

EDERVALDO BUFFON

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM POLÍMERO
MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA DETERMINAÇÃO DE
HEXAHIDROFARNESOL EM BIOQUEROSENE DE AVIAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de Araraquara da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

ARARAQUARA
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

B929d Buffon, Edervaldo
Desenvolvimento de sensor eletroquímico baseado em polímero molecularmente impresso para determinação de hexahidrofarnesol em bioquerosene de aviação / Edervaldo Buffon. – Araraquara-SP : [s.n.], 2018
76 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Nelson Ramos Stradiotto

1. Biocombustíveis. 2. Aviões. 3. Análise eletroquímica.
4. Impressão molecular. 5. Controle de qualidade. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Desenvolvimento de sensor eletroquímico baseado em polímero molecularmente impresso para determinação de hexahidrofarnesol em bioquerosene de aviação"

AUTOR: EDERVALDO BUFFON

ORIENTADOR: NELSON RAMOS STRADIOTTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. NELSON RAMOS STRADIOTTO
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. DENIS RICARDO MARTINS DE GODOI
Departamento de Físico-Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. MARCELO FIRMINO DE OLIVEIRA
Departamento de Química / Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras - USP -Ribeirão Preto

Araraquara, 23 de fevereiro de 2018

DADOS CURRICULARES

1 INFORMAÇÕES PESSOAIS

Nome: Edervaldo Buffon
Nome em citações bibliográficas: BUFFON,E.; BUFFON, EDERVALDO
Nacionalidade: Brasileira
Nascimento: 09/07/1993 – Castelo/ES – Brasil

2 INFORMAÇÕES PROFISSIONAIS

Endereço Profissional: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Química de Araraquara
Departamento de Química Analítica
Rua Prof. Francisco Degni, 55
Bairro Quitandinha, 14800–900
Araraquara, SP – Brasil

Telefone: (16) 3301-9581

Endereço eletrônico: edervaldo.buffon@iq.unesp.br

3 FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2016-2018 Mestrado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Brasil.

Título: Desenvolvimento de sensor eletroquímico baseado em polímero molecularmente impresso para determinação de hexahidrofarnesol em bioquerosene de aviação.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

2011-2015 Graduação em Química

Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Brasil.

Título: Preparação e caracterização de eletrodos modificados com filme de hexacianoferrato de cobre e sua interação com o íon sulfeto.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Luciene Paula Roberto Profeti

Com amor e carinho,
Dedico esse trabalho aos meus pais José M. Buffon e Ana Lúcia B. Buffon.

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

A Deus por guiar e iluminar meus passos durante essa caminhada.

Ao Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto pela orientação, liberdade, confiança e pelo exemplo de dedicação, ética e amor à pesquisa.

Ao Prof. Dr. Demetrius Profeti e à Prof^a. Dr^a. Luciene Paula Roberto Profeti por todo o apoio e incentivo à pesquisa desde a graduação.

Aos companheiros de laboratório, Acelino, Daniel, José Luiz, Josiel, Luiz Felipe, Maísa, Thulio e Victor, pelas discussões científicas, pela agradável convivência e pelos momentos de descontração.

Ao Prof. Dr. Denis Ricardo Martins de Godoi e à Prof^a. Dr^a. Maria del Pilar Taboada Sotomayor pelas contribuições para o desenvolvimento deste trabalho durante o Exame Geral de Qualificação.

À Rúbia Bastos pela convivência, paciência e momentos de descontração.

Ao Instituto de Química de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (IQAr-Unesp) pela excelente infraestrutura.

A todos os funcionários do IQAr-Unesp que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Laboratório de Microscopia Avançada (LMA-IQ) pela disponibilidade de utilização do microscópio eletrônico de varredura.

À CAPES pela bolsa concedida.

À FAPESP (processos 2014/23846-5 e 2017/25329-6) pelo auxílio financeiro.

E a todos que não foram citados aqui, mas que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

RESUMO

A atual expansão do setor de aviação tem aumentado a dependência das companhias aéreas ao querosene de aviação e a outros derivados fósseis. A dependência desse setor para com esses combustíveis se reflete em grandes índices de poluição atmosférica devido à emissão do CO₂ proveniente da queima dessas substâncias. Tendo em vista a necessidade de reduzir esse poluente, têm-se desenvolvido novas tecnologias para a produção de querosenes alternativos de aviação (bioquerosenes de aviação). Uma das formas de obtenção do bioquerosene de aviação é a partir da fermentação de açúcares. O biocombustível obtido através dessa rota tecnológica é composto basicamente pelo farnesano e possui como principal contaminante o hexahidrofarnesol. A preocupação com a presença do hexahidrofarnesol no bioquerosene de aviação se deve principalmente a sua solubilidade em água e a degradação dos componentes do sistema de combustível. Diante disso, se fazem necessárias metodologias analíticas simples, sensíveis, seletivas e de baixo custo para determinar esse contaminante no bioquerosene de aviação. Uma vez que essas características são encontradas nos sensores eletroquímicos, o objetivo deste trabalho consiste no desenvolvimento de um sensor eletroquímico baseado em polímero molecularmente impresso para a determinação de hexahidrofarnesol em bioquerosene de aviação. O sensor proposto foi preparado pela eletropolimerização da *o*-fenilenodiamina sobre um eletrodo de carbono vítreo na presença da molécula de hexahidrofarnesol pela técnica de voltametria cíclica. O eletrodo modificado foi caracterizado por várias técnicas, tais como voltametria cíclica, espectroscopia de impedância eletroquímica, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia RAMAN e microscopia de força atômica. Os parâmetros que influenciam o desempenho do sensor impresso, como a razão molar entre o monômero funcional e a molécula molde, o número de ciclos utilizados na eletropolimerização, o pH da solução utilizada durante a eletropolimerização, o tempo de extração da molécula molde e o tempo de religação da molécula de hexahidrofarnesol nas cavidades impressas do sensor foram otimizados. O sensor desenvolvido apresentou duas faixas lineares de trabalho, de $5,0 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e de $1,5 \times 10^{-7}$ a $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. As constantes de dissociação aparente (K_d) para a primeira e a segunda faixa linear desse dispositivo foram calculadas pela isoterma de adsorção de Langmuir como sendo $4,8 \times 10^{-7}$ e $9,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ respectivamente. As figuras de mérito, tais como sensibilidade, limite de detecção e limite de quantificação foram obtidas utilizando a primeira faixa linear e foram estimadas em 67 A L mol⁻¹; $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e $4,1 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ respectivamente. Na presença de moléculas potencialmente interferentes que compõem o bioquerosene de aviação, o sensor GCE-MIP demonstrou-se seletivo para o reconhecimento da molécula de hexahidrofarnesol. Além disso, esse sensor apresentou considerável repetibilidade inter-dia e intra-dia, com valores de RSD ≤ 4,8%, e teve 96% de sua corrente inicial preservada após ser armazenado por 10 dias em contato com o ar à temperatura ambiente. O método desenvolvido foi aplicado com sucesso na determinação de hexahidrofarnesol em bioquerosene de aviação. As recuperações médias variaram de 97,6% a 105,8%, com RSDs entre 1,7% a 3,9%, indicando que o método desenvolvido possui uma boa exatidão para a determinação de hexahidrofarnesol.

Palavras-chave: Sensor eletroquímico. Eletrodo modificado. Polímero molecularmente impresso. *o*-fenilenodiamina. Hexahidrofarnesol. Bioquerosene de aviação.

ABSTRACT

Current expansion of the aviation sector has increased the dependence of airlines to aviation kerosene and other fossil derivatives. Dependence of this sector to such fuels is reflected in high rates of air pollution due to the emission of CO₂ originated from burning of these substances. In view of the need for lower emissions these pollutants, new technologies have been developed for the production of alternative aviation kerosene (aviation biokerosene). One of the ways of get the aviation biokerosene is from the fermentation of sugars. The biofuel obtained through this technological route is basically composed of farnesane, and it has as main contaminant the hexahydrofarnesol. The concern with the presence of hexahydrofarnesol in aviation biokerosene is mainly due to its solubility in water and the degradation of fuel system components. Thus, the developments of simple, sensitive, selective and low cost analytical methodologies to determine such contaminant in the aviation biokerosene are necessary. Once these characteristics are found in the electrochemical sensors, the objective of this work consists in the development of an electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer for the determination of hexahydrofarnesol in aviation biokerosene. The proposed sensor was prepared by electropolymerization of the *o*-phenylenediamine on a glassy carbon electrode in the presence of the hexahydrofarnesol molecule by the cyclic voltammetry technique. The modified electrode was characterized by several techniques, such as cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy, scanning electron microscopy, RAMAN spectroscopy, and atomic force microscopy. Parameters that influence the performance of the imprinted sensor, such as the molar ratio between the functional monomer and the template molecule, the number of cycles used in the electropolymerization, the pH of the solution used during the electropolymerization, the extraction time of the template molecule and the time of rebinding of the hexahydrofarnesol molecules in the imprinted cavities were optimized. The developed sensor presented two linear ranges of work, 5.0×10^{-8} to 1.5×10^{-7} mol L⁻¹ and 1.5×10^{-7} to 1.5×10^{-6} mol L⁻¹. Apparent dissociation constants (K_d) for the first and second linear range of this device were calculated by Langmuir adsorption isotherm as being 4.8×10^{-7} and 9.1×10^{-6} mol L⁻¹ respectively. Figures of merit, such as sensitivity, limit of detection and limit of quantification were obtained using the first linear range and were estimated in 67 A L mol⁻¹; 1.2×10^{-8} mol L⁻¹ and 4.1×10^{-8} mol L⁻¹ respectively. In the presence of potentially interfering molecules that compose the aviation biokerosene, the GCE-MIP sensor showed up selective for recognition of the hexahydrofarnesol molecule. In addition, this sensor showed considerable inter-day and intra-day repeatability, with RSD values ≤ 4.8%, and had 96% of its initial current preserved after to be stored for 10 days in contact with the air at room temperature. The developed method was successfully applied in the determination of hexahydrofarnesol in aviation biokerosene. Average recoveries varied from 97.6% to 105.8%, with RSDs between 1.7% and 3.9%, indicating that the developed method had good accuracy for the determination of hexahydrofarnesol.

Keywords: Electrochemical sensor. Modified electrode. Molecularly imprinted polymer. *o*-phenylenediamine. Hexahydrofarnesol. Aviation biokerosene.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação estrutural das moléculas de farneseno e farnesano. ...	20
Figura 2 - Representação estrutural das moléculas de farnesol e hexahidrofarnesol.	23
Figura 3 - Esquema geral de preparação dos MIPs. Adaptado de Malisteta et al. (31).	26
Figura 4 - Representação estrutural da molécula de <i>o</i> -fenilenodiamina.	27
Figura 5 - Voltamogramas cíclicos do GCE na (A) ausência e na (B) presença de HHF $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em uma solução hidroalcoólica de etanol (1:1, v:v) em KCl 0,50 mol L ⁻¹ , utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹	36
Figura 6 - Voltamogramas cíclicos do GCE na (A) ausência e na (B) presença de HHF $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em uma solução de acetonitrila em LiClO ₄ 0,10 mol L ⁻¹ , utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹	37
Figura 7 – Voltamogramas cíclicos para a eletropolimerização de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de <i>o</i> -PD na presença de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de HHF em uma velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹	39
Figura 8 - Esquema geral da eletropolimerização da <i>o</i> -PD. Adaptado de Li et al. (38).	40
Figura 9 - Reação redox ocorrida com o filme de <i>o</i> -PD.	41
Figura 10 - Voltamogramas cíclicos em uma velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹ para: (a) GCE, (b) GCE-MIP antes da remoção da molécula molde, (c) GCE-MIP após a remoção da molécula molde, (d) GCE-MIP após a religação em uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ em [Fe(CN) ₆] ³⁻ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ e (e) GCE-NIP, utilizando uma solução de [Fe(CN) ₆] ³⁻ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em KCl 0,50 mol L ⁻¹	42
Figura 11 - (A) Voltamogramas cíclicos para o sensor GCE-MIP utilizando uma solução de [Fe(CN) ₆] ³⁻ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em KCl 0,50 mol L ⁻¹ em diferentes velocidades de varredura. (B) Relação entre as correntes de pico anódica e catódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura.	43

Figura 12 - Espectros de impedância eletroquímica para: (a) GCE, (b) GCE-MIP antes da remoção da molécula molde, (c) GCE-MIP após a remoção da molécula molde, (d) GCE-MIP após a religação em uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e (e) GCE-NIP, utilizando um potencial de 0,22 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,10 Hz. Inserção: Circuito equivalente ao diagrama de Nyquist composto pela resistência da solução (R_s), pela resistência de transferência de carga (R_{ct}), pelo elemento de constante de fase (CPE) e pelo elemento de difusão de Warburg (W).	44
Figura 13 - Imagens de SEM-FEG para: (A) GCE e (B) GCE-MIP.	46
Figura 14 - Espectro RAMAN para o sensor GCE-MIP.	47
Figura 15 - Imagens de AFM para: (A) GCE-MIP após a eletropolimerização, (B) GCE-NIP após a eletropolimerização, (C) GCE-MIP após a remoção da molécula molde e (D) GCE-MIP após a religação em uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	48
Figura 16 - Influência da razão molar entre o-PD:HHF no processo de formação das cavidades impressas do sensor GCE-MIP durante a etapa de eletropolimerização utilizando uma solução composta por $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de o-PD em tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,8) e por HHF em um intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ a $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol na proporção 1:1 (v:v), quando foram aplicados 25 ciclos voltamétricos em um intervalo de potencial de -0,40 a 1,0 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) em uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}	50
Figura 17 - Influência do número de ciclos voltamétricos na resposta do sensor GCE-MIP durante a etapa de eletropolimerização utilizando uma solução composta por $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de o-PD em tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,8) e por $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de HHF em etanol na proporção 1:1 (v:v), quando foi empregado um intervalo de potencial de -0,40 a 1,0 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) em uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}	51
Figura 18 - Resposta de corrente obtida para o sensor GCE-MIP após a etapa de eletropolimerização utilizando soluções compostas por $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de o-PD em tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ e por $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de HHF em etanol na proporção 1:1 (v:v) em diferentes valores de pHs, quando foram aplicados 25 ciclos voltamétricos em um intervalo de potencial de -0,40 a 1,0 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) em uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}	53
Figura 19 - Influência do tempo na performance do sensor GCE-MIP durante a extração da molécula molde utilizando uma solução de etanol-ácido acético 9:1 (v:v). Para comparação, o desempenho do sensor GCE-NIP também foi avaliado.	54

