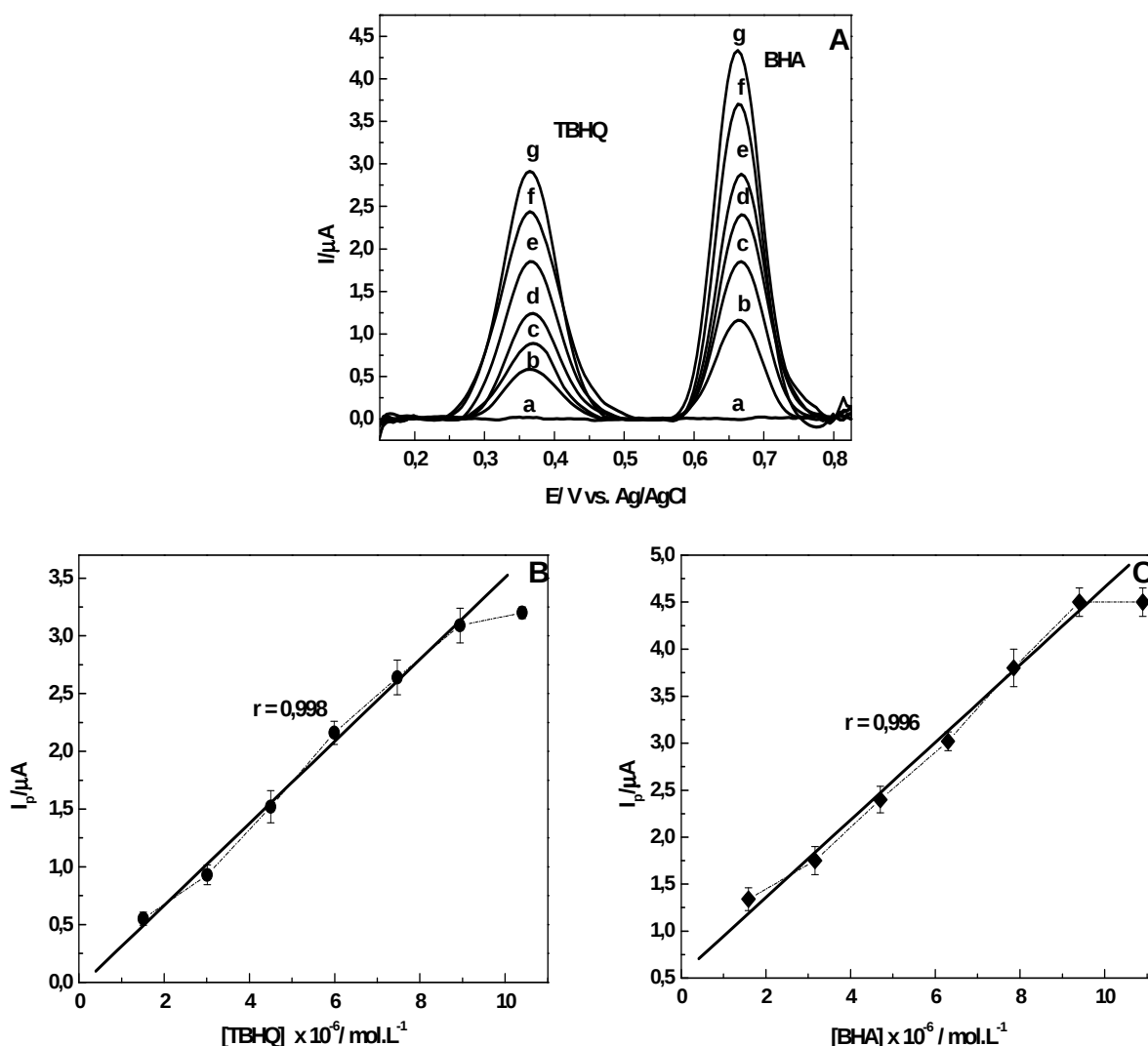
Na **Tabela 13** estão reunidas todas as condições seleccionadas e utilizadas, para a determinação simultânea de BHA e TBHQ em EPC, empregando a técnica de VVL.

**Tabela 13:** Resumo dos parâmetros otimizados e utilizados para determinação de BHA e TBHQ utilizando EPC, empregando a técnica de VVL.

| Parâmetro Avaliado                | Intervalo Avaliado                                 | Seleccionado                              |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Composição do EPC                 | (70/30; 75/25; 80/20) % (m/m grafite/óleo mineral) | 75/25 %                                   |
| Tipo e Concentração do eletrólito | Tampão BR (0,04 mol L <sup>-1</sup> )              | Tampão BR (0,04 mol L <sup>-1</sup> )     |
| pH                                | 2,0 - 10,0                                         | 2,00                                      |
| Tipo de Surfactante               | BCTA, DSS e TX-100                                 | BCTA                                      |
| Composto de Amônio                | BTMA, BTEA, BTDTA e BCTA                           | BCTA                                      |
| Concentração do Surfactante       | 0 - $8,04 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup>      | $3,00 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> |
| Velocidade de varredura           | -                                                  | 100 mV s <sup>-1</sup>                    |

### 3.5.7. Construção das Curvas Analíticas

Sob as condições previamente otimizadas (Tabela 13) foram construídas curvas analíticas para os antioxidantes BHA e TBHQ nos intervalos de concentração de  $1,59 \times 10^{-6}$  -  $1,09 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e  $1,51 \times 10^{-6}$  -  $1,04 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os voltamogramas apresentados para este estudo, também tiveram sua linha base corrigida, de forma a possibilitar uma melhor visualização do aumento da  $I_p$  em função do aumento da concentração dos antioxidantes avaliados (Figura 73A).



**Figura 73:** (A) Voltamogramas de Varredura Linear para diferentes concentrações de TBHQ e BHA, respectivamente: (b)  $1,51 \times 10^{-6}$  e  $1,59 \times 10^{-6}$ ; (c)  $3,01 \times 10^{-6}$  e  $3,16 \times 10^{-6}$ ; (d)  $4,50 \times 10^{-6}$  e  $4,70 \times 10^{-6}$ ; (e)  $5,99 \times 10^{-6}$  e  $6,30 \times 10^{-6}$ ; (f)  $7,47 \times 10^{-6}$  e  $7,85 \times 10^{-6}$ ; (g)  $8,94 \times 10^{-6}$  e  $9,40 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> em (a) tampão BR pH 2,00,  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  +  $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA + 2% metanol (v/v),  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Dependência da  $I_p$  em função da concentração molar de TBHQ (B) e BHA (C).