Figura 20 - Imagens de SEM-FEG para: (A) GCE, (B) GCE-NIP após a eletropolimerização, e (C) GCE-NIP após a exposição ao solvente por 60 segundos.	56
Figura 21 - Influência do tempo na performance do sensor GCE-MIP durante a religação em uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ . Para comparação, o desempenho do sensor GCE-NIP também foi avaliado.	57
Figura 22 - Curva analítica para o sensor GCE-MIP obtida em soluções de diferentes concentrações de HHF em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ . Inserção: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos utilizando soluções de HHF em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em uma faixa de concentração de $4,0 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹	58
Figura 23 – Curvas de Langmuir para o sensor GCE-MIP obtidas na: (A) primeira faixa linear ($4,0 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹) e na (B) segunda faixa linear ($1,5 \times 10^{-7}$ a $1,5 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹).	61
Figura 24 – Representação estrutural das moléculas de farnesano, HHF, SALPN e BHT.	63
Figura 25 – Intensidades de corrente obtidas para os sensores GCE-MIP e GCE-NIP após o processo de religação utilizando soluções de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ de HHF, BHT, farnesano e SALPN em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ (tempo de religação: 15 min.). A resposta do sensor foi monitorada através da técnica de DPV utilizando uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em KCl $0,50$ mol L ⁻¹	64
Figura 26 - Curva de adição de padrão para o sensor GCE-MIP obtida com as adições de $5,0$; $7,0$ e $9,0 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹ de HHF em etanol à solução de bioquerosene de aviação. Inserção: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a solução de bioquerosene de aviação fortificada com diferentes concentrações de HHF.	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do querosene alternativo SIP.	23
Tabela 2 – Parâmetros de seletividade do sensor GCE-MIP para HHF e moléculas potencialmente interferentes.	65
Tabela 3 – Recuperações de HHF na amostra de bioquerosene de aviação (n=3).	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AFM – microscopia de força atômica (do inglês: *atomic force microscopy*)
- ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- ASTM – Sociedade Americana para Testes e Materiais (do inglês: *American Society for Testing and Materials*)
- BHT – 2,6-di-terc-butil-4-metil-fenol
- BID – Banco Interamericano de Desenvolvimento
- BQAv – bioquerosene de aviação
- CME – eletrodo quimicamente modificado (do inglês: *chemically modified electrode*)
- CPE – elemento de constante de fase (do inglês: *constant phase element*)
- CV – voltametria cíclica (do inglês: *cyclic voltammetry*)
- DPV – voltametria de pulso diferencial (do inglês: *differential pulse voltammetry*)
- EIS – espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês: *electrochemical impedance spectroscopy*)
- EUA – Estados Unidos da América
- GCE – eletrodo de carbono vítreo (do inglês: *glassy carbon electrode*)
- GC-FID – Cromatografia gasosa com detector por Ionização de Chama (do inglês: *gas chromatography-flame ionization detector*)
- GC-MS – Cromatografia gasosa com espectrometria de massa (do inglês: *gas chromatography-mass spectrometry*)
- HCD – codestilação *headspace* (do inglês: *headspace co-distillation*)
- HHF – hexahidrofarnesol
- IATA – Associação Internacional de Transportes Aéreos (do inglês: *International Air Transport Association*)
- IPCC – Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (do inglês: *Intergovernmental Panel on Climate Change*)
- LOD – limite de detecção (do inglês: *limit of detection*)
- LOQ – limite de quantificação (do inglês: *limit of quantification*)
- máx. – máximo

MF – monômero funcional

mín. – mínimo

MIP – polímero molecularmente impresso (do inglês: *molecularly imprinted polymer*)

MM – molécula molde

NIP – polímero não impresso (do inglês: *non imprinted polymer*)

o-PD – *o*-fenilenodiamina (do inglês: *o-phenylenediamine*)

R_a – rugosidade média (do inglês: *roughness average*)

R_{ct} – resistência à transferência de carga (do inglês: *charge transfer resistance*)

RMS – raiz do valor quadrático médio (do inglês: *root mean square*)

rpm – rotação por minuto

R_s – resistência da solução (do inglês: *solution resistance*)

RSD – desvio padrão relativo (do inglês: *relative standard deviation*)

SALPN – N,N'-bis(salicilideno)-1,2-propanodiamina

SD – destilação a vapor (do inglês: *steam distillation*)

SDE – destilação e extração simultânea (do inglês: *simultaneous distillation and extraction*)

SEM-FEG – microscopia eletrônica de varredura com canhão de emissão de campo (do inglês: *scanning electron microscopy-field emission gun*)

SIP – isoparafinas sintéticas (do inglês: *synthetic isoparaffins*)

SPK – querosene parafínico sintético (do inglês: *synthetic paraffinic kerosene*)

SPK-FT – querosene parafínico sintético obtido pelo processo de Fischer-Tropsch (do inglês: *synthesized paraffinic kerosene-Fischer-Tropsch*)

SPK-HEFA – querosene parafínico sintético obtido pelo hidrocessamento de ésteres e ácidos graxos (do inglês: *synthesized paraffinic kerosene-hydroprocessing of esters and fatty acids*)

TX – Texas

Ubrabio – União Brasileira do Biodiesel e Bioquerosene

W – elemento de difusão de Warburg

LISTA DE SÍMBOLOS

% – porcentagem

$[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-4/-3}$ – par redox ferrocianeto/ferricianeto

$[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-3}$ – íon ferrocianeto

$[\text{Fe}(\text{Cp}_2)]^{0/+1}$ – par redox ferroceno/ferrocino

> – maior

\geq – maior ou igual

A – Ampère

A_a – área ativa

Ag/AgCl – eletrodo de prata/cloreto de prata ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$)

c – comprimento

C – concentração

C_{HHF} – concentração de HHF

cm – centímetro

d – diâmetro

D_0 – coeficiente de difusão

F – constante de Faraday

g – grama

Hz – hertz

i_0 – corrente inicial

i_p – corrente de pico

i_{pa} – corrente de pico anódica

i_{pc} – corrente de pico catódica

i_x – corrente final

K_D – constante de dissociação aparente

kg – quilograma

kHz – quilohertz

km^2 – quilômetro quadrado

$\text{k}\Omega$ – quiloohm

L – litro

m^3 – metro cúbico

M – média das recuperações
m – sensibilidade
mg – miligrama
mL – mililitro
m:m – relação massa:massa
mV – milivolt
MΩ – megaohm
n^o – número
n – número de repetições
n_e – número de elétrons
nm – nanômetro
ppm – parte por milhão
Q – carga
r – coeficiente de correlação de Pearson
Rec.% – quantidade percentual recuperada
Rec._{100%} – recuperação percentual desejada
s – segundo
S – desvio-padrão
S_{x/y} – desvio padrão residual
v^{1/2} – raiz quadrada da velocidade de varredura
V – Volt
v:v – relação volume:volume
vs. – *versus*
α – fator de impressão
β – fator de seletividade
Δi – diferença de corrente
μA – microampère
μg – micrograma
μm – micrômetro
Γ – excesso superficial
θ – grau de cobertura

SÚMARIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	Bioquerosene de aviação.....	18
1.2	Hexahidrofarnesol.....	22
1.3	Métodos de determinação de hexahidrofarnesol.....	24
1.4	Sensores eletroquímicos.....	25
2	OBJETIVOS.....	29
2.1	Objetivo geral.....	29
2.2	Objetivos específicos.....	29
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	30
3.1	Instrumentação.....	30
3.2	Reagentes e soluções.....	30
3.3	Procedimento de limpeza do eletrodo de carbono vítreo.....	31
3.4	Comportamento eletroquímico do HHF em eletrodo de carbono vítreo....	31
3.5	Preparação do sensor GCE-MIP.....	31
3.6	Caracterização do sensor GCE-MIP.....	32
3.7	Medidas eletroquímicas.....	33
3.8	Estudo de seletividade.....	33
3.9	Determinação de HHF em bioquerosene de aviação.....	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	36
4.1	Comportamento eletroquímico do HHF em eletrodo de carbono vítreo....	36
4.2	Preparação e caracterização do sensor GCE-MIP.....	39
4.2.1	Eletropolimerização da <i>o</i> -PD na superfície do GCE.....	39
4.2.2	Caracterização eletroquímica do sensor GCE-MIP.....	42
4.2.3	Caracterização da superfície do sensor GCE-MIP.....	45
4.3	Otimização dos parâmetros experimentais.....	49
4.3.1	Razão molar entre o monômero funcional e a molécula molde.....	50
4.3.2	Efeito do número de ciclos na eletropolimerização.....	51
4.3.3	Efeito do pH no processo de eletropolimerização.....	52
4.3.4	Efeito do tempo de extração da molécula molde.....	54
4.3.5	Efeito do tempo de religação.....	57

4.4	Performance analítica do sensor GCE-MIP.....	58
4.5	Isoterma de adsorção de Langmuir.....	59
4.6	Seletividade do sensor GCE-MIP.....	63
4.7	Repetibilidade inter-dia e intra-dia.....	66
4.8	Estabilidade do sensor GCE-MIP.....	66
4.9	Determinação de HHF em bioquerosene de aviação.....	66
4.10	Validação da metodologia analítica desenvolvida.....	68
5	CONCLUSÕES.....	70
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 Bioquerosene de aviação

A necessidade de locomoção das pessoas é uma característica marcante da população mundial. Atualmente, a tendência é que essa necessidade aumente com o desenvolvimento de países emergentes como África do Sul, Brasil e Índia. Os principais meios de transporte utilizados pelas pessoas na atualidade são abastecidos por combustíveis fósseis derivados do petróleo, tais como gasolina, diesel e querosene (1). Devido à agilidade e à segurança, o transporte aéreo, abastecido pelo querosene de aviação, tem sido um dos meios de transporte mais utilizados pela população em geral.

O querosene de aviação é um combustível obtido através do refino do petróleo, composto basicamente por alcanos de cadeias saturadas contendo entre 9 e 15 carbonos. Tais hidrocarbonetos possuem uma taxa lenta de evaporação e um baixo ponto de congelamento, além de serem insolúveis em água (2). O consumo atual de querosene de aviação no Brasil é em torno de 8 milhões de m³ por ano e a estimativa é que esse valor se eleve para 12 milhões em 2020 (3).

A forte dependência do setor aéreo para com o querosene de aviação contribui com a poluição atmosférica devido à liberação de CO₂. De acordo com Araujo (2), o transporte aéreo, com a queima de combustíveis fósseis, produz cerca de 2% de todo o CO₂ liberado para a atmosfera, sendo que esse valor pode atingir cerca de 3% em 2050, caso as companhias aéreas continuem a crescer em uma taxa constante de 5% ao ano. Embora o percentual de CO₂ liberado pelas aeronaves seja considerado pequeno, segundo o IPCC (Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas) (4), esses níveis são mais prejudiciais quando comparados com outras fontes emissoras, uma vez que o CO₂ emitido pelos aviões é lançado próximo à camada de ozônio, intensificando o efeito estufa, e conseqüentemente, o aquecimento global.

Diante da necessidade de se reduzir as emissões de poluentes, as empresas aéreas associadas a IATA (Associação Internacional de Transportes Aéreos) se comprometeram a diminuir em 50% as emissões de CO₂ até 2050, tendo como referência os níveis emitidos em 2005 (5). Além disso, novas tecnologias estão

sendo desenvolvidas para a produção de querosenes alternativos de aviação, também conhecidos como bioquerosenes de aviação.

Os bioquerosenes de aviação pertencem à classe dos biocombustíveis de segunda geração, os quais são produzidos a partir de matérias-primas renováveis que não sejam utilizadas como fontes de alimentação humana (2). Além de não concorrer com a indústria alimentícia, a matéria-prima de um biocombustível de segunda geração não deve ameaçar o ecossistema em que está inserida, não deve necessitar de grandes quantidades de água para sua produção, deve agregar valores socioeconômicos à região em que está sendo cultivada, deve ser produzida em terras inapropriadas para a produção de alimentos, e claro, proporcionar a redução de emissão de poluentes e fornecer conteúdo energético igual ou superior ao apresentado pelos combustíveis fósseis (6-7). Dessa forma, a literatura tem destacado algumas potenciais matérias-primas para produção de bioquerosenes de aviação, como os óleos de pinhão-manso (8), macaúba (9), babaçu e carmelina (10). Neste âmbito, o Brasil por apresentar o quinto maior território do mundo com aproximadamente 8.511.965 km² e por possuir uma indústria aeronáutica com várias companhias aéreas é reconhecido como um espaço propício para o cultivo dessas matérias-primas e para o desenvolvimento de novas tecnologias para a produção de bioquerosene de aviação (11,12).

Outro fator importante a ser considerado no cenário brasileiro de transportes aéreos é a logística de produção e distribuição de biocombustíveis de aviação para os aeroportos. De acordo com Oliveira (13), o Brasil possui 108 aeroportos que recebem voos nacionais e internacionais, representando cerca de 1 milhão de voos anuais dentro do espaço aéreo brasileiro, além desses voos, outros 62 mil voos internacionais anuais saem do Brasil com destino 58 aeroportos em 35 países. Nesse cenário, apenas os voos internacionais representam o consumo de 60% de todo o querosene de aviação consumido no país (13). Essas características demonstram o futuro promissor que o Brasil possui dentro do setor de biocombustíveis de aviação.

De modo geral, o bioquerosene de aviação ou querosene parafínico sintético (SPK) é constituído essencialmente por isoparafinas, n-parafinas e cicloparafinas. Atualmente, existem três principais rotas tecnológicas para a obtenção de bioquerosene de aviação: processo Fischer-Tropsch (FT),

hidroprocessamento de ésteres e ácidos graxos (HEFA) e fermentação de açúcares para a obtenção de isoparafinas sintéticas (SIP) (15).

O querosene alternativo SPK-FT é um biocombustível obtido a partir do processo Fischer-Tropsch, utilizando um catalisador de ferro (Fe) ou cobalto (Co). O processo Fischer-Tropsch é um processo químico para a produção de hidrocarbonetos líquidos utilizando compostos gasosos como materiais de partida. Nesse processo, a biomassa é gaseificada em altas temperaturas e os principais produtos gasosos de sua decomposição são os gases hidrogênio e o monóxido de carbono, que por sua vez, se combinam na superfície de um catalisador de Fe ou Co para a produção de hidrocarbonetos líquidos e água (15).

O querosene alternativo SPK-HEFA é um biocombustível obtido através de uma reação de transesterificação, semelhante à da produção de biodiesel, onde um ácido graxo reage com um álcool em presença de um catalisador para a formação de ésteres. Em comparação com a produção de biodiesel, essa rota de produção necessita de uma etapa adicional para a purificação e a separação das frações mais leves dos ésteres produzidos, uma vez que são os ésteres mais leves que possuem características adequadas para serem utilizados como bioquerosene de aviação (15).

O querosene alternativo SIP é um biocombustível que é produzido utilizando leveduras geneticamente modificadas para transformar açúcares em hidrocarbonetos líquidos a partir do processo de fermentação. Esse processo é semelhante à produção de etanol, entretanto, ao invés de produzir etanol, a fermentação utilizando essas leveduras produz farneseno, que após sofrer uma reação de hidrogenação é transformado em farnesano (2,6,10-trimetildodecano), uma molécula que possui características adequadas para ser utilizada como bioquerosene de aviação (13). A Figura 1 apresenta as estruturas das moléculas de farneseno e farnesano:

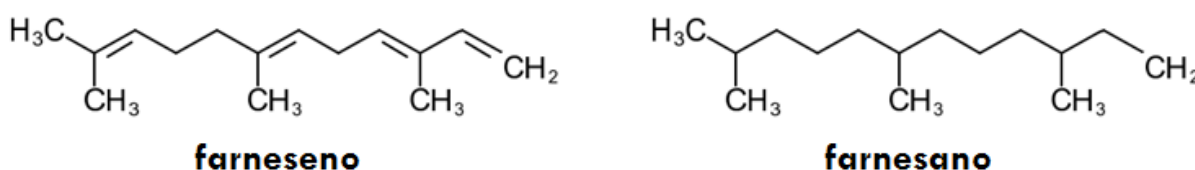


Figura 1 - Representação estrutural das moléculas de farneseno e farnesano.