A partir dos valores de  $I_p$  obtidos dos voltamogramas foram construídas as curvas analíticas (**Figura 73 B e C**), em que cada ponto representa a média de três medidas experimentais. Relações lineares somente foram obtidas nos intervalos de concentração de  $1,59 \times 10^{-6}$  a  $9,40 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> para BHA e  $1,51 \times 10^{-6}$  a  $8,94 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para TBHQ, com as seguintes equações de regressão linear:  $I_p$  (μA) = 0,503 + 0,43 [BHA] (μmol L<sup>-1</sup>),  $r = 0,992$  e  $I_p$  (μA) = - 6,13 x 10<sup>-2</sup> + 0,35 [TBHQ] (μmol L<sup>-1</sup>),  $r = 0,995$  (dados reunidos na **Tabela 14**).

Os LD e LQ para a metodologia em desenvolvimento foram calculados da mesma forma como procedido para a metodologia de determinação individual de GP (Seção 3.4.9), e os valores encontrados foram respectivamente:  $2,94 \times 10^{-7}$  e  $9,79 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> para BHA e  $2,71 \times 10^{-7}$  e  $9,03 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> para TBHQ (**Tabela 14**). Os LD e LQ obtidos para a metodologia proposta foram melhores que os encontrados por FUENTE e autores (1999), respectivamente:  $1,19 \times 10^{-5}$  e  $3,97 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para BHA e  $2,31 \times 10^{-5}$  e  $4,36 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para TBHQ.

**Tabela 14:** Parâmetros quantitativos do método eletroanalítico proposto empregando a técnica de VVL para determinação simultânea de BHA e TBHQ, utilizando EPC na presença de BCTA.

| Parâmetros                                         | Curva Analítica - BHA | Curva Analítica - TBHQ   |
|----------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Intervalo de concentração (μmol. L <sup>-1</sup> ) | 1,59 - 9,40           | 1,51 - 8,94              |
| Intercepto (μA) <sup>a</sup>                       | 0,503                 | -6,13 x 10 <sup>-2</sup> |
| Inclinação (μA.L.μmol <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup> | 0,43                  | 0,35                     |
| Coeficiente de correlação (r) <sup>a</sup>         | 0,992                 | 0,995                    |
| LD (mol L <sup>-1</sup> )                          | $2,94 \times 10^{-7}$ | $2,71 \times 10^{-7}$    |
| LQ (mol L <sup>-1</sup> )                          | $9,79 \times 10^{-7}$ | $9,03 \times 10^{-7}$    |

<sup>a</sup> Média de três curvas analíticas; D.P. = Desvio Padrão; LD = Limite de Detecção; LQ = Limite de Quantificação

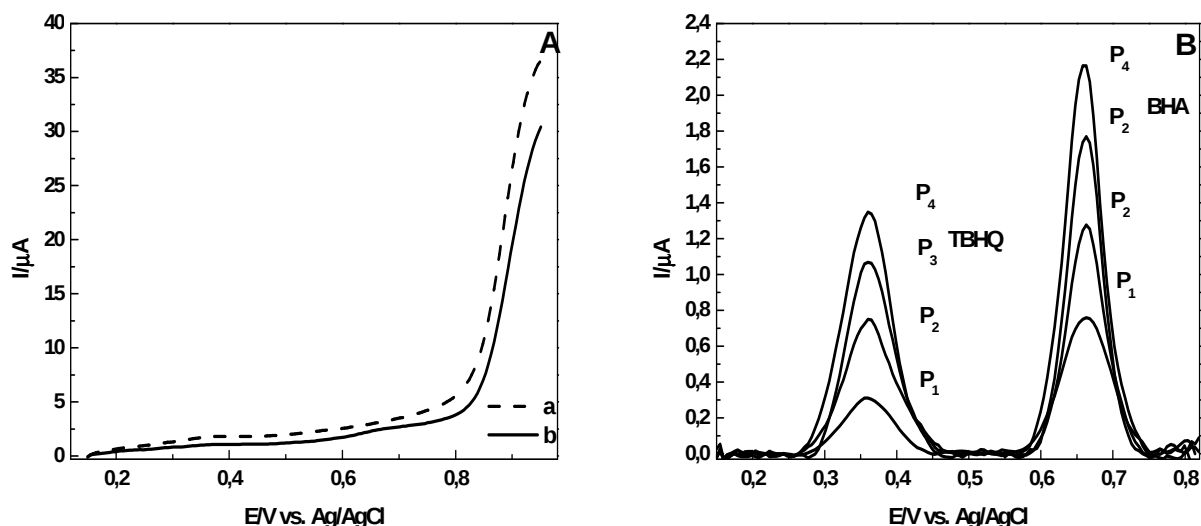
### 3.5.8. Testes iniciais para aplicação da metodologia eletroanalítica

Como mencionado previamente, no trabalho de Guzman e autores (2009), um melhor efeito sinérgico na estabilização de biodieseis produzidos a partir de óleo de soja e gordura foi encontrado para os antioxidantes TBHQ e BHA (2:1). Neste estudo os autores obtiveram tais resultados empregando 1000 ppm da mistura (TBHQ/BHA 2:1), ou seja, cerca de 667 ppm de TBHQ e 333 ppm de BHA.

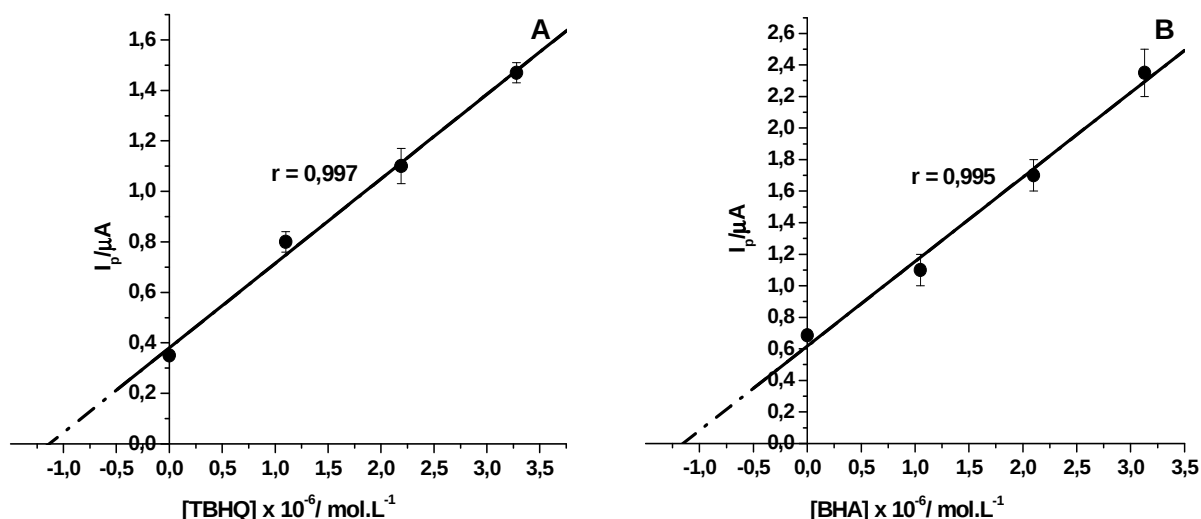
Diante disso, o primeiro teste realizado para avaliar a metodologia desenvolvida foi efetuar a recuperação de BHA e TBHQ na presença da amostra. Para isso, uma amostra de biodiesel de soja (sem a aditivação de antioxidantes) foi diluída em metanol na concentração 10% (v/v) e então uma alíquota de 60 uL da mesma foi adicionada a célula contendo eletrólito suporte e surfactante (tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  + 2% metanol v/v +  $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de BCTA). Caso a amostra tivesse sido aditivada com antioxidantes, como no trabalho de Guzman (667 ppm de TBHQ e 333 ppm de BHA), essa seria uma alíquota apropriada para determinar os analitos próximo aos LQ dos mesmos, ou seja, com a adição desta alíquota a concentração na célula de BHA e TBHQ seria aproximadamente:  $1,11 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e  $2,41 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente. Os voltamogramas obtidos para este estudo são apresentados na **Figura 74 A**, como é possível constatar, a amostra de biodiesel de soja nas condições de trabalho utilizadas não exibiu picos interferentes que pudessem comprometer a análise simultânea dos antioxidantes

Após a avaliação da resposta de biodiesel, foram então efetuadas adições ao meio dos padrões de BHA e TBHQ. A primeira adição foi considerada como a que estivesse presente na amostra de biodiesel, e as posteriores foram então utilizadas para determinar a concentração da mesma através do método de adição de padrão (**Figura 75**). Este procedimento foi realizado com objetivo de avaliar se a determinação de BHA e TBHQ seria possível próximo aos LQ dos mesmos na presença da amostra de biodiesel diluída. Os voltamogramas obtidos para este estudo são apresentados na **Figura 74 B** com a correção da linha base, de forma a proporcionar uma melhor visualização do aumento da  $I_p$  com a concentração dos antioxidantes. As recuperações obtidas para BHA e TBHQ neste experimento foram respectivamente: 100,9 e 103,6 %, ou seja, resultados satisfatórios.

Obviamente, novos ensaios de recuperação devem ser realizados, assim como, a aditivção da amostra com antioxidantes para posterior análise. Mas é importante ressaltar que os resultados encontrados até o momento são promissores e demonstram a grande aplicabilidade de eletrodos de pasta de carbono associados ao uso de surfactantes.



**Figura 74:** Voltamogramas de Varredura Linear para (A): a) eletrólito suporte (tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> pH 2,00) em presença de BCTA (3,00 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>) e (b) 60  $\mu$ L de solução amostra de biodiesel de soja em metanol (10% v/v) não aditivada com antioxidantes; e (B) Adições de padrão de BHA e TBHQ na amostra de biodiesel (P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub>),  $v = 100$  mV s<sup>-1</sup>.



**Figura 75:** Dependência da  $I_p$  em função da concentração dos padrões TBHQ (A) e BHA (B) em presença da amostra de biodiesel de soja (60  $\mu$ L de solução de biodiesel em metanol 10% v/v).

## 4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos neste estudo, referentes ao tratamento de dados experimentais e interpretação dos mesmos cabem aqui destacar as principais conclusões:

Através da oxidação de eletroquímica do antioxidante TBHQ foi possível desenvolver duas metodologias eletroanalíticas para sua determinação direta em amostras de biodiesel de soja.

O eletrodo de gota de mercúrio foi utilizado no desenvolvimento de uma destas metodologias. De acordo com os estudos realizados foi inicialmente proposto um método para determinação de TBHQ na ausência de surfactantes, já que os mesmos não colaboraram para resolução do pico do antioxidante. No entanto, através de testes realizados para determinação direta deste composto nas amostras investigadas, foi constatado que este procedimento somente seria possível na presença de um surfactante como Triton X -100 (TX-100). Diante dessas informações, novos estudos foram realizados, incorporando o uso de TX-100 à metodologia. Sob os parâmetros otimizados, a nova metodologia apresentou sensibilidade adequada aos níveis de concentração do analito adicionado nas amostras. Este procedimento foi aplicado com sucesso para determinação direta de TBHQ em amostras de biodiesel de soja (diluídas em metanol), apresentando satisfatória exatidão e precisão. Esses resultados, aliados ao baixo custo, rapidez e sensibilidade das análises demonstram a viabilidade do método proposto.

Um eletrodo de pasta de carbono também foi utilizado no desenvolvimento de outra metodologia eletroanalítica para determinação de TBHQ, empregando a técnica de Voltametria de Varredura Linear. Neste caso, o uso do surfactante brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA) foi de extrema importância desde o início do trabalho, já que o uso do mesmo proporcionou grande aumento do sinal e resolução do pico do antioxidante, melhorando, portanto, a sensibilidade do método em desenvolvimento. Outros parâmetros foram avaliados e otimizados. Sob as condições selecionadas a metodologia foi aplicada diretamente em amostras de biodiesel de soja (diluídas em metanol) com sucesso, exibindo satisfatória exatidão e precisão nas análises. Considerando a simplicidade na construção do eletrodo, o baixo custo associado ao material empregado nas análises e a simplicidade

experimental, a metodologia apresentada mostra-se promissora para controle da concentração de TBHQ em amostras de biodiesel.