O bioquerosene de aviação precisa ser aprovado por órgãos reguladores para que possa ser produzido e distribuído para o abastecimento do mercado aéreo. No cenário internacional, o bioquerosene de aviação é regulamentado pela Sociedade Americana para Testes e Materiais (ASTM) através da norma D7566 (16), que contém as especificações para os combustíveis alternativos de aviação. Já no Brasil, seguindo as recomendações da ASTM, o bioquerosene de aviação é regulamentado pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), através da resolução nº 63, de 05/12/2014 (14).

Por apresentar condições favoráveis para o desenvolvimento de novas tecnologias para a produção de bioquerosene de aviação e pela existência de uma regulamentação vigente para esse biocombustível, várias empresas estão investindo no Brasil para a produção de querosenes alternativos para a aviação.

Dentre as iniciativas nacionais para o desenvolvimento de tecnologias para a produção de bioquerosene de aviação, destaca-se a JETBIO, empresa especializada em projetos para biocombustíveis. A empresa com sede no estado de São Paulo, possui uma parceria com a multinacional SG Biofuels para o desenvolvimento de bioquerosene de aviação, utilizando como matéria-prima o óleo de pinhão-manso. De acordo com estudos realizados na Universidade Tecnológica de Michigan, quando comparado com o querosene de aviação convencional derivado do petróleo, o bioquerosene de aviação produzido a partir do pinhão-manso reduz em cerca de 65% a 80% as emissões de gases do efeito estufa (17).

Além da parceria com a SG Biofuels, a JETBIO é líder de uma iniciativa que conta com outras empresas que estão interessadas na produção de bioquerosene de aviação a partir do pinhão-manso, como a Airbus, o Banco Interamericano de Desenvolvimento (BID), a Bioventures Brasil, a Rio Pardo Bioenergia, a Air BP e a TAM Linhas Aéreas (17).

As características do mercado aéreo brasileiro também têm motivado empresas multinacionais de bioenergia a se instalarem no Brasil e a investirem no desenvolvimento de tecnologias para a produção de bioquerosene de aviação. Entre as tecnologias mais avançadas em desenvolvimento no país, estão as instalações das empresas Solazyme e Amyris.

A Solazyme é uma empresa fundada em 2003 na Califórnia nos Estados Unidos e produz bioquerosene de aviação a partir de microalgas alimentadas com açúcares. O primeiro voo comercial utilizando o bioquerosene produzido pela

Solazyme aconteceu em 2011 entre as cidades de Houston e Chicago nos Estados Unidos. De acordo com dados da própria empresa, este voo de 1700 quilômetros deixou de emitir entre 10 a 12 toneladas de CO₂ para a atmosfera. A Solazyme atua no Brasil desde 2011 em parceria com a empresa Bunge, onde construíram uma unidade para a produção de bioquerosene de aviação no interior do Estado de São Paulo, no município de Orindiúva (13).

Também de origem americana, a Amyris é uma empresa fundada em Berkeley no ano de 2003 por pesquisadores da Universidade da Califórnia. A Amyris se instalou no Brasil em 2007 no município de Brotas (SP) e, desde 2012, em parceria com a multinacional francesa Total (a maior distribuidora de querosene de aviação da Europa), produz farnesano a partir do caldo de cana-de-açúcar, utilizando uma linhagem de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificadas para realizar o processo de fermentação (13).

O primeiro voo teste no Brasil utilizando uma mistura de querosene de aviação convencional com o bioquerosene produzido pela Amyris foi realizado em 2012 durante a Conferência Rio+20. O voo realizado entre os aeroportos de Viracopos (SP) e Santos Dumont (RJ) em um jato da Azul Linhas Aéreas contou com a presença de 60 pessoas, dentre elas jornalistas, autoridades políticas e executivas das empresas envolvidas. O teste demonstrou que o biocombustível utilizado teve uma avaliação positiva, uma vez que apresentou um desempenho similar ao combustível fóssil e reduziu as taxas de emissões de poluentes (18). Ainda dentro da Rio+20, a União Brasileira do Biodiesel e Bioquerosene (Ubrabio) lançou a Plataforma Brasileira de Bioquerosene com o objetivo de afirmar a importância socioeconômica e ambiental da utilização dos biocombustíveis e demonstrar que esta prática já pode ser uma realidade para o setor de aviação (19).

1.2 Hexahidrofarnesol

Durante o processo de conversão de açúcares em hidrocarbonetos para a obtenção de isoparafinas sintéticas (SIP), além do farneseno, outro isoprenóide produzido é o farnesol, que após sofrer uma reação de hidrogenação é transformado em hexahidrofarnesol (HHF) (3,7,11-trimetil-1-dodecanol), que é o principal contaminante do querosene alternativo SIP. A Figura 2 apresenta a estrutura das moléculas de farnesol e HHF:

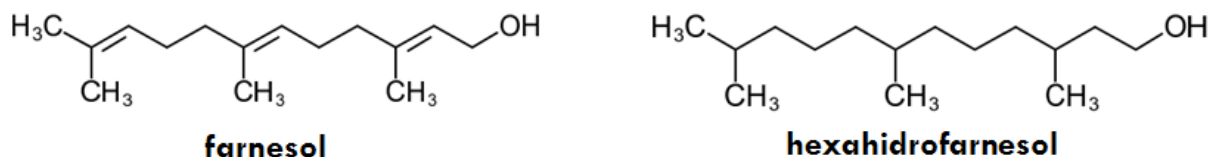


Figura 2 - Representação estrutural das moléculas de farnesol e hexahidrofarnesol.

De acordo com a norma D7566 da ASTM (16), a composição requerida para o querosene alternativo de aviação obtido através da fermentação de açúcares é apresentada pela Tabela 1.

Tabela 1 - Composição do querosene alternativo SIP.

Composição	Unidade	Limite	Método
 Hidrocarbonetos saturados, mín.	% (m:m)	98	D7974
 Farnesano, mín.	% (m:m)	97	D7974
 Hexahidrofarnesol, máx.	% (m:m)	1,5	D7974
 Olefinas, máx.	mgBr ₂ :100g	300	D2710/IP 299
 Aromáticos, máx.	% (m:m)	0,5	D2425
 Carbono e hidrogênio, mín.	% (m:m)	99,5	D5291
 Nitrogênio, máx.	mg:kg	2	D4629/IP 379
 Água, máx.	mg:kg	75	D6304/IP 438
 Enxofre, máx.	mg:kg	2	D5453/D2622F
 Metais (Al, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Pd, Pt, Sn, Sr, Ti, V e Zn), máx.	ppm	0,1 por metal	D7111/UOP 389
 Halogênios	mg:kg	1 por halogênio	D7359

Fonte: Adaptado de ASTM (16).

Conforme observado na Tabela 1, o querosene alternativo SIP deve ser composto por no mínimo 97% em massa de farnesano e no máximo 1,5% em massa de HHF. Em virtude do HHF ser o principal contaminante do farnesano, que é o

componente majoritário do bioquerosene de aviação, concentrações superiores a 1,5% na mistura podem afetar consideravelmente o desempenho das aeronaves. A preocupação com a presença do HHF no bioquerosene de aviação se deve principalmente a sua solubilidade em água e a degradação dos componentes do sistema de combustível, uma vez que esse contaminante pode formar cadeias poliméricas e sedimentar-se nas estruturas que compõem esse sistema. Diante disso, se fazem necessárias metodologias analíticas capazes de permitir a determinação da concentração deste contaminante no bioquerosene de aviação, garantindo assim a qualidade deste biocombustível.

1.3 Métodos de determinação de hexahidrofarnesol

Conforme estabelece a norma D7974 da ASTM (20), a determinação de HHF em bioquerosene de aviação deve ser realizada pela técnica de GC-FID. Enquanto que, na literatura, as metodologias descritas para a determinação dessa molécula em diversas matrizes são baseadas na técnica de GC-MS.

Rodríguez-Solana et al. (21) identificaram a presença da molécula de HHF em extratos de erva-doce, utilizando a técnica de GC-MS, porém, neste trabalho, não houve a quantificação deste analito.

Yang et al. (22) quantificaram a molécula de HHF durante um estudo sobre a mudança da composição do aroma do suco de framboesa durante o armazenamento por 20 dias, utilizando a técnica de GC-MS. Neste trabalho, os autores determinaram uma concentração de $26 \mu\text{g L}^{-1}$ para a molécula de HHF no início do armazenamento e observaram que, após 15 dias de armazenamento, a concentração desta molécula no aroma do suco de framboesa era de $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$.

Peng et al. (23) determinaram a concentração de HHF e de outros compostos voláteis presente em folhas de tabaco por GC-MS utilizando diferentes técnicas de extração: destilação a vapor (SD), destilação e extração simultânea (SDE) e codestilação *headspace* (HCD). As concentrações de HHF obtidas utilizando as técnicas de extrações SD, SDE e HCD foram 0,57; 0,76 e $0,61 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

Embora a técnica de cromatografia gasosa possua um alto poder de resolução, necessite de uma pequena quantidade de amostra e seja considerada uma excelente metodologia quantitativa, permitindo a detecção de concentrações da

ordem de picogramas (10^{-12} g) a miligramas (10^{-3} g), essa técnica possui alguns inconvenientes, como a análise de apenas substâncias voláteis e termicamente estáveis, limitações nos aspectos qualitativos das separações, dificuldade de ser utilizada como uma técnica preparativa e a necessidade de uma etapa de pré-tratamento da amostra, que aumenta consideravelmente o custo e o tempo de duração das análises (24,25).

Devido às limitações apresentadas pela técnica de cromatografia gasosa, torna-se interessante o desenvolvimento de novas metodologias que permitam a determinação da concentração de HHF no bioquerosene de aviação.

1.4 Sensores eletroquímicos

A utilização de sensores eletroquímicos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos devido a algumas características vantajosas apresentadas por esses dispositivos, como portabilidade, possibilidade de automação, obtenção de informações *in situ*, sensibilidade, seletividade, pequenos limites de detecção e quantificação e baixo custo dos equipamentos (26).

Os sensores eletroquímicos podem ser constituídos por eletrodos não modificados (convencionais), tais como carbono, ouro, platina e mercúrio e por eletrodos modificados. O termo eletrodo quimicamente modificado (do inglês, *chemically modified electrode* – CME) foi introduzido na eletroquímica por Murray et al. (27) para caracterizar os eletrodos que possuíam algum tipo de espécie eletroativa imobilizada em sua superfície. O principal objetivo dessa modificação é estabelecer um maior controle da natureza físico-química da interface eletrodo/solução, de modo a alterar a reatividade e a seletividade do eletrodo em relação à espécie de interesse, possibilitando assim, a produção de eletrodos para diversas aplicações analíticas (28).

O primeiro relato da utilização de um CME foi realizado em 1973, quando Lane e Hubbard (29) adsorveram na superfície de eletrodos de platina várias olefinas funcionalizadas. Este trabalho propiciou a investigação da capacidade do ácido 3-alil-salicílico em se coordenar seletivamente com íons ferro em função do potencial aplicado.

Mais tarde, em 1975, Murray et al. (27) relataram a modificação de eletrodos de SnO_2 , via organosilanos, com grupos amino, piridínio e etilenodiamino. Ainda em

1975, Watkins et al. (30) desenvolveram CMEs para a eletrossíntese de álcoois a partir da redução de cetonas. Para a preparação desses CMEs, eletrodos de carbono vítreo, via grupos carboxilas, foram modificados com aminoácidos opticamente ativos por meio de ligações covalentes.

Atualmente, dentre os diversos materiais utilizados para se modificar a superfície de eletrodos, pode-se destacar os polímeros molecularmente impressos (do inglês, *molecularly imprinted polymers* – MIPs) devido a sua capacidade de agir como receptores seletivos à molécula de interesse. A Figura 3 apresenta o esquema geral de preparação dos MIPs.

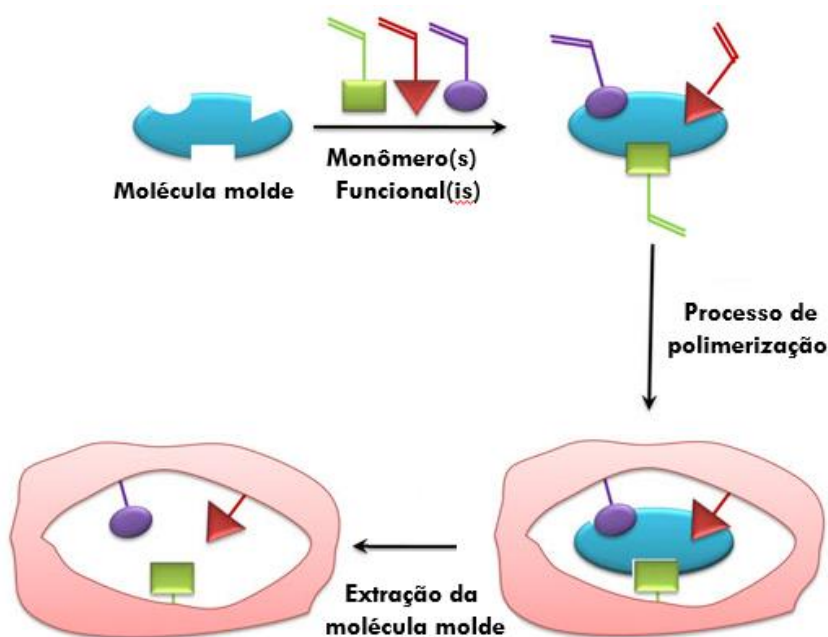


Figura 3 - Esquema geral de preparação dos MIPs. Adaptado de Malisteta et al. (31).

A síntese dos MIPs baseia-se em envolver uma molécula molde (MM) em torno de uma matriz polimérica (que possui um monômero funcional (MF) como precursor) através de um processo de polimerização, de modo que as interações entre a MM e o MF ocorram através dos grupos funcionais destas espécies em posições complementares aos grupos funcionais da molécula de interesse. A remoção da MM proporciona a formação de cavidades seletivas ao analito. Dependendo do tamanho da MM, tais cavidades podem até apresentar uma capacidade enantiosseletiva (32), o que permite a aplicação destes dispositivos em matrizes complexas que apresentem moléculas estruturalmente similares em sua composição.

A interação do analito com as cavidades do MIP pode produzir uma resposta analítica direta ou indireta. A resposta analítica será obtida diretamente quando o analito for eletroativo na faixa de potencial utilizada durante a análise. Desta forma, o sinal obtido será diretamente proporcional à concentração da espécie de interesse que ocupará as cavidades impressas no polímero. Analogamente, a resposta analítica será obtida indiretamente quando o analito não for eletroativo na faixa de potencial investigada. Desta forma, obtém-se a resposta analítica através de um par redox conhecido, que atuará como uma “sonda eletroquímica”, tais como, os pares $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-4/-3}$ e $[\text{Fe}(\text{Cp}_2)]^{0/+1}$. Neste contexto, a resposta analítica obtida será do par redox que ocupará as cavidades impressas no polímero, de modo que a diminuição da resposta do par redox será proporcional ao aumento da concentração da espécie de interesse.