Adicionalmente, foi efetuada a comparação dos resultados de uma determinação de TBHQ em amostra de biodiesel obtidos empregando os métodos eletroanalíticos desenvolvidos com a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Os resultados apresentaram concordância o que confirma a viabilidade das metodologias desenvolvidas.

Além disso, duas outras metodologias eletroanalíticas vêm sendo desenvolvidas para determinação individual de GP e simultânea de TBHQ e BHA, ambas em EPC. Todos os parâmetros foram otimizados, e novamente, o surfactante BCTA foi fundamental para o desenvolvimento de ambos os procedimentos. As curvas analíticas foram construídas com sucesso, e atualmente estudos estão sendo conduzidos para a aplicação das mesmas em amostras de biodiesel de soja, apresentando resultados promissores até o presente momento.

## 5. PERSPECTIVAS FUTURAS

Para a finalização deste projeto de doutorado pretende-se realizar as seguintes atividades:

- Efetuar a aplicação das metodologias desenvolvidas para determinação individual de GP e simultânea de BHA e TBHQ em amostras de biodiesel, e, estabelecer a comparação destes resultados com a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, para finalização destes estudos.
- Elaborar e submeter mais dois artigos científicos referentes às metodologias em finalização e outro referente a uma revisão bibliográfica de métodos eletroanalíticos disponíveis para determinação de antioxidantes sintéticos em diversas matrizes.

Além disso, em nosso grupo de pesquisa, outras metodologias eletroanalíticas vêm sendo e ainda serão desenvolvidas para determinação de antioxidantes em amostras de biodiesel.

## 6. REFERÊNCIAS

Ammawath, W.; Man, Y. B. C.; Baharin, B. S.; Rahman, R. B. A. A new method for determination of tert-butylhydroquinone (TBHQ) in RBD palm olein with FTIR Spectroscopy. *Journal of Food Lipids*, 2004, 11, 266 - 277.

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*, 1995, 67, 2195 - 2200.

Agüí, L.; Huertas, M. A. L.; Sedeño, P. Y.; Pingarrón, J. M. Voltammetric behavior of poly(3-methylthiophene)-coated cylindrical carbon fibre microelectrodes: electrochemical oxidation of the antioxidant propyl gallate. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1996, 414, 141 - 148.

Agüí, L.; Sedeño, P. Y.; Pingarrón, J. M. Analytical Applications of Poly(3-methylthiophene)-Coated Cylindrical Carbon Fiber Microelectrodes. *Electroanalysis*, 1997, 9, 468 - 473.

André, C.; Castanheira, I.; Cruz, J. M.; Paseiro, P.; Silva, A. S. Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 2010, 21, 229 - 246.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Resolução N° 7, de 19 de março de 2008.

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*, 2009, 90, 1272 - 1277.

Avranas, A.; Retter, U.; Malasidou, E. The adsorption and condensed film formation of cetyltrimethylammonium bromide at the mercury/electrolyte interface. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2002, 248, 347-354.

Avranas, A.; Koimtzoglou, 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*, 2006, 296, 634 - 639.

Bard, A. J. e Faulkner, L. R. *Electrochemical methods fundamentals and applications*, 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 2001.

Biodiesel. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:45 h.

Biodiesel. Disponível em: [http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha\\_Sebrae.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf). Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:47 h.

Biodiesel. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigoBiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:48 h.

Biodiesel. Disponível em: [http://www.biodiesel.gov.br/docs/Apres\\_MinistraME\\_06-12-04.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/Apres_MinistraME_06-12-04.pdf). Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:49 h.

Biodiesel. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/Armazenamento/AvaliacaoTendencia8.pdf>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:50 h.

BiodieselBR.com. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/plantas/oleaginosas.htm>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:51 h.

Cadenas, E. e Packer, L. *Handbook of Antioxidants*, 2 ed. New York: Marcel Dekker, 2002.

Campos, A. e Carmelio, E. C. Biodiesel e agricultura familiar no Brasil: resultados socioeconômicos e expectativa futura. *O Futuro da Indústria: Biodiesel - Coletânea de artigos - Série Política Industrial, Tecnológica e de Comércio Exterior*, 2006, 14, 49 - 65.

Carvalho, R. M.; Kubota, L. T.; Rath, S. Influence of EDTA on the electrochemical behavior of phenols. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2003, 548, 19 - 26.

Castilho, M. S. e Stradiotto, N. R. Determination of potassium ions in biodiesel using a nickel(II) hexacyanoferrate-modified electrode. *Talanta*, 2008, 74, 1630-1634.

Ceballos, C. e Fernández, H. The electroanalytical determination of antioxidants in corn oil using ultramicroelectrodes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 1995, 6, 1 - 5.

Ceballos, C. e Fernández, H. Synthetic antioxidants determination in lard and vegetable oils by the use of voltammetric methods on disk ultramicroelectrodes. *Food Research International*, 2000 a, 33, 367 - 365.

Ceballos, C. e Fernández, H. Synthetic Antioxidants in Edible Oils by Square-Wave Voltammetry on Ultramicroelectrodes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2000b, 77, 731 - 735.

Cortés, A. G.; García, A. J. R.; Sedeño, P. Y.; Pingarrón, J. M. Polarographic determination of tert-butylhydroquinone in micellar and emulsified media. *Analytica Chimica Acta*, 1993, 273, 545 - 551.

Cortés, A. G.; Armisen, P; Ruiz, M. A. Sedeño, P. Y.; Pingarrón, J. M. Electroanalytical Study of the Antioxidant tert- Butylhydroquinone (TBHQ) in an Oil-in-Water Emulsified Medium. *Electroanalysis*, 1994, 6, 1014 - 1019.

Daddoub, M. J.; Bronzel, J L.; Rampin, M. A. Biodiesel: Visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. *Química Nova*, 2009, 32, 776-792.

Das, L. M.; Bora, D. K. ; Pradhan, S.; Naik, M. K.; Naik, S.N. Long-term storage stability of biodiesel produced from Karanja oil. *Fuel*, 2009, 88, 2315 - 2318.

De Mello, J. A.; Carmichael, C. A.; Peacock, E. E.; Nelson, R. K.; Arey, J. S.; Reddy, C. M. Biodegradation and environmental behavior of biodiesel mixtures. *Marine pollution Bulletin*, 2007, 54, 894-904.

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. *Electroanalysis*, 1998, 10, 497 - 505.

Diego, E.; Agüí, L.; Cortés, A. G.; Sedeño, P. Y.; Pingarrón, J. M.; Kauffmann, J. M. Critical Comparison of Paraffin Carbon Paste and Graphite-Poly(tetrafluorethylene) Composite Electrodes Concerning the Electroanalytical Behavior of Various Antioxidants of Different Hydrophobicity. *Electroanalysis*, 1998, 10, 33 - 38.

Ding, Y.; Mora, M. F.; Garcia, C. D. Analysis of alkyl gallates and nordihydroguaiaretic acid using plastic capillary electrophoresis - microchips. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 561, 126 - 132.

Dinkov, R.; Hristov, G.; Stratiev, D.; Aldayri, V. B. Effect of commercially available antioxidants over biodiesel/diesel blends stability. *Fuel*, 2009, 88, 732 - 737.

Disponível em: <http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npbf/pdfs/39096.pdf>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:52 h.

Disponível em: <http://jchemed.chem.wisc.edu/journal/issues/2006/sep/abs1349.html#supplement>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:53 h.

Disponível em: <http://www.roche-applied-science.com/pack-insert/1332481a.pdf>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:54 h.

Disponível em: [http://www.mre.gov.br/dc/temas/Biocombustiveis\\_09-programabrasileirobiodiesel.pdf](http://www.mre.gov.br/dc/temas/Biocombustiveis_09-programabrasileirobiodiesel.pdf). Acesso: Agos. 2009.

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 the Brazilian Chemical Society*, 2007, 18, 416 - 423.

Dunn, R. O. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). *Fuel Processing Technology*, 2005, 86, 1071 - 1085.

Dunn, R. O. Antioxidants for improving storage stability of biodiesel. *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, 2008, 2, 304 - 318.

El Diwani, G.; El Rafie, S.; Hawash, S. Protection of biodiesel and oil from degradation by natural antioxidants of Egyptian *Jatropha*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2009, 6, 369 - 378.

Embrapa. Disponível em: <http://www.cpa0.embrapa.br/portal/artigos/artigos/artigo14.html>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:54 h.

- Farhadi, K.; Shamsipur, M. Effect of surfactants on the AC voltammetry of 9,10-Anthraquinone derivatives at glassy carbon electrode and its utilization for the determination of anthraquinones and cationic surfactants. *Analytical Sciences*, 2001, 17, i1733 - i1736.
- Ferrari, R. A. e Souza, W. M. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. *Química Nova*, 2009, 32, 106 - 111.
- Freitas, K. H. G. e 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*, 2010, 81, 1102 - 1108.
- Frondel, M. e Peters, J. Biodiesel: A new Oildorado?. *Energy Policy*, 2007, 35, 1675 - 1684.
- 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*, 1999, 49, 441 - 452.
- Galembeck, F.; Barbosa, C. A. S.; Sousa, R. A. Aproveitamento sustentável de biomassa e recursos naturais na inovação química. *Química Nova*, 2009, 32, 571 - 581.
- García, C. D. e Ortiz, P. I. BHA and BHT Quantification in Cosmetic Samples. *Electroanalysis*, 2000, 12, 1074 - 1076.
- González, A.; Ruiz, M. A.; Sedeño, P. Y.; Pingarrón, J. M. Voltammetric determination of tert-butylhydroxyanisole in micellar and emulsified media. *Analytica Chimica Acta*, 1994, 285, 63 - 71.
- González, M.; Gallego, M.; Valcárcel, M. Gas chromatographic flow method for the preconcentration and simultaneous determination of antioxidant and preservative additives in fatty foods. *Journal of Chromatography A*, 1999, 848, 529 - 536.
- Guan, Y.; Chu, Q.; Fu, L.; Wu, T.; Ye, J. Determination of antioxidants in cosmetics by micellar electrokinetic capillary chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1074, 201 - 204.

Guan, Y.; Chu, Q.; Fu, L.; Wu, T.; Ye, J. Determination of phenolic antioxidants by micellar electrokinetic capillary chromatography with electrochemical detection. *Food Chemistry*, 2006, 94, 157 - 162.

Guo, L.; Xie, M. Y.; Yan, A. P.; Wan, Y. Q.; Wu, Y. M. Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006, 386, 1881 - 1887.

Gunckel, S.; Santander, P.; Cordano, G.; Ferreira, J.; Munoz, S.; Vergara, L. J. N.; Squella, J. A. Antioxidant activity of gallates: an electrochemical study in aqueous media. *Chemico-Biological Interactions*, 1998, 114, 45 - 59.

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*, 2009, 86, 459 - 467.

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*, 2007, 105, 1732 - 1737.

Hoyer, B.; Jensen, N. Suppression of protein interferences in anodic stripping voltammetry by sodium dodecyl sulphate. *Electrochemistry Communications*, 2003 a, 5, 257 - 261.

Hoyer, B.; Jensen, N. Suppression of surfactant interferences in anodic stripping voltammetry by sodium dodecyl sulfate. *Electrochemistry Communications*, 2003 b, 5, 759 - 764.

Hoyer, B.; Jensen, N. Use of sodium dodecyl sulfate for suppression of electrode fouling in the voltammetric detection of biologically relevant compounds. *Electroanalysis*, 2005, 17, 2037 - 2042.

Hoyer, B.; Jensen, N. Stabilization of the voltammetric serotonin signal by surfactants. *Electrochemistry Communications*, 2006, 8, 323 - 328.

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*, 2007, 601, 153 - 160.