Um dos métodos utilizados para a preparação de MIPs é o método de eletropolimerização, que consiste na mistura de uma solução contendo um MF com uma solução contendo a MM em uma célula eletroquímica, e na aplicação de uma programação de potencial característica de eletropolimerização do monômero utilizado. Além disso, a eletropolimerização possibilita um maior controle da espessura do polímero através das condições eletroquímicas empregadas (33).

Dentre os MFs utilizados para a preparação de MIPs, a *o*-fenilenodiamina (*o*-PD) apresenta características adequadas para estes fins, uma vez que essa estrutura forma um polímero fino e compacto na superfície do eletrodo, proporcionando um curto tempo de resposta para o sensor eletroquímico desenvolvido (33). A Figura 4 apresenta a estrutura da molécula de *o*-PD:

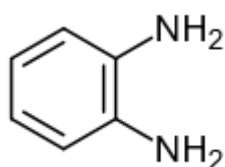


Figura 4 - Representação estrutural da molécula de *o*-fenilenodiamina.

Na literatura, embora não se tenha registro de nenhum sensor para a determinação de HHF, alguns trabalhos relatam a determinação de diferentes álcoois utilizando sensores eletroquímicos baseados em MIPs com *o*-PD. Pan et al. (34), realizaram a determinação de 4-nonilfenol em amostras de água utilizando um sensor eletroquímico baseado na copolimerização dos monômeros

o-PD e *o*-toluidina sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com nanofitas de grafeno dopadas com nitrogênio e com o líquido iônico N-metil-piperidínio bis((trifluorometil)sulfonil)imida. Esse sensor apresentou uma faixa linear de $4,0 \times 10^{-8}$ a $6,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e um limite de detecção de $8,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹.

Beluomini et al. (35), desenvolveram um sensor eletroquímico baseado em um filme de *o*-PD eletropolimerizado sobre a superfície de um GCE modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro para a determinação de D-manitol (2R,3R,4R,5R-hexano-1,2,3,4,5,6-hexol) em vinhaça de cana-de-açúcar. O sensor apresentou duas faixas lineares em um intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-12}$ a $3,0 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹. O sensor apresentou um limite de detecção de $7,7 \times 10^{-13}$ mol L⁻¹, um limite de quantificação de $2,6 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹ e uma sensibilidade amperométrica de $3,9 \times 10^{10}$ μ A L mol⁻¹.

Peng e Chen (36), desenvolveram um sensor eletroquímico para a determinação de bisfenol A em amostras de água baseado na eletropolimerização de um filme de *o*-PD sobre a superfície de um GCE modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas. O sensor apresentou uma faixa linear de $4,0 \times 10^{-7}$ a $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e um limite de detecção de $6,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

Como se pôde observar, a literatura relata a possibilidade de utilização de MIPs com *o*-PD na preparação de sensores eletroquímicos para a determinação de diferentes álcoois (desde cadeias curtas com vários grupos -OH, até cadeias longas com apenas um grupo -OH, como o HHF). O largo emprego do monômero *o*-PD no preparo de MIPs para essas moléculas se deve à interação que é estabelecida entre o átomo de nitrogênio do grupo -NH₂ da *o*-PD e o átomo de oxigênio do grupo -OH que está presente na estrutura dessas espécies. Essa interação é de fundamental importância para a síntese dos MIPs, pois esta possibilita o aprisionamento da molécula molde na matriz polimérica durante o processo de polimerização, e a sua posterior ruptura permite a formação das cavidades impressas para o reconhecimento da molécula de interesse.

Diante da possibilidade da utilização de MIPs com *o*-PD para a determinação de álcoois e a inexistência de metodologias eletroanalíticas descritas na literatura para a determinação de HHF, torna-se propício o desenvolvimento de um sensor eletroquímico baseado em MIP (utilizando o monômero funcional *o*-PD) para a determinação de HHF em bioquerosene de aviação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um sensor eletroquímico baseado em um eletrodo modificado com MIP (utilizando o monômero funcional *o*-PD) para a determinação de HHF em bioquerosene de aviação.

2.2 Objetivos específicos

Estudar o comportamento eletroquímico do HHF em eletrodo de carbono vítreo.

Preparar eletrodos de carbono vítreo modificados com MIP (utilizando o monômero funcional *o*-PD) para a detecção de HHF.

Caracterizar os eletrodos modificados através de técnicas eletroquímicas, microscópicas e espectroscópicas.

Desenvolver uma metodologia voltamétrica para a quantificação de HHF.

Determinar HHF em bioquerosene de aviação utilizando o sensor desenvolvido.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentação

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB – PGSTAT 30 controlado pelo software NOVA 1.11 utilizando uma célula eletroquímica convencional composta por três eletrodos: um eletrodo de referência de Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$), um fio de platina ($d = 0,3 \text{ mm}$ e $c = 4,0 \text{ cm}$) como eletrodo auxiliar e um GCE ($d = 3,0 \text{ mm}$ e $A_a = 7,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$) modificado com MIP como eletrodo de trabalho.

Todos os experimentos foram realizados em temperatura ambiente e todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em triplicata.

3.2 Reagentes e soluções

o-fenilenodiamina (*o*-PD) ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$, > 99%); acetonitrila ($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$, 99,9%); ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 98%); ferricianeto de potássio ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, $\geq 99\%$); perclorato de lítio (LiClO_4 , 99,99%); 2,6-di-*terc*-butil-4-metil-fenol (BHT) ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$, $\geq 99\%$); farnesano ($\text{C}_{15}\text{H}_{32}$, $\geq 96\%$) e *N,N'*-bis(salicilideno)-1,2-propanodiamina (SALPN) ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$, $\geq 98\%$) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Cloreto de potássio (KCl, $\geq 99\%$), acetato de sódio anidro ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$, $\geq 98\%$), ácido acético glacial ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$, > 99%) foram adquiridos da Synth. Etanol absoluto ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, > 99%) foi adquirido da Merck e hexahidrofarnesol (HHF) ($\text{C}_{15}\text{H}_{32}\text{O}$, 96%) foi adquirido da ChemSampCo (Dallas, TX, EUA).

As soluções estoques de HHF $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, farnesano $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, BHT $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e SALPN $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram preparadas em etanol. A solução estoque de *o*-PD $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada em solução tampão de acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,8). Uma solução de etanol-ácido acético 9:1 (v:v) foi utilizada para extrair a molécula molde de HHF da matriz polimérica de *o*-PD. As soluções de HHF utilizadas durante os experimentos de religação foram preparadas em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtida de um sistema Milli-Q.

3.3 Procedimento de limpeza do eletrodo de carbono vítreo

Primeiramente, o GCE foi polido em uma suspensão de alumina de granulometria 0,30 μm . Após o polimento, o eletrodo foi lavado com água ultrapura. Em seguida, a fim de garantir uma completa remoção das impurezas adsorvidas na superfície do eletrodo, utilizando o banho ultrassônico, o GCE foi imerso em etanol durante 1 minuto para a remoção de possíveis partículas de alumina adsorvidas em sua superfície. Para a ativação da superfície do eletrodo, o GCE foi submetido a 10 varreduras cíclicas em H_2SO_4 0,50 mol L^{-1} em um intervalo de potencial de -0,50 a 1,5 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L^{-1}) utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

3.4 Comportamento eletroquímico do HHF em eletrodo de carbono vítreo

Com o objetivo de investigar o comportamento eletroquímico do HHF no eletrodo de carbono vítreo, o GCE foi imerso em uma solução hidroalcoólica de etanol na proporção 1:1 (v:v) contendo KCl 0,50 mol L^{-1} e HHF $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} . Através da técnica de voltametria cíclica foi realizada uma varredura de potencial em uma faixa de 0 a 1,2 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L^{-1}) empregando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

O comportamento eletroquímico do HHF em eletrodo de carbono vítreo também foi investigado em meio não aquoso, onde o GCE foi imerso em uma solução de acetonitrila contendo LiClO_4 0,10 mol L^{-1} e HHF $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} . Através da técnica de voltametria cíclica foi realizada uma varredura de potencial em uma faixa de 0,50 a 2,0 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L^{-1}) empregando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

3.5 Preparação do sensor GCE-MIP

Para a preparação do sensor impresso, uma solução de *o*-PD $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} (monômero funcional) em tampão acetato 0,20 mol L^{-1} (pH 4,8) e uma solução de HHF $2,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} (molécula molde) em etanol foram misturadas na proporção 1:1 (v:v). A solução resultante foi estocada por 5 horas para a interação entre a *o*-PD e o HHF. Após esse período, a eletropolimerização foi realizada aplicando 25 ciclos voltamétricos consecutivos em um intervalo de potencial

de -0,40 a 1,0 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Após a eletropolimerização, para remover a molécula molde da matriz polimérica de o-PD, o eletrodo foi inserido em uma solução etanol-ácido acético 9:1 (v:v) por 60 segundos a temperatura ambiente sob baixas velocidades de agitação (entre 40-50 rpm). Para comparação, um sensor não impresso (GCE-NIP) foi preparado sob as mesmas condições na ausência de HHF.

3.6 Caracterização do sensor GCE-MIP

A caracterização eletroquímica do sensor impresso foi realizada através das técnicas de voltametria cíclica (CV) e de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Voltamogramas cíclicos foram obtidos durante as etapas de preparação do sensor em uma faixa de potencial de -0,20 a 0,60 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . A técnica de CV também foi utilizada para investigar como os processos eletroquímicos ocorrem na superfície do sensor GCE-MIP com base no efeito da velocidade de varredura sobre as correntes observadas para o sensor impresso em um intervalo de 10 a 500 mV s^{-1} utilizando uma faixa de potencial de -0,30 a 0,90 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$).

Os espectros de impedância eletroquímica foram obtidos no potencial de 0,22 V em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,10 Hz utilizando uma amplitude de potencial (RMS) de 10 mV vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$). Todos os estudos de caracterização eletroquímica foram realizados utilizando uma solução $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$.

A caracterização morfológica do sensor GCE-MIP foi realizada utilizando um microscópio eletrônico de varredura com canhão de emissão de campo (SEM-FEG) da marca JEOL, modelo JSM 7500F.

A especiação química do sensor GCE-MIP foi investigada utilizando um espectrômetro RAMAN, marca HORIBA JOBIN YVON, modelo LabRAM HR800, empregando um laser de He-Ne em 633 nm.

As imagens topográficas da superfície do sensor impresso foram obtidas pela técnica de microscopia de força atômica (AFM) utilizando um microscópio comercial (BRUKER, NanoScope V) no modo "tapping" em uma velocidade de varredura de $2 \mu\text{m s}^{-1}$.

3.7 Medidas eletroquímicas

Após a extração da molécula molde, o sensor GCE-MIP foi imerso em soluções de diferentes concentrações de HHF em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ por 15 minutos sob baixas velocidades de agitação (entre 40-50 rpm) para a religação das moléculas de HHF em suas cavidades. Em seguida, o sensor foi inserido em uma célula convencional de três eletrodos, tendo o sensor GCE-MIP como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) e um fio de platina como eletrodo auxiliar para a realização das medidas eletroquímicas utilizando uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em KCl 0,50 mol L⁻¹.

A resposta do sensor impresso foi monitorada através da técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV) em uma faixa de potencial de -0,20 a 0,50 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) utilizando uma velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹, uma amplitude de pulso de 50 mV, uma largura de pulso de 50 ms e um tempo de pulso de 0,5 s. Os valores de corrente do sensor foram obtidos através da diferença (Δi) entre a corrente inicial (i_0) e a corrente final (i_x), de modo que i_0 é a corrente obtida quando a concentração de HHF é 0 e i_x é a corrente obtida quando a concentração de HHF é X mol L⁻¹.

As figuras de mérito como sensibilidade (m), limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) foram obtidas mediante a análise da curva analítica: a sensibilidade (m) foi obtida através do coeficiente angular da curva analítica, enquanto que o LOD foi calculado através da relação $\frac{3S_{x/y}}{m}$ e o LOQ foi calculado através da relação $\frac{10S_{x/y}}{m}$, considerando que m e $S_{x/y}$ representem respectivamente a inclinação e o desvio padrão residual da curva analítica ($n=3$).

3.8 Estudo de seletividade

A capacidade de reconhecimento seletivo das cavidades impressas às moléculas de HHF foi investigada utilizando outras moléculas que estão presentes no bioquerosene de aviação e que poderiam interferir na resposta do sensor GCE-MIP, como farnesano, BHT e SALPN.

Após a extração da molécula molde, o sensor impresso foi imerso em soluções de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ de farnesano, BHT e SALPN em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$

$5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sob baixas velocidades de agitação (entre 40-50 rpm) durante 15 minutos. A resposta do sensor GCE-MIP na presença dessas moléculas foi monitorada através da técnica de DPV utilizando uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$.

3.9 Determinação de HHF em bioquerosene de aviação

Para a aplicação do sensor desenvolvido, uma amostra de bioquerosene de aviação (querosene alternativo SIP) foi adquirida da empresa AMYRIS. Para a quantificação do HHF, uma alíquota de 6,6 mL de bioquerosene de aviação foi diluída em etanol na proporção 2:1 (bioquerosene de aviação:etanol, v:v). A solução resultante foi novamente diluída 1000 vezes em uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ para a realização das medidas voltamétricas.

A determinação de HHF foi realizada através do método de adição de padrão e a validação da metodologia desenvolvida foi realizada através de ensaios de recuperação do analito. A quantidade percentual recuperada foi calculada através da seguinte equação:

$$Rec. \% = \frac{C_2}{C_1} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde, $Rec. \%$ representa a quantidade percentual recuperada para n repetições e C_1 e C_2 correspondem a concentração utilizada para fortificar a amostra e a concentração encontrada na amostra fortificada respectivamente.

O valor médio obtido através dos ensaios de recuperação para cada concentração foi analisado utilizando o desvio padrão residual (RSD) e o teste t de Student não pareado. O RSD foi calculado através da seguinte equação:

$$RSD = \frac{S}{M} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde, S corresponde ao desvio-padrão das recuperações e M corresponde à média das recuperações.