- Hu, C.; Yang, C.; Hu, S. Hydrophobic adsorption of surfactants on water-soluble carbon nanotubes: a simple approach to improve sensitivity and antifouling capacity of carbon nanotubes-based electrochemical sensors. *Electrochemistry Communications*, 2007, 9, 128 - 134.
- Huaiwen, W. & Weimin, L. Optimization of a high-performance liquid chromatography system by artificial neural networks for separation and determination of antioxidants. *Journal of Separation Science*, 2004, 27, 1189 - 1194.
- Huang, W. Voltammetric Determination of Bisphenol A Using a Carbon Paste Electrode Based on the Enhancement Effect of Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB). *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2005, 26, 1560 - 1564.
- Jain, S. e Sharma, M.P. Stability of biodiesel and its blends: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2010, 14, 667 - 678.
- Jara-Ulloa, P.; Núñez-Vergara, L. J.; Squella, J. A. Micellar effects on the reduction of 4-nitroimidazole derivative: detection and quantification of the nitroradical anion. *Electroanalysis*, 2007, 19, 1490 - 1495.
- Jayasri, D. e Narayanan, S. S. Electrocatalytic oxidation and amperometric determination of BHA at graphite-wax composite electrode with silver hexacyanoferrate as electrocatalyst. *Sensors and Actuators B*, 2006, 119, 135 - 142.
- Karavalakis, G.; Stournas, S.; Karonis, D. Evaluation of the oxidation stability of diesel/biodiesel blends. *Fuel*, 2010 a, 89, 2483 - 2489.
- Karavalakis, G. & Stournas, S. Impact of Antioxidant Additives on the Oxidation Stability of Diesel/Biodiesel Blends. *Energy Fuels*, 2010 b, 24, 3683 - 3686.
- Karovicová, J. e Simko, P. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2000, 882, 271 - 281.
- Khalil, C. N. As tecnologias de produção de biodiesel. O Futuro da Indústria: Biodiesel - Coletânea de artigos - Série Política Industrial, Tecnológica e de Comércio Exterior, 2006, 14, 83 - 90.

- Knothe, G.; Gerpen, J.V.; Krah, J. The Biodiesel Handbook. Illinois: AOCS Press, 2005a, 303 p.
- Knothe, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. Fuel Processing Technology, 2005b, 86, 1059 - 1070.
- Knothe, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. Fuel Processing Technology, 2007, 88, 669-677.
- Komaitis, M. E. e Kapel, M. Spectrophotometric Determination of BHA in Edible Fats and Oils. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1985, 62, 1371.
- Kumar, S. S. e Narayanan, S. S. Mechanically immobilized nickel aquapentacyanoferrate modified electrode as an amperometric sensor for the determination of BHA. Talanta, 2008, 54 - 59.
- Lee, M. R.; Lin, C. Y.; Li, Z. G.; Tsai, T. F. Simultaneous analysis of antioxidants and preservatives in cosmetics by supercritical fluid extraction combined with liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 2006, 1120, 244 - 251.
- Leung, D. Y. C.; Koo, B. C. P.; Guo, Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions. Bioresource Technology, 2006, 97, 250 - 256.
- Liang, Y. C.; May, C. Y.; Foon, C. S.; Ngan, M. A.; Hock, C. C.; Basiron, Y. The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel. Fuel, 2006, 85, 867 - 870.
- Lin, C. Y. e Chiu, C. C. Effects of Oxidation during Long-term Storage on the Fuel Properties of Palm Oil-based Biodiesel. Energy & Fuels, 2009, 23, 3285 - 3289.
- Lopes, I. C.; Souza, D.; Machado, S. A. S.; Tanaka, A. A. Voltammetric detection of paraquat pesticide on a phthalocyanine-based pyrolytic graphite electrode. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007, 388, 1907 - 1914.
- Luque, M.; Ríos, A.; Valcárcel, M. A poly(vinyl chloride) graphite composite electrode for flow-injection amperometric determination of antioxidants. Analytica Chimica Acta, 1999, 395, 217 - 223.

- Macedo, I. C. e Nogueira, L. A. H. Avaliação do Biodiesel no Brasil. Cadernos NAE - Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República Governo - Processos Tecnológicos de Longo Prazo - Biocombustíveis, 2004, 2, 1 - 111.
- Marchetti, J. M.; Miguel, V. U.; Errazu, A. F. Possible methods for biodiesel production. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2007, 11, 1300 - 1311.
- Marques, G. G. e Jr., J. H. Biodiesel: Visão da Indústria Automobilística. O Futuro da Indústria: Biodiesel - Coletânea de artigos - Série Política Industrial, Tecnológica e de Comércio Exterior 2006, 14, 127 - 136.
- McCormick, R. L.; Ratcliff, M.; Moens, L.; Lawrence, R. Several factors affecting the stability of biodiesel in standard. Fuel Processing Technology, 2007, 88, 651 – 657.
- McCormick, R. L. & Westbrook, S. R. Storage Stability of Biodiesel and Biodiesel Blends. Energy Fuels, 2010, 24, 690 - 698.
- 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, 2010a, 123, 886 - 891.
- Medeiros, R. A.; Lourenção, B. C.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O. Simple Flow Injection Analysis System for Simultaneous Determination of Phenolic Antioxidants with Multiple Pulse Amperometric Detection at a Boron-Doped Diamond Electrode. Analytical Chemistry, 2010, 82, 8658 - 8663.
- Melo, L. C.; Banda, G. R. S.; Machado, S. A. S.; Lima-Neto, P.; Souza, D.; Correia, A. N. A simple and sensitive detection of diquat herbicide using a dental amalgam electrode. A comparison using the chromatographic technique. Talanta, 2009, 79, 1216 - 1222.
- Metrohm. Determination of antioxidants by ion chromatographic analysis. Disponível em: <http://www.biofuel-analysis.com/Oils/antioxi.html>. Acesso: 27 de Outubro de 2010, 14:54 h.
- Meyer, G.; Nadjo, L.; Saveant, J. M.; Electrochemistry in micellar media. Effect of cationic surfactants on the stability of electrogenerated anion radicals in water. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1981, 119, 417-419.

- Michalkiewicz, S.; Mechanik, M.; Malyszko, J. Voltammetric Study of Some Synthetic Antioxidants on Platinum Microelectrodes in Acetic Acid Medium. *Electroanalysis*, 2003, 16, 588 - 595.
- Mittelbach, M. e Schober, S. The influence of antioxidants on the oxidation stability of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2003, 80, 817 - 823.
- Monteiro, M. R.; Ambrozina, A. R. P.; Lião, L. M.; Ferreira, A. G. C. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. *Talanta*, 2008, 77, 593 - 605.
- Moser B. R. Efficacy of myricetin as an antioxidant in methyl esters of soybean oil. *European Journal of Lipid Technology*, 2008, 110, 1167 - 1174.
- Mota, C. J. A.; Silva, C. X.; Gonçalves, V. L. C. Gliceriquímica : novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. *Química Nova*, 2009, 32, 639 - 648.
- 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*, 2000, 412, 185 - 193.
- Nitschke, M. e Pastore, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. *Química Nova*, 2002, 25, 772 - 776.
- Olivério, J. L. O programa brasileiro de biodiesel na visão da indústria de equipamentos. O Futuro da Indústria: Biodiesel - Coletânea de artigos - Série Política Industrial, Tecnológica e de Comércio Exterior 2006, 14, 105 - 125.
- Paligova, J.; Joríková, L.; Cvengros, J. Study of FAME Stability. *Energy & Fuels* 2008, 22, 1991 - 1996.
- Paria, S. e Khilar, K. C. A review on experimental studies of surfactant adsorption at the hydrophilic solid - water interface. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2004, 110, 75 - 95.
- Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; Avaca, L. A. Determinação voltamétrica de 4-clorofenol sobre eletrodo de diamante dopado com boro utilizando a voltametria de onda quadrada. *Química Nova*, 2003, 26, 844 - 849.

- Perrin, C. e Meyer, L. Quantification of synthetic phenolic antioxidants in dry foods by reversed-phase HPLC with photodiode array detection. *Food Chemistry*, 2002, 77, 93 - 100.
- Perrin, C. e Meyer, L. Simultaneous Determination of Ascorbyl Palmitate and Nine Phenolic Antioxidants in Vegetable Oils and Edible Fats by HPLC. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2003, 80, 115 - 118.
- 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*, 2005, 16, 1313 - 1330.
- Prabakar, S. J. R. e Narayanan, S. S. Surface modification of amine-functionalised graphite for preparation of cobalt hexacyanoferrate (CoHCF)-modified electrode: an amperometric sensor for determination of butylated hydroxyanisole (BHA). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006, 386, 2107 - 2115.
- Prabakar, S. J. R. e Narayanan, S. S. Flow injection analysis of BHA by NiHCF modified eletctrode. *Analytical Methods*, 2010, 118, 449 - 455.
- Presidência da República, Lei N° 11.097, de 13 de janeiro de 2005.
- Qin, L. X.; Chao, J.; Yan, S. Y.; Li, Y. M.; Gang, C. X. Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. *Food Chemistry*, 2009, 113, 692 - 700.
- Quintella, C. M.; Teixeira, L. S. G.; Korn, M. G. A.; Neto, P. R. C.; Torres, E. A.; Castro, M. P.; Jesus, C. A. C. Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I. *Química. Nova*, 2009, 32, 793 - 808.
- Rafecas, M.; Guardiola, F.; Illera, M.; Codony, R.; Boatella, J. Liquid chromatographic determination of phenolic antioxidants in bakery products. *Journal of Chromatography A*, 1998, 822, 305 - 309.
- Ramalho, V. C. e Jorge N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, 2006, 29, 755 - 760.

- Raymundo, M. S.; Paula, M. M. S.; Franco, C.; Fett, R. Quantitative determination of the phenolic antioxidants using voltammetric techniques. *LWT*, 2007, 40, 1133 - 1139.
- Reda, S. Y. & Carneiro, P. I. B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. *Revista Analytica*, 2007, 27, 60 - 67.
- 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*, 2004, 27, 771 - 780.
- Riber, J.; Fuente, C.; Vazquez, M.D.; Tascón, M. L.; Batanero, P. S. Electrochemical study of antioxidants at a polypyrrole electrode modified by a nickel phthalocyanine complex. Application to their HPLC separation and to their FIA system detections. *Talanta* 2000, 52 241 - 252.
- Ribeiro, F. W. P.; Cardoso, A. S.; Portela, R. R.; Lima, J. E. S.; Machado, S. A. S.; Lima-Neto, P.; Souza, D.; Correia, A. N. Electroanalytical Determination of Promethazine Hydrochloride in Pharmaceutical Formulations on Highly Boron-Doped Diamond Electrodes Using Square-Wave Adsorptive Voltammetry. *Electroanalysis*, 2008, 20, 2031 - 2039.
- Rinaldi, R.; Garcia, C.; Marciniuk, L. L.; Rossi, A. V.; Schuchardt, U. Síntese do Biodiesel: Uma proposta contextualizada de experimento para laboratório de química geral. *Química Nova*, 2007, 30, 1374 - 1380.
- Robards, K. e Dilli, S. Analytical Chemistry of Synthetic Food Antioxidants. *Analyst*, 1987, 112, 933 - 943.
- Rodrigues, R. A. Biodiesel no Brasil: diversificação energética e inclusão social com sustentabilidade. *O Futuro da Indústria: Biodiesel - Coletânea de artigos - Série Política Industrial, Tecnológica e de Comércio Exterior*, 2006, 14, 15 - 25.
- Rusling, J. F. *Electroanalytical Chemistry: a serie of advances (Volume 18: Electrochemistry in micelles, microemulsions, and related microheterogeneous fluids)*. New York: Marcel Dekker, 1994.
- Rusling, J. F. Molecular aspects of electron transfer at electrodes in micellar solutions. *Colloids and Surfaces*, 1997, 123 - 124, 81-88.