O teste t de Student não pareado foi calculado pela seguinte equação:

$$t = \frac{(Rec.\% - Rec.100\%)}{\frac{S}{\sqrt{n}}} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde, $Rec.\%$ representa a quantidade percentual recuperada, $Rec.100\%$ representa a recuperação percentual desejada, n representa o número de determinações (3) e S corresponde ao desvio-padrão das recuperações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Comportamento eletroquímico do HHF em eletrodo de carbono vítreo

Com o objetivo de investigar o comportamento eletroquímico do HHF no eletrodo de carbono vítreo, o GCE foi imerso em uma solução hidroalcoólica de etanol na proporção 1:1 (v:v) contendo HHF $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$. Através da técnica de voltametria cíclica, foi realizada uma varredura de potencial em uma faixa de 0 a 1,2 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) empregando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Os perfis voltamétricos do GCE na ausência e na presença do HHF são apresentados na Figura 5:

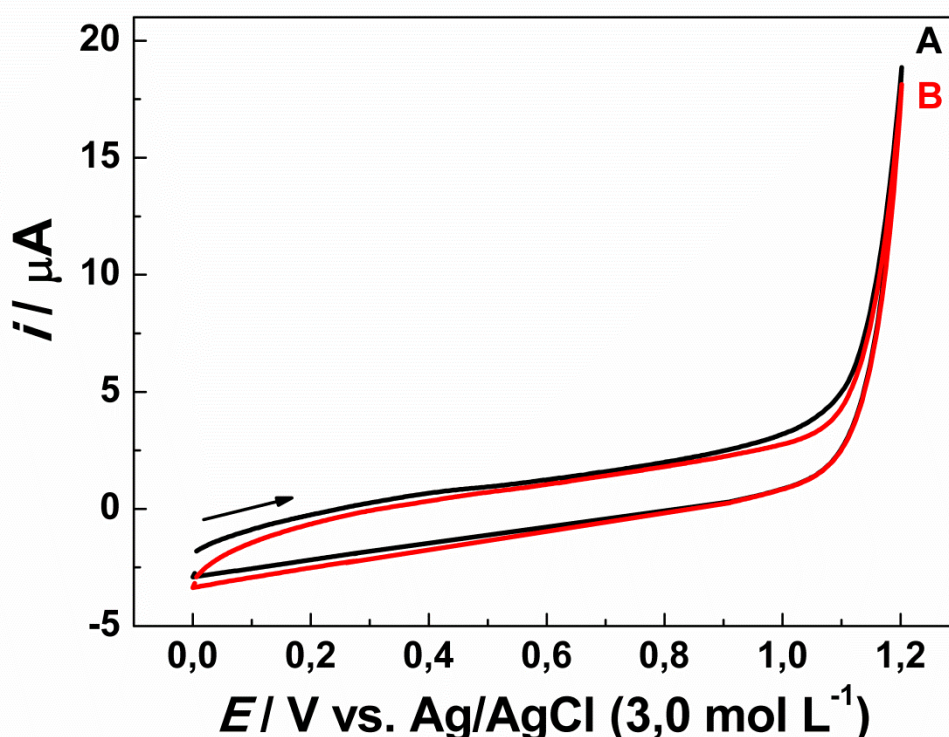


Figura 5 - Voltamogramas cíclicos do GCE na (A) ausência e na (B) presença de HHF $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução hidroalcoólica de etanol (1:1, v:v) em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

O voltamograma cíclico A corresponde ao eletrodo de carbono vítreo na presença da solução hidroalcoólica de etanol (1:1, v:v) em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$, onde observa-se que o GCE apresentou seu comportamento característico de carregamento da dupla-camada elétrica, sendo observado uma descarga referente a

oxidação da água (61). Já o voltamograma cíclico indicado pela letra B foi obtido na presença de HHF $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução hidroalcoólica de etanol (1:1, v:v) em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$, onde nota-se que os perfis voltamétricos obtidos apresentaram comportamentos semelhantes, não sendo observado nenhum pico referente a oxidação do HHF na faixa de potencial investigada.

A oxidação do HHF não foi possível de ser realizada na faixa de potencial estudada devido à necessidade de altos potenciais anódicos para a ocorrência de sua oxidação, como mostra a Figura 6, onde os voltamogramas do GCE na presença e na ausência do HHF foram obtidos em uma solução de acetonitrila em LiClO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$.

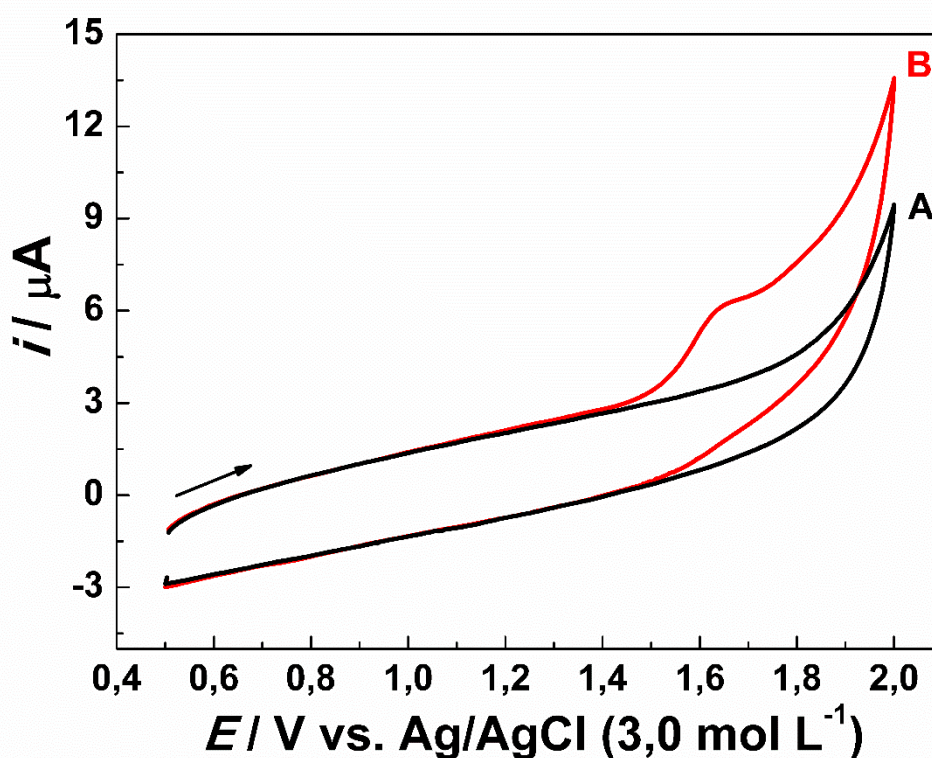


Figura 6 - Voltamogramas cíclicos do GCE na (A) ausência e na (B) presença de HHF $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução de acetonitrila em LiClO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

Na Figura 6, o voltamograma cíclico A corresponde ao eletrodo de carbono vítreo somente na presença da solução de acetonitrila em LiClO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, onde observa-se que o GCE apresentou seu comportamento característico de carregamento da dupla-camada elétrica, conforme discutido na figura anterior. Já o voltamograma cíclico B foi obtido na presença de HHF $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma

solução de acetonitrila em LiClO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, onde é possível observar um pico em $1,64 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) referente a oxidação do HHF. Contudo, a utilização de solventes orgânicos, como a acetonitrila, dificulta o processo de eletropolimerização da *o*-PD, pois esses solventes promovem o intumescimento desse polímero. Dessa forma, não se torna propício o desenvolvimento de um sensor impresso utilizando a *o*-PD em meio não aquoso.

Como o potencial de oxidação do HHF é considerado relativamente alto, utilizando a espécie $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-3}$ como sonda eletroquímica, optou-se pelo desenvolvimento de uma metodologia indireta para a determinação dessa molécula. Neste contexto, quando o HHF está em baixa concentração, algumas das cavidades impressas não são ocupadas pelas moléculas de HHF, e permitem a difusão da sonda eletroquímica até as proximidades do eletrodo, de modo que a espécie $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-3}$ é oxidada através de um mecanismo de esfera externa (55), produzindo uma determinada resposta voltamétrica. Com o aumento da concentração, essas cavidades passam a ser ocupadas pelas moléculas de HHF e a sonda eletroquímica fica impedida de chegar até as proximidades da superfície eletródica, resultando em uma diminuição na resposta voltamétrica. Dessa forma, a diminuição da resposta obtida para a espécie $[\text{Fe}(\text{CN}_6)]^{-3}$ é proporcional ao aumento da concentração do HHF.

4.2 Preparação e caracterização do sensor GCE-MIP

4.2.1 Eletropolimerização da *o*-PD na superfície do GCE

A eletropolimerização da *o*-PD foi realizada na presença da molécula de HHF através da técnica de voltametria cíclica em um intervalo de potencial de -0,40 a 1,0 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) empregando uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹ durante 25 ciclos voltamétricos. A Figura 7 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos durante a etapa de eletropolimerização da *o*-PD na superfície do GCE utilizando uma solução composta por 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ de *o*-PD em tampão acetato 0,20 mol L⁻¹ (pH 4,8) e por 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ HHF em etanol na proporção 1:1 (v:v):

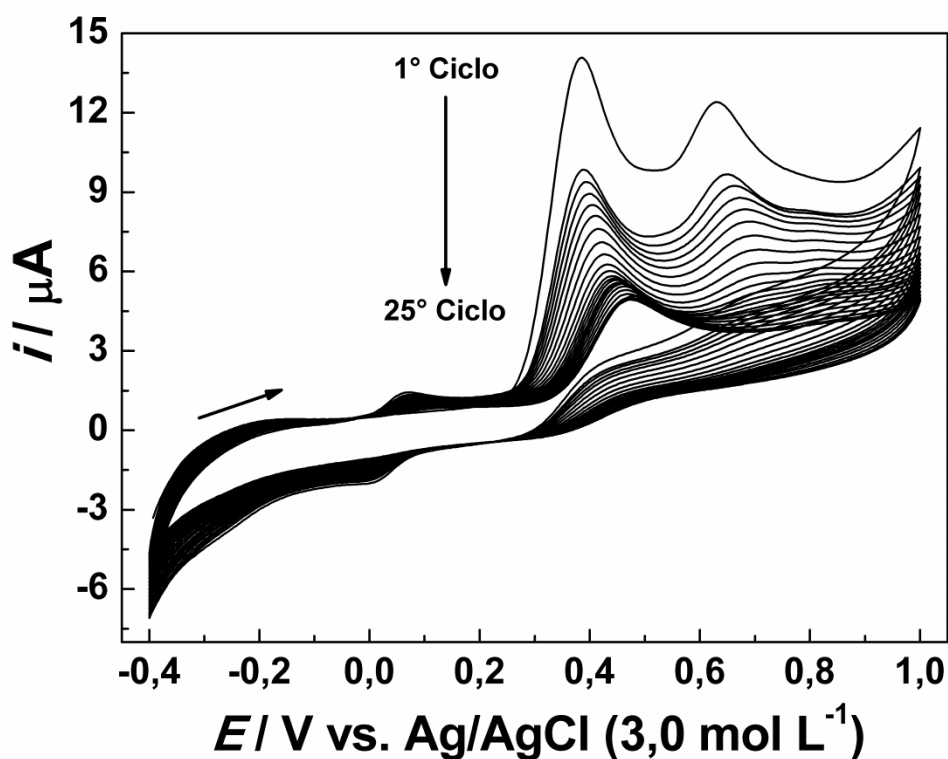


Figura 7 - Voltamogramas cíclicos para a eletropolimerização de 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ de *o*-PD na presença de 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ de HHF em uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

Ao analisar a Figura 7, observa-se a presença de dois picos anódicos irreversíveis em 0,38 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) e 0,63 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) respectivamente. O pico anódico mais intenso em 0,38 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) corresponde a oxidação da *o*-PD para seu estado de dímero, que é um radical

catiônico univalente, já o pico observado em 0,63 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) corresponde a oxidação desse radical catiônico univalente para um radical catiônico divalente, que desencadeia todo o processo de eletropolimerização da *o*-PD (37).

Conforme se pode observar na Figura 8, a reação de eletropolimerização da *o*-PD ocorre a partir da condensação do grupo amina de uma unidade de *o*-PD com o anel benzênico de outra unidade de *o*-PD subsequente, levando à formação de cadeias poliméricas lineares (38).

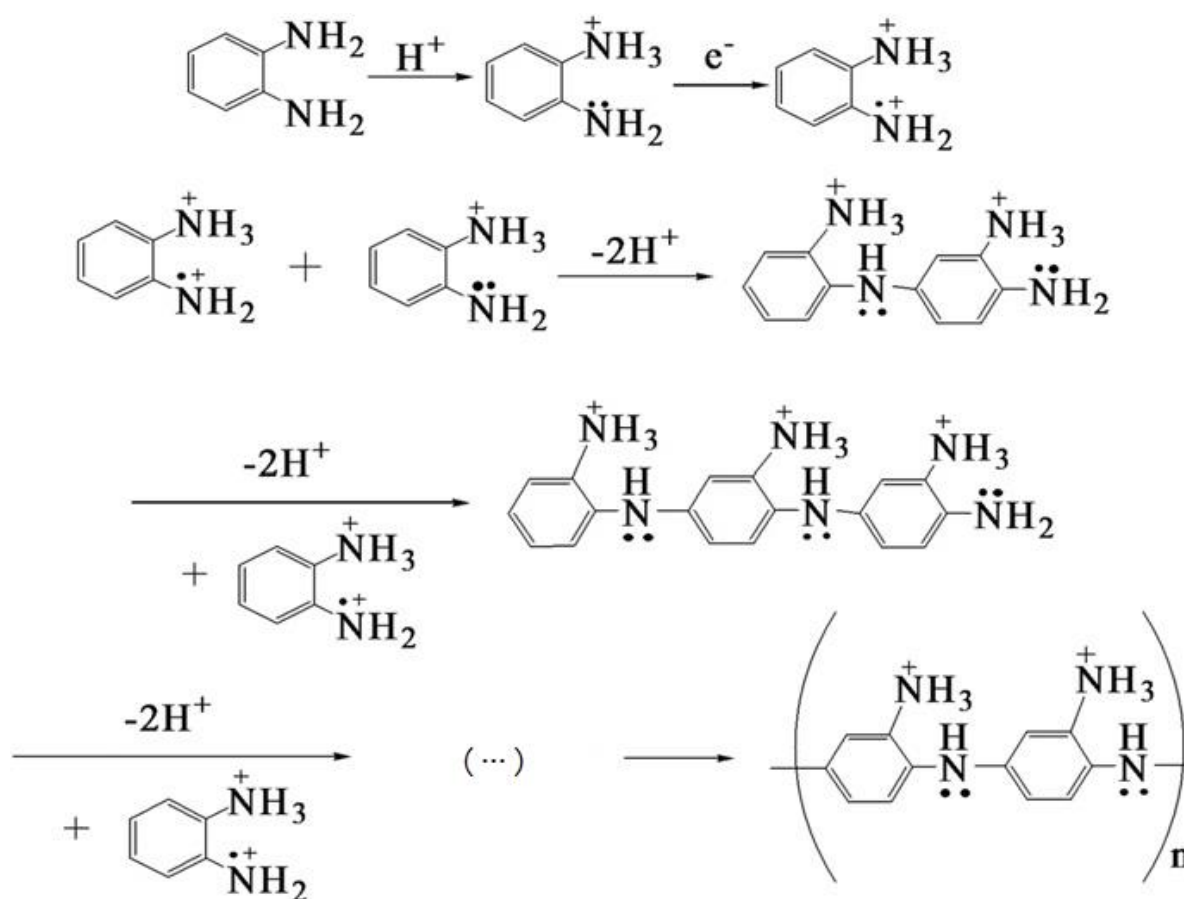


Figura 8 - Esquema geral da eletropolimerização da *o*-PD. Adaptado de Li et al. (38).