- Ryu, K. The characteristics of performance and exhaust emissions of a diesel engine using a biodiesel with antioxidants. *Bioresource Technology*, 2010, 101, S78 - S82.
- Saad, B.; Sing, Y. Y.; Nawi, M. A.; Hashim, N.; Ali, A. S. M.; Salch, M. I.; Sulaiman, S. F. ; Talib, K. M.; Ahmad, K. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. *Food Chemistry*, 2007, 105, 389 - 394.
- Salager, J. L. Surfactants Types and Uses (FIRP BOOKLET # E300-A / Teaching aid in Surfactant Science Engineerin), Versão 2. Universidad de Los Andes, 2002.
- Sanz-Medel, A. et al. Organised surfactant assemblies in analytical atomic spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 1999, 54, 251 - 287.
- Sarin, R.; Kumar, R.; Srivastav, B.; Puri, S.K.; Tuli, D.K.; Malhotra, R.K.; Kumar, A. Biodiesel surrogates: Achieving performance demands. *Bioresource Technology*, 2009, 100, 3022–3028.
- Sarin, A.; Arora, R.; Singh, N. P.; Sarin, R.; Malhotra, R. K. Oxidation Stability of Palm Methyl Ester: Effect of Metal Contaminants and Antioxidants. *Energy Fuels*, 2010, 24, 2652 - 2656.
- Sha, B. B.; Yin, X. B.; Zhang, X. H.; He, X. M.; Yang, W. L. Capillary electrophoresis coupled with electrochemical detection using porous etched joint for determination of antioxidants. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1167, 109 - 115.
- Shahid, E M. e Jamal Y. A review of biodiesel as vehicular fuel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2008, 12, 2484 - 2494.
- Sharma, Y. C.; Singh, B.; Upadhyay, S. N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. *Fuel*, 2008, 87, 2355 - 2373.
- Souza, D.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A. Voltametria de Onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos. *Química Nova*, 2003, 26, 81 - 89.
- Souza, D.; Codognoto, L.; Malagutti, A. R.; Toledo, R. A.; Pedrosa, V. A.; Oliveira, R. T. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S. Voltametria de Onda Quadrada. Segunda Parte: Aplicações. *Química Nova*, 2004, 27, 790 - 797.

Souza, D.; Toledo, R. A.; Suffredini, H. B.; Mazo, L. H.; Machado, S. A. S. Characterization and Use of Copper Solid Amalgam Electrode for Electroanalytical Determination of Triazines-Based Herbicides. *Electroanalysis* 2006 a, 18, 605 - 612.

Souza, D. e Machado, S. A. S. Study of the Electrochemical Behavior and Sensitive Detection of Pesticides Using Microelectrodes Allied to Square-Wave Voltammetry. *Electroanalysis*, 2006 b, 18, 862-872.

Souza, D.; Toledo, R. A.; Galli, A.; Banda, G. R. S.; Silva, M. R. C.; Garbellini, G. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S. Determination of triazine herbicides: development of an electroanalytical method utilizing a solid amalgam electrode that minimizes toxic waste residues, and a comparative study between voltammetric and chromatographic techniques. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 387, 2245 - 2253.

Stadlober, M.; Kalcher, K.; Raber, G.; Neuhold, C. Anodic stripping voltammetric determination of titanium (IV) using a carbon paste electrode modified with cetyltrimethylammonium bromide, *Talanta*, 1996, 43, 1915 - 1924.

Suarez, P. A. Z. e Meneghetti, S. M. Plentz. 70º Aniversário do Biodiesel em 2007: Evolução histórica e situação atual no Brasil. *Química Nova*, 2007, 30, 2068 - 2071.

Suarez, P. A. Z.; Santos, A. L. F.; Rodrigues, J. P.; Alves, M. B. Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los. *Química Nova*, 2009, 32, 768-775.

Sumiko, T.; Maki, N.; Hisaya, T.; Yukio, T.; Yasuhide, T. Determination and confirmation of five phenolic antioxidants in foods by LC/MS and GC/MS. *Journal of the Food Hygienics Society of Japan*, 2005, 46, 63 - 71.

Surareungchai, W. e Kasiwat, D. Electroanalysis of tert-Butylhydroquinone in edible oil at a Nafion - Coated Probe. *Electroanalysis*, 2000, 12, 1124 - 1129.

Svancara, I.; Vytras, K.; Kalcher, K.; Walcarius, A.; Joseph, W. Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50-Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis. *Electroanalysis*, 2009, 21, 7 - 28.

- Szymula, M. e Michałek, J. N. The Effect of Surfactant Adsorption at a Glassy Carbon Electrode on Electrochemical Oxidation of Propyl Gallate. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2006, 36, 455 - 462.
- Tagliabue, S.; Gasparoli, A.; Bella, D. L.; Biodioli, P. Quali - quantitative of synthetic antioxidants in biodiesel. *Rivista Italiana Delle Sostanzegrasse*, 2004, 81, 37 - 40.
- Takahashi, D. M. Gas chromatographic determination of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in breakfast cereals. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 1968, 51, 943 - 948.
- 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* 2010, 24, 2028 - 2033.
- Tonmanee, N. T. e Archer, V. S. Determination of tert-butylhydroquinone in edible oils by differential - pulse polarography. *Talanta*, 1982, 29, 905 - 909.
- Trindade, M. A. G.; Ferreira, V. S.; Zanani, M. V. B. A square-wave voltammetric method for analysing the colour marker quinizarine in petrol and diesel fuels. *Dyes and Pigments*, 2007, 74, 566 - 571.
- Vallvey, L. F. C.; Valencia, Nicolás, E. A. Solid-phase ultraviolet absorbance spectrophotometric multisensor for the simultaneous determination of butylated hydroxytoluene and co-existing antioxidants. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 503, 179 - 186.
- Viana, L. H. "Programa Estadual de Biodiesel do Matogrosso do Sul", FINEP, 2004, Ref. 1367/04.
- Vicente, G.; Martínez, M.; Araci J. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalyst systems. *Bioresource Technology*, 2004, 92, 297 - 305.
- Yang, M. H.; Lin, H. J.; Choong, Y. M. A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. *Food Research International*, 2002, 35, 627 - 633.

---

Zamarreño, M. M. D.; Maza, I. G.; Pérez, A. S.; Martinez, R. C. Analysis of synthetic phenolic antioxidants in edible oils by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food Chemistry*, 2007, 100, 1722 - 1727.

Zuman, P.; German, C. Ion-pair formation in aqueous solutions of pyruvate anions: polarographic study. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1988, 253, 29 - 38