Ainda na Figura 7, observa-se que as intensidades de corrente dos picos anódicos em 0,38 e 0,63 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) diminuem com o aumento do número de ciclos, indicando a formação de um filme menos condutor na superfície do GCE durante o processo de eletropolimerização. Após o 1º ciclo de varredura, observou-se o surgimento de um pico catódico e um pico anódico em 0 e 0,07 V vs. Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) respectivamente, que foram atribuídos aos processos de redução e oxidação do filme de *o*-PD presente na superfície do GCE (37,39,40). A

reação redox ocorrida com o filme de *o*-PD durante o processo de eletropolimerização é apresentada pela Figura 9:

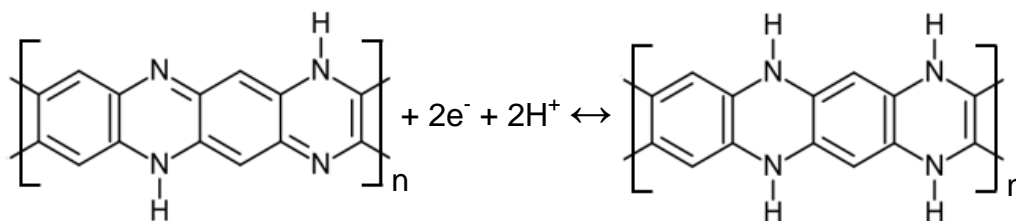


Figura 92 - Reação redox ocorrida com o filme de *o*-PD.

Durante a preparação do sensor não impresso (GCE-NIP), não foi verificada nenhuma diferença significativa entre os voltamogramas cíclicos obtidos para a eletropolimerização da *o*-PD na presença e na ausência de HHF, indicando que essa molécula não teve nenhum comportamento eletroativo na faixa de potencial utilizada para a eletropolimerização, logo, sua estrutura permaneceu inalterada durante este processo, o que propiciou a formação de cavidades para o seu posterior reconhecimento.

4.2.2 Caracterização eletroquímica do sensor GCE-MIP

A caracterização eletroquímica do sensor GCE-MIP foi realizada através das técnicas de voltametria cíclica (CV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). A Figura 10 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos durante as etapas de preparação do sensor GCE-MIP:

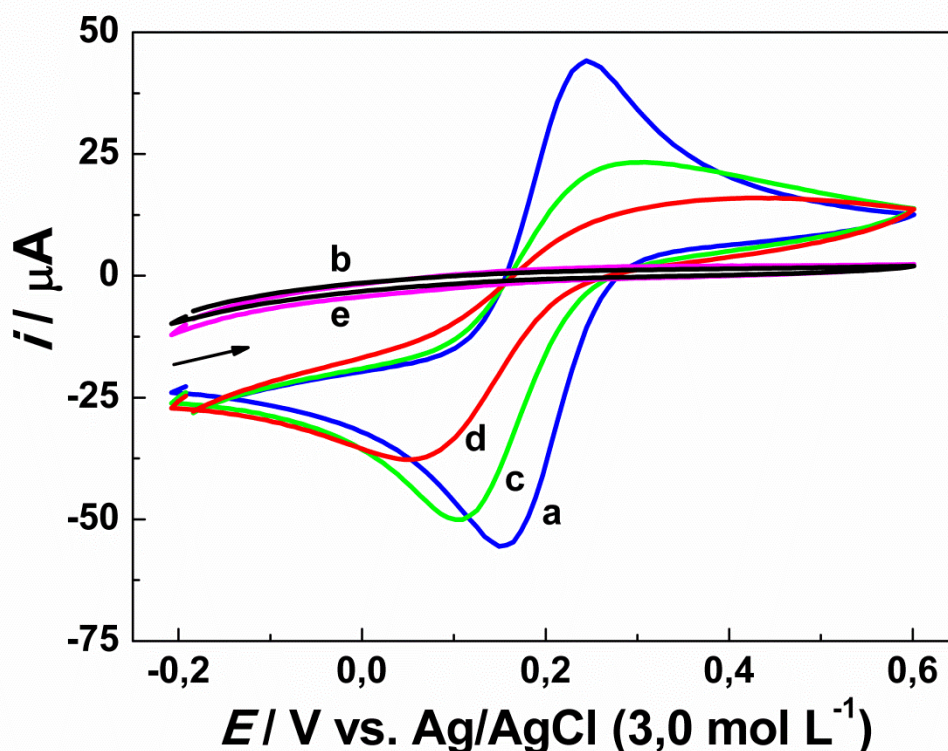


Figura 10 - Voltamogramas cíclicos em uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} para: (a) GCE, (b) GCE-MIP antes da remoção da molécula molde, (c) GCE-MIP após a remoção da molécula molde, (d) GCE-MIP após a religação em uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e (e) GCE-NIP, utilizando uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$.

Ao analisar a Figura 10, observa-se um par de picos redox bem definidos característicos das espécies $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ para o GCE (curva a). Esses picos redox não foram observados para o GCE-MIP antes da remoção da molécula molde e para o GCE-NIP (curvas b e e respectivamente), indicando a presença de um filme pouco condutor de o-PD na superfície do GCE, que impediu a sonda eletroquímica de se aproximar da superfície eletródica. Após a remoção da molécula molde utilizando uma solução de etanol-ácido acético 9:1 (v:v), foi novamente observado a presença do par de picos redox da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ (curva c), indicando que durante o processo de extração do molde, as moléculas de HHF foram removidas da matriz

polimérica de *o*-PD para a formação de cavidades que permitiram o acesso da sonda eletroquímica até o eletrodo. Ao realizar o processo de religação utilizando uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, constatou-se uma diminuição na intensidade do par de picos redox (curva *d*) em comparação com os resultados apresentados pela curva *c*, indicando que as moléculas de HHF ocuparam as cavidades impressas do sensor e impediram que a sonda eletroquímica se aproximasse da superfície eletródica, confirmando que o processo de formação de cavidades para o reconhecimento de HHF foi realizado com sucesso.

A técnica de CV também foi utilizada para investigar como os processos eletródicos ocorrem na superfície do sensor GCE-MIP com base no efeito da velocidade de varredura sobre as correntes de pico do sensor. As Figuras 11A e 11B mostram a influência da velocidade de varredura sobre as correntes de pico anódica e catódica do sensor GCE-MIP.

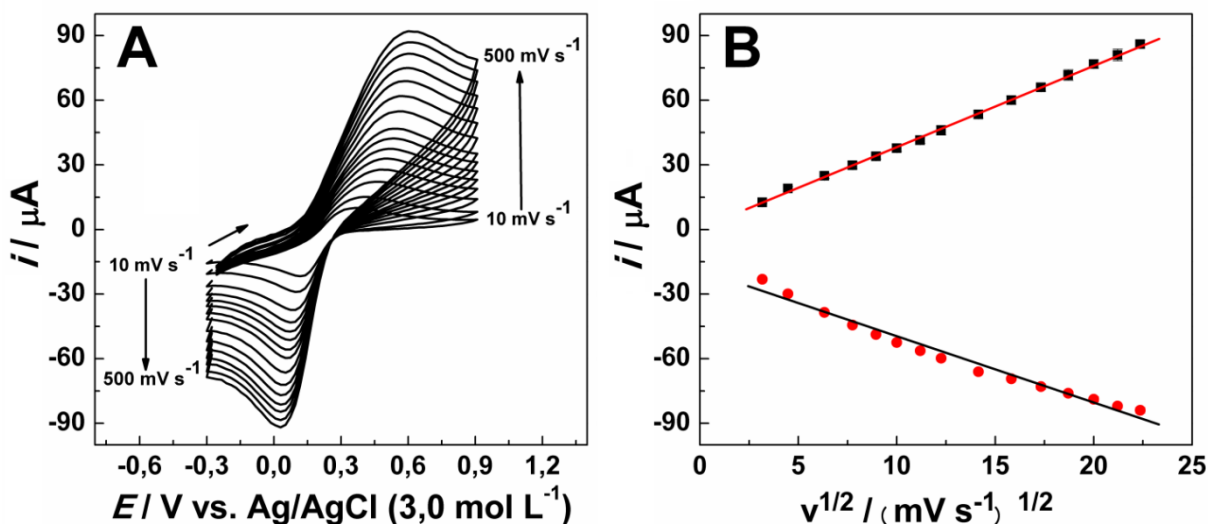


Figura 11 - (A) Voltamogramas cíclicos para o sensor GCE-MIP utilizando uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,50 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura. (B) Relação entre as correntes de pico anódica e catódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura.

Como pode-se observar nas Figuras 11A e 11B, as correntes de pico anódica (i_{pa}) e catódica (i_{pc}) aumentam com a velocidade de varredura em um intervalo de 10 a 500 mV s^{-1} , de modo que i_{pa} e i_{pc} variam linearmente com a raiz quadrada da velocidade e podem ser expressas como: $i_{pa} \text{ (A)} = 3,79 \times 10^{-6} v^{1/2} + 4,11 \times 10^{-7}$ ($r = 0,9994$) e $i_{pc} \text{ (A)} = -3,05 \times 10^{-6} v^{1/2} - 1,96 \times 10^{-5}$ ($r = 0,9892$), indicando que o sensor eletroquímico possui processo eletródico controlado pela difusão da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ (41).

A resistência de transferência de carga do sensor GCE-MIP foi investigada através da técnica de EIS utilizando uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,50 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos pela EIS são representados pelos diagramas de Nyquist apresentados na Figura 12:

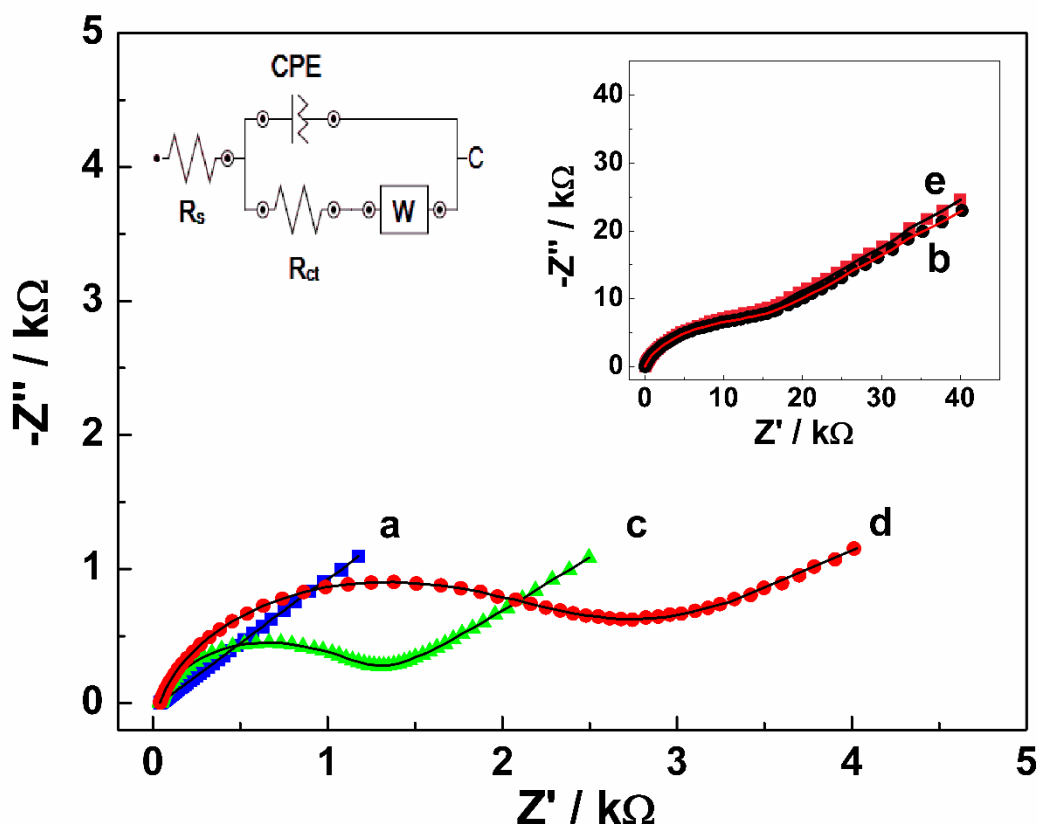


Figura 12 - Espectros de impedância eletroquímica para: (a) GCE, (b) GCE-MIP antes da remoção da molécula molde, (c) GCE-MIP após a remoção da molécula molde, (d) GCE-MIP após a religação em uma solução de $\text{HHF } 1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e (e) GCE-NIP, utilizando um potencial de $0,22 \text{ V vs. Ag/AgCl } (3,0 \text{ mol L}^{-1})$ e uma amplitude de potencial (RMS) de $10 \text{ mV vs. Ag/AgCl } (3,0 \text{ mol L}^{-1})$ em uma faixa de frequência de $100 \text{ kHz a } 0,10 \text{ Hz}$. Inserção: Circuito equivalente ao diagrama de Nyquist composto pela resistência da solução (R_s), pela resistência de transferência de carga (R_{ct}), pelo elemento de constante de fase (CPE) e pelo elemento de difusão de Warburg (W).

A Figura 12 apresenta os diagramas de Nyquist obtidos durante as etapas de preparação do sensor GCE-MIP, que são compostos de uma parte semicircular em altas frequências e uma parte linear em baixas frequências. Um circuito equivalente a esses diagramas é mostrado na inserção da Figura 12. Neste circuito, R_s corresponde a resistência da solução, enquanto que o CPE corresponde ao elemento de constante de fase e o R_{ct} representa a resistência de transferência de carga. Em altas frequências, o CPE e o R_{ct} são responsáveis pela formação de um

semicírculo e a impedância nesse intervalo é controlada pela cinética de transferência de carga. A região linear observada em baixas frequências é atribuída ao elemento de difusão de Warburg (W), que está conectado ao R_{ct} , de modo que a impedância nessa região é controlada pelo processo difusional. O valor do R_{ct} equivale ao diâmetro do semicírculo observado em altas frequências e possui uma relação inversa com a difusão das espécies até a superfície do eletrodo (42,43). Desta forma, os resultados de EIS foram discutidos em função dos valores de R_{ct} , visto que este é o elemento do circuito que descreve de forma mais simples a transferência de carga ocorrida na interface eletrodo-solução durante as reações eletroquímicas.

A Figura 12 mostra uma linha praticamente reta para o GCE (curva *a*), indicando que quase não há resistência à transferência de carga na superfície de carbono vítreo. Entretanto, após o processo de eletropolimerização, verificou-se uma elevada resistência à transferência de carga para os eletrodos GCE-MIP ($R_{ct} = 15,7 \text{ k}\Omega$) e GCE-NIP ($R_{ct} = 16,9 \text{ k}\Omega$) (curvas *b* e *e*) devido a formação de um filme polimérico pouco condutor de *o*-PD, que restringiu à transferência de carga entre a sonda redox e a superfície do eletrodo. Na curva *c*, observa-se uma diminuição considerável na resistência à transferência de carga ($R_{ct} = 1,2 \text{ k}\Omega$) após a extração da molécula molde, indicando a formação de cavidades que permitiram a difusão da sonda até as proximidades do eletrodo. Contudo, a curva *d* mostra que a resistência à transferência de carga aumentou após o processo de religação ($R_{ct} = 2,6 \text{ k}\Omega$), indicando que as moléculas de HHF se recombinaram com as cavidades impressas do sensor e reduziram os locais de acesso da sonda até o eletrodo. Estes resultados são concordantes com os estudos de CV, indicado que as cavidades de reconhecimento de HHF foram efetivamente formadas durante o processo de eletropolimerização.

4.2.3 Caracterização da superfície do sensor GCE-MIP

A caracterização morfológica do sensor GCE-MIP foi realizada através da técnica de microscopia eletrônica de varredura com canhão de emissão de elétrons por efeito de campo (SEM-FEG). A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica de caracterização microestrutural que permite a obtenção de imagens detalhadas da morfologia do material analisado. O princípio de funcionamento de um

microscópio eletrônico de varredura consiste na focalização de um feixe de elétrons sobre a superfície da amostra. A interação do feixe de elétrons com a superfície analisada produz uma série de sinais que são captados por um detector e convertidos em imagens monocromáticas, onde os diferentes tons de cinza estão associados com as intensidades dos sinais registrados (44). A Figura 13 apresenta as imagens de SEM-FEG obtidas para o GCE e para o sensor GCE-MIP:

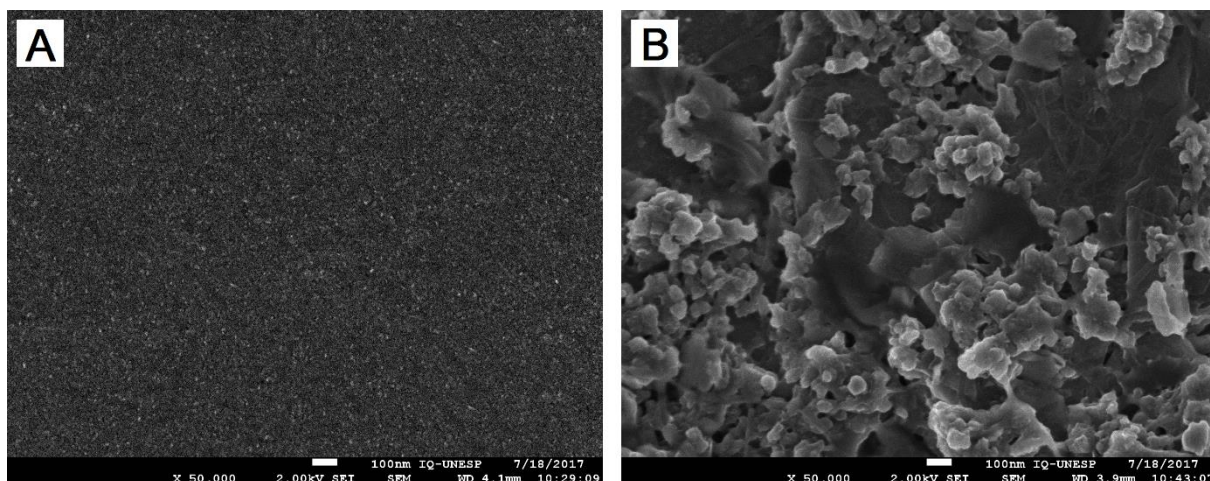


Figura 13 - Imagens de SEM-FEG para: (A) GCE e (B) GCE-MIP.

Na Figura 13A, pode-se observar uma superfície uniforme, praticamente lisa, correspondente ao GCE sem modificação. Já na Figura 13B, é observada uma superfície mais rugosa devido à presença de um filme polimérico de *o*-PD sobre a superfície do GCE. Ao analisar a Figura 13B, nota-se que o filme de *o*-PD se aderiu de forma compacta sobre toda a extensão do GCE. Além disso, é possível observar que esse filme polimérico não se apresenta de forma homogênea sobre a superfície do GCE, sendo possível observar a presença de aglomerados em algumas regiões.

A especiação química da superfície do sensor GCE-MIP foi investigada através da espectroscopia RAMAN. Essa técnica consiste na utilização de uma radiação laser que é focalizada sobre o material analisado. Ao incidir na superfície do material, o laser é espalhado por todas as direções, sendo que alguns feixes desse laser são espalhados com uma frequência ou comprimento de onda diferente da radiação incidente (espalhamento inelástico). A diferença de energia entre a radiação incidente e a espalhada corresponde à frequência de vibração dos átomos presente na superfície da amostra. Essa frequência de vibração, por sua vez, permite a obtenção de informações de como os átomos estão interagindo entre si e

quais ligações químicas estão sendo formadas na superfície analisada (45). O gráfico que representa a intensidade da radiação espalhada em função de sua energia é chamado de espectro RAMAN. A Figura 14 apresenta o espectro RAMAN obtido para o sensor GCE-MIP:

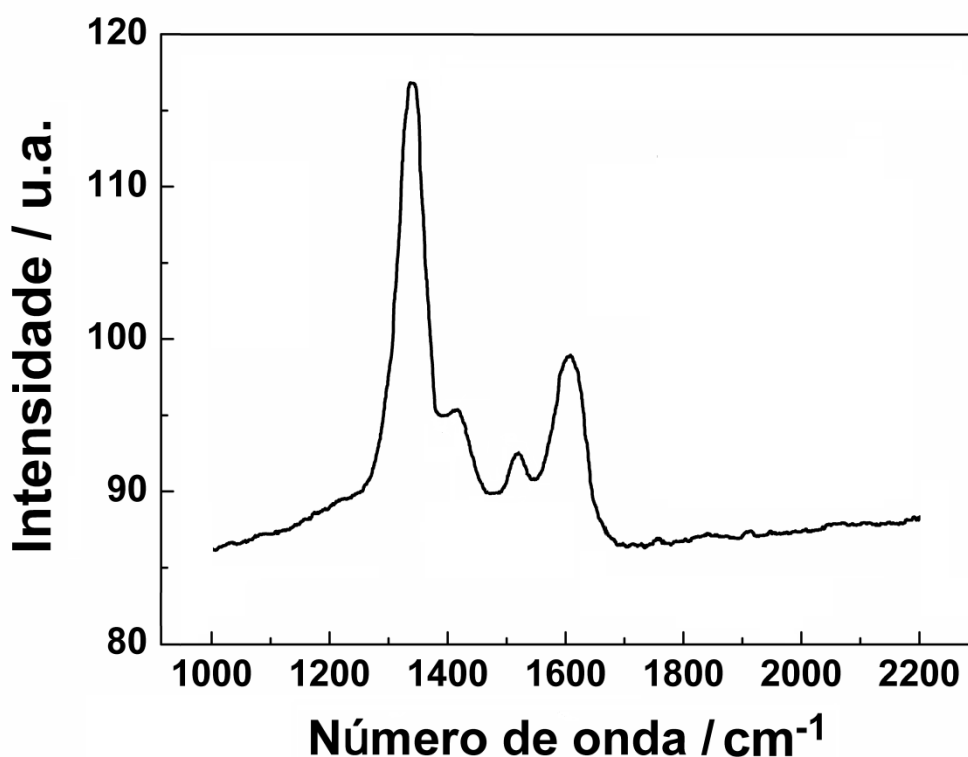


Figura 14 - Espectro RAMAN para o sensor GCE-MIP.

Na Figura 14, os picos mais intensos observados em 1330 e 1603 cm^{-1} correspondem respectivamente às bandas D e G, características das estruturas de carbono. A banda G observada em 1603 cm^{-1} é atribuída a todos os átomos de carbono da estrutura do GCE com hibridização sp^2 , enquanto que a banda D em 1330 cm^{-1} é atribuída aos defeitos estruturais proveniente da ligação de grupos oxigenados ao plano basal do carbono vítreo (46,47). Além destes, outros dois picos menos intensos foram observados em 1410 e 1507 cm^{-1} . O pico em 1410 cm^{-1} é atribuído à flexão no plano da ligação C=N e o pico em 1507 cm^{-1} é atribuído ao estiramento e a flexão da ligação C=C do anel benzênico, confirmando a existência de um filme de *o*-PD na superfície do GCE. Além disso, a presença da ligação C=N indica que esse filme polimérico se encontra em sua forma oxidada na superfície do eletrodo (39,48,49).

As análises topográficas da superfície do sensor GCE-MIP foram realizadas através da técnica de microscopia de força atômica (AFM). O princípio de funcionamento de um microscópio de força atômica baseia-se no mapeamento da superfície da amostra por uma agulha, normalmente de silício, ao longo dos três eixos cartesianos (x , y , z) através de um braço de suporte (*cantilever*). As interações entre os átomos que compõe a extremidade da agulha com os átomos que compõe a superfície da amostra fazem com que o *cantilever* se aproxime ou se afaste da superfície analisada. Durante o mapeamento, um feixe de laser é direcionado para o *cantilever*, e as variações na topografia da superfície provocam diferentes deflexões neste instrumento. As deflexões sofridas pelo *cantilever* são captadas por um detector de fotodiodo. Os dados obtidos pelo fotodetector são enviados para um computador, que converte essas informações em imagens topográficas 2D e 3D (50,51). As imagens de AFM permitem a obtenção de várias informações sobre a superfície analisada, como topografia, rugosidade e espessura. As imagens tridimensionais de AFM obtidas durante as etapas de preparação do sensor GCE-MIP são apresentadas na Figura 15 e foram discutidas em termos da espessura do filme polimérico de o-PD e da rugosidade média (R_a) da superfície.

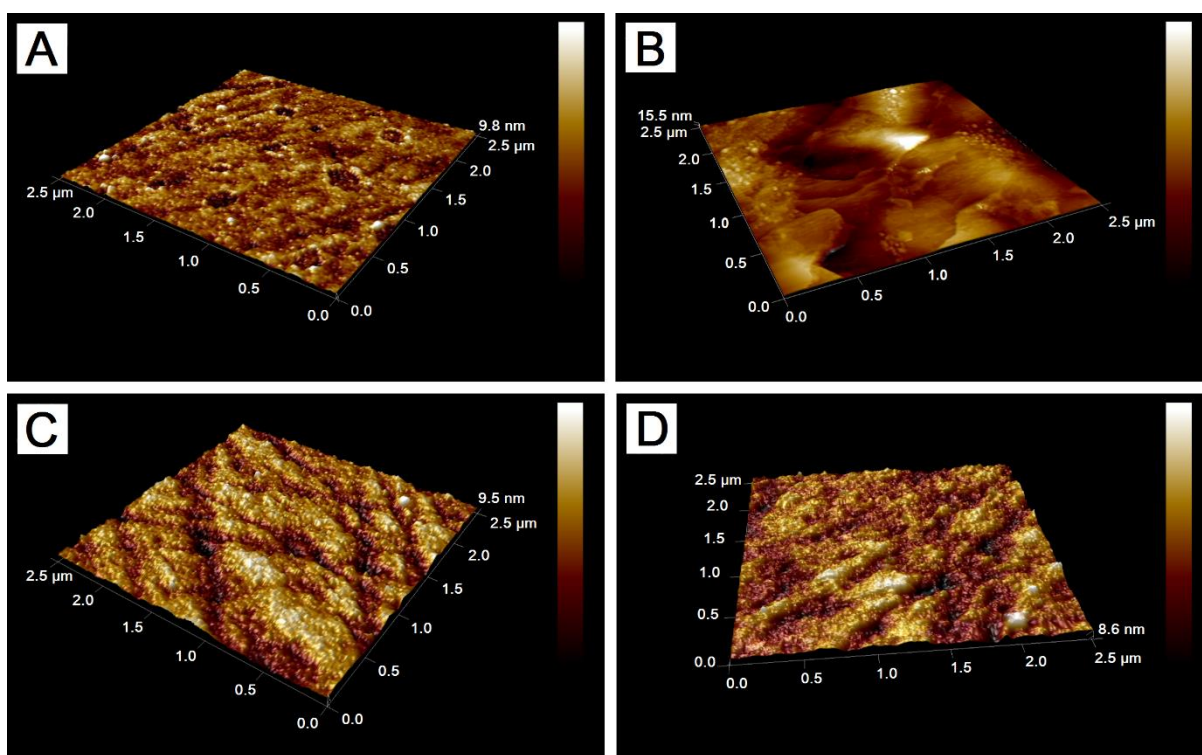


Figura 15 - Imagens de AFM para: (A) GCE-MIP após a eletropolimerização, (B) GCE-NIP após a eletropolimerização, (C) GCE-MIP após a remoção da molécula molde e (D) GCE-MIP após a religação em uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Ao analisar a Figura 15A, obtida para o sensor GCE-MIP, nota-se que o filme de *o*-PD na presença da molécula de HHF apresenta uma espessura de 9,8 nm e uma rugosidade (R_a) de 1,88 nm. Já para a eletropolimerização da *o*-PD na ausência de HHF (Figura 15B), observa-se a formação de um filme mais compacto, com uma espessura de 15,5 nm. Durante a etapa de eletropolimerização, tudo indica que a molécula de HHF, por ter um tamanho relativamente grande, atue como um interferente no processo de formação das cadeias poliméricas lineares de *o*-PD. Assim, a presença da molécula de HHF não permite a formação de uma matriz polimérica tão compacta e espessa, como a observada para o GCE-NIP.

Após a remoção da molécula molde (Figura 15C), o sensor GCE-MIP teve um considerável aumento em sua rugosidade ($R_a = 2,34$ nm), indicando que as moléculas de HHF foram removidas da matriz polimérica de *o*-PD para a formação das cavidades impressas. Contudo, após o processo de religação (Figura 15D), o sensor GCE-MIP apresenta uma diminuição em sua rugosidade ($R_a = 1,80$ nm), sendo esta comparável com a rugosidade exibida após a eletropolimerização (Figura 15A), indicando que as moléculas de HHF se recombinaram com as cavidades impressas do sensor.

Os resultados obtidos pela caracterização por AFM corroboram com os resultados obtidos durante a caracterização eletroquímica do sensor, indicado que realmente houve a formação de cavidades impressas para o reconhecimento de HHF.

4.3 Otimização dos parâmetros experimentais

A otimização dos parâmetros experimentais é muito importante para o desenvolvimento de uma metodologia analítica. Em sensores eletroquímicos baseados em MIPs, parâmetros como a razão molar entre o monômero funcional e a molécula molde, o número de ciclos utilizado na eletropolimerização, o pH da solução utilizada durante a eletropolimerização, o tempo de extração da molécula molde e o tempo de religação da molécula de interesse nas cavidades impressas do polímero devem ser estudados para se obter uma melhor performance do sensor desenvolvido. A influência dos parâmetros investigados na resposta do sensor impresso foi monitorada através da técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV)

utilizando uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e os resultados obtidos são discutidos a seguir:

4.3.1 Razão molar entre o monômero funcional e a molécula molde

A razão molar entre o monômero funcional e a molécula molde influencia diretamente na espessura do filme e na quantidade de cavidades impressas formadas durante o preparo do sensor. Neste estudo, a concentração de *o*-PD foi fixada em $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e a proporção molar entre *o*-PD:HHF foi investigada em um intervalo de 1:1 a 1:3, como mostra a Figura 16:

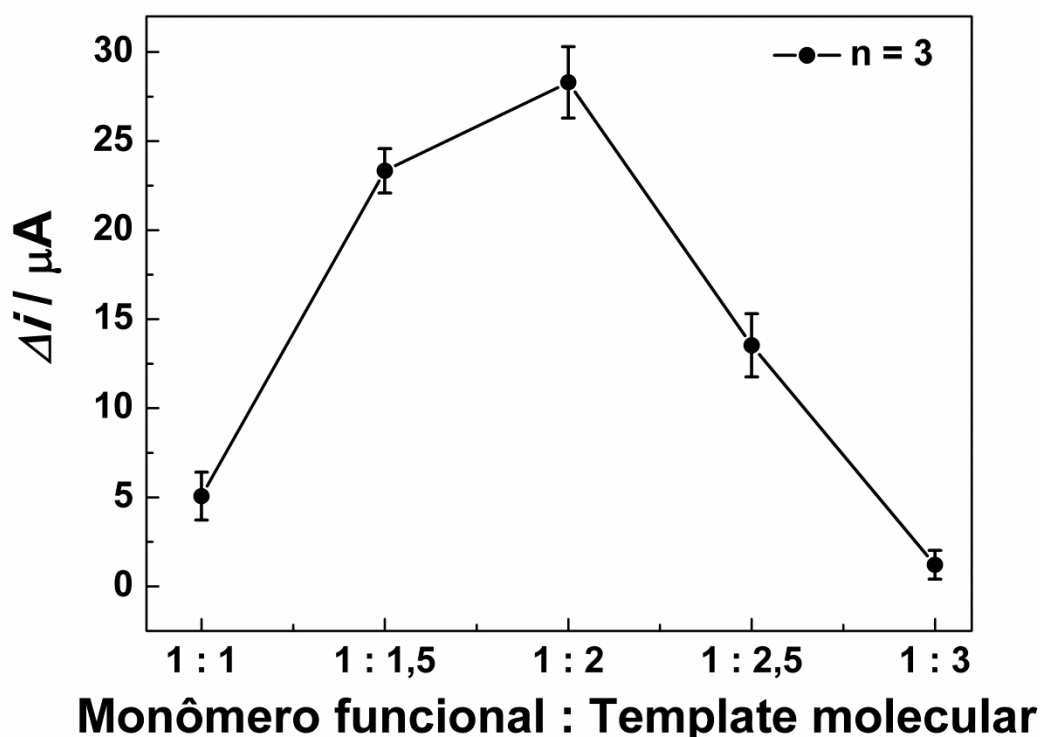


Figura 16 - Influência da razão molar entre *o*-PD:HHF no processo de formação das cavidades impressas do sensor GCE-MIP durante a etapa de eletropolimerização utilizando uma solução composta por $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de *o*-PD em tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,8) e por HHF em um intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ a $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em etanol na proporção 1:1 (v:v), quando foram aplicados 25 ciclos voltamétricos em um intervalo de potencial de $-0,40$ a $1,0 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) em uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

Conforme observado na Figura 16, a resposta máxima do sensor foi obtida na razão molar 1:2. Em proporções abaixo de 1:2, a resposta do sensor diminuiu até a razão 1:1 devido à diminuição da concentração de HHF, implicando na redução do número de cavidades formadas durante a etapa de eletropolimerização e resultando

em uma menor sensibilidade do sensor. Não foi observada a formação de cavidades em razões inferiores a 1:1, uma vez que a concentração de HHF não foi suficiente para promover a impressão das mesmas na superfície do filme polimérico de *o*-PD. Em razões molares acima de 1:2, a resposta do sensor também apresentou um decaimento de corrente, sendo este relacionado com a alta concentração de HHF, de modo que a concentração de *o*-PD nessas proporções foi pequena para interagir com todas as moléculas de HHF e moldar as cavidades para o posterior reconhecimento dessa molécula, diminuindo assim, a sensibilidade do sensor. Desta forma, verificou-se que a razão molar ótima entre *o*-PD:HHF foi de 1:2.

4.3.2 Efeito do número de ciclos na eletropolimerização

O número de ciclos utilizados durante o processo de eletropolimerização afeta significativamente a sensibilidade e a espessura do filme impresso de *o*-PD. A Figura 17 mostra a influência que o número de ciclos possui no desempenho do sensor impresso:

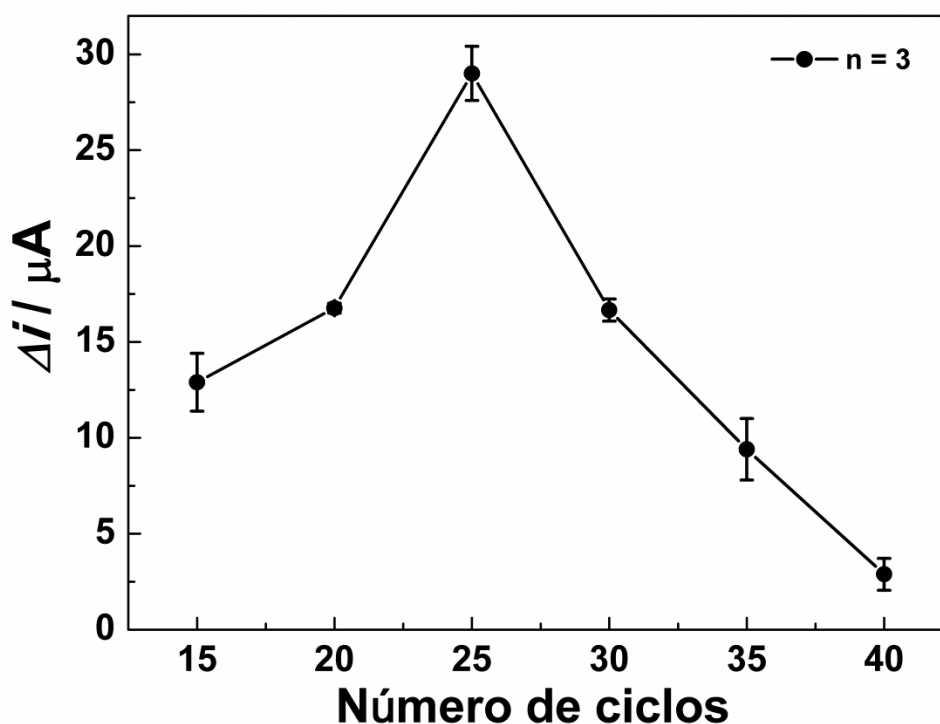


Figura 17 - Influência do número de ciclos voltamétricos na resposta do sensor GCE-MIP durante a etapa de eletropolimerização utilizando uma solução composta por $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de *o*-PD em tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,8) e por $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de HHF em etanol na proporção 1:1 (v:v), quando foi empregado um intervalo de potencial de -0,40 a 1,0 V vs. Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) em uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

Ao analisar a Figura 17, observa-se que a resposta do sensor teve um aumento com o número de ciclos voltamétricos até 25 devido ao aumento do número de cavidades formadas durante a etapa de eletropolimerização. Após 25 ciclos, o sensor apresentou uma diminuição acentuada de resposta com o aumento do número de ciclos devido à formação de um filme impresso muito espesso. Filmes espessos dificultam a transferência de massa, ocasionando uma menor difusão da sonda eletroquímica até as cavidades impressas em seu interior. Conseqüentemente, essas cavidades apresentam baixa acessibilidade à religação, provocando a perda de sensibilidade do sensor impresso (43). Assim, o número de ciclos ótimos para a eletropolimerização de um filme impresso de *o*-PD sensível para o reconhecimento de HHF foi de 25 ciclos.

4.3.3 Efeito do pH no processo de eletropolimerização

Outro fator que influencia na performance do MIP é o pH da solução utilizada durante o processo de eletropolimerização. Neste estudo, a eletropolimerização de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de *o*-PD na superfície do GCE, em presença de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de HHF, foi realizada com soluções de *o*-PD preparadas em diferentes pHs utilizando soluções tampão de acetato. A Figura 18 mostra a variação das intensidades de corrente do sensor GCE-MIP com a utilização de soluções de *o*-PD em diferentes valores de pHs durante a etapa de eletropolimerização:

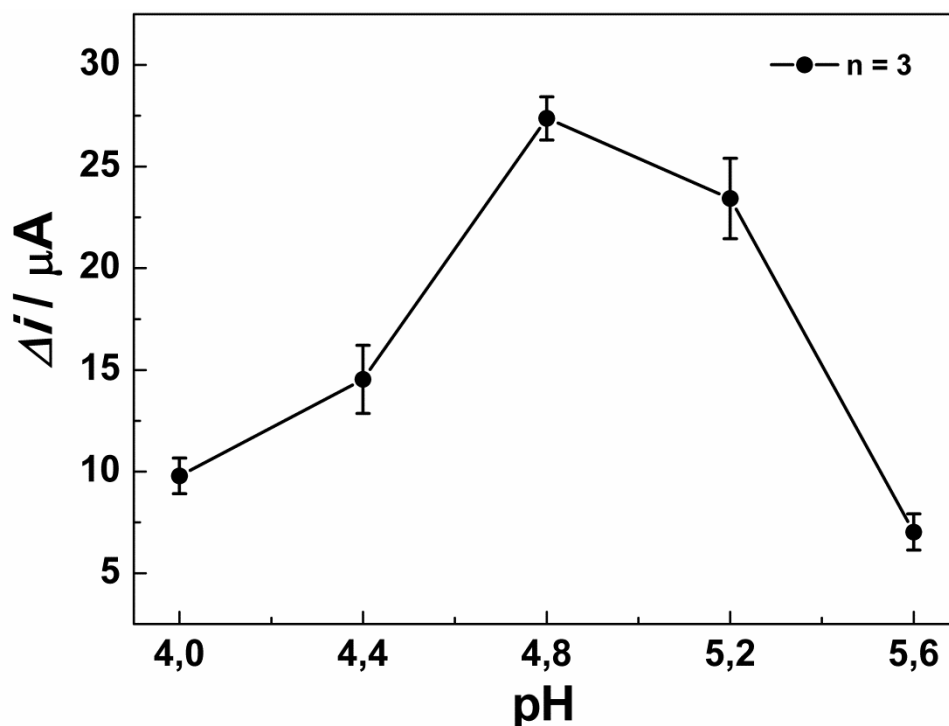


Figura 18 - Resposta de corrente obtida para o sensor GCE-MIP após a etapa de eletropolimerização utilizando soluções compostas por $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de *o*-PD em tampão acetato $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ e por $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de HHF em etanol na proporção 1:1 (v:v) em diferentes valores de pHs, quando foram aplicados 25 ciclos voltamétricos em um intervalo de potencial de $-0,40$ a $1,0 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) em uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

O pH da solução utilizada no processo de eletropolimerização influencia na formação dos radicais que desencadeiam todo o processo de eletropolimerização da *o*-PD. Durante este estudo, investigou-se um intervalo de pH entre 4,0 e 5,6 devido ao fato de que, em pHs ácidos, os grupos $-\text{NH}_2$ promovem a condensação dos monômeros de *o*-PD para a formação das cadeias poliméricas. Ao observar a Figura 18, nota-se que no pH de 4,8 a resposta do sensor GCE-MIP atingiu o máximo, indicando que esse pH maximiza a interação entre as espécies radicalares da *o*-PD com a molécula de HHF. Em pHs elevados, a formação dos radicais responsáveis pela condensação dos monômeros de *o*-PD é gradualmente reduzida, afetando o processo de eletropolimerização, e conseqüentemente, a resposta do sensor GCE-MIP. Assim, escolheu-se o pH de 4,8 como o pH ótimo para o preparo da solução de *o*-PD utilizada durante o processo de eletropolimerização, visto que nesse pH as interações entre a *o*-PD e o HHF são favorecidas.

4.3.4 Efeito do tempo de extração da molécula molde

A extração da molécula molde é um fator crucial para se garantir a repetibilidade e a sensibilidade do sensor impresso. A extração por solvente é o método mais utilizado para se remover a molécula molde e formar as cavidades impressas de reconhecimento. Neste método, a interação com o solvente promove o intumescimento do polímero, facilitando o enfraquecimento e a ruptura de suas ligações com a molécula molde (52). Para esse estudo, soluções compostas em diversas proporções de etanol, etanol-acetonitrila e etanol-ácido acético foram usadas para a remoção da molécula de HHF utilizada como molde, uma vez que a acetonitrila e o ácido acético podem favorecer o intumescimento do filme polimérico de *o*-PD, enquanto que o etanol pode solubilizar a molécula de HHF. Os resultados indicaram que a solução composta de etanol-ácido acético 9:1 (v:v) apresentou um melhor desempenho para a remoção da molécula de HHF, quando comparado com as outras composições estudadas. O tempo de extração foi avaliado através da comparação da corrente do sensor GCE-MIP com a corrente do sensor GCE-NIP em um intervalo de 20 a 100 segundos, conforme mostra a Figura 19:

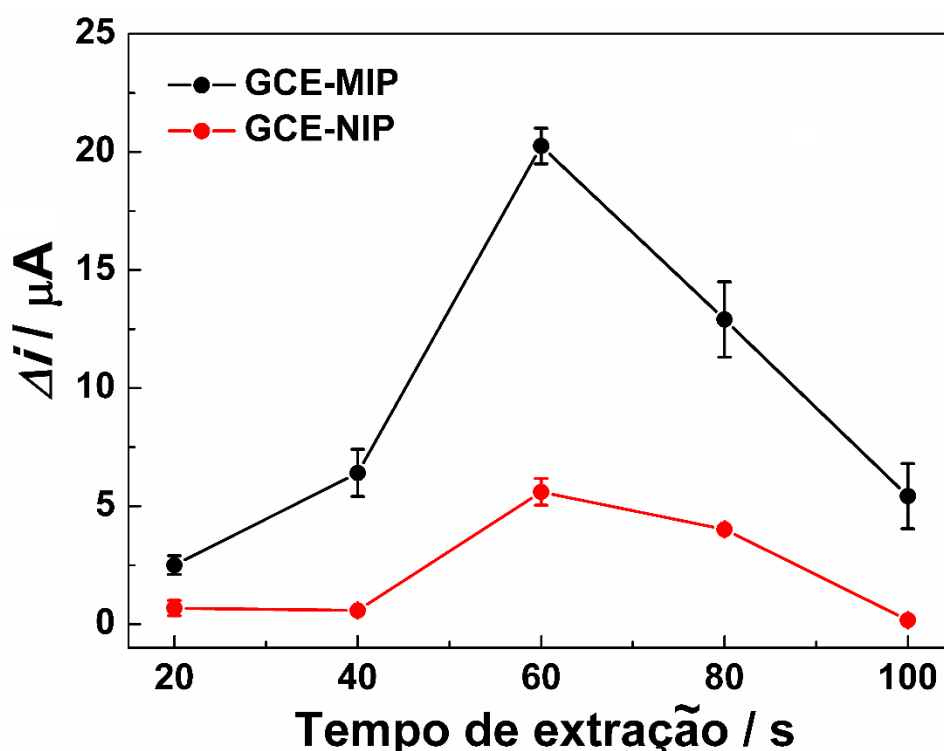


Figura 19 - Influência do tempo na performance do sensor GCE-MIP durante a extração da molécula molde utilizando uma solução de etanol-ácido acético 9:1 (v:v). Para comparação, o desempenho do sensor GCE-NIP também foi avaliado.

Como pode ser observado na Figura 19, as correntes do sensor impresso GCE-MIP são superiores às correntes do sensor não impresso GCE-NIP. Essa diferença de corrente indica que durante o processo de extração as moléculas de HHF foram removidas com sucesso para a formação das cavidades impressas na superfície do filme de *o*-PD. O sensor apresentou uma corrente máxima em 60 segundos, sendo observado um decréscimo em tempos superiores por causa do bloqueio das cavidades eletroativas devido ao intumescimento excessivo do polímero (35). Logo, o tempo de 60 segundos utilizando uma solução de etanol-ácido acético 9:1 (v:v) foi o tempo ótimo para se realizar a extração da molécula molde.

Ainda na Figura 19, ao analisar a curva obtida para o sensor GCE-NIP, observa-se um máximo de corrente em 60 segundos, que pode ser atribuído a ruptura da matriz polimérica de *o*-PD. Como o filme de *o*-PD para o sensor GCE-NIP é mais compacto, devido à ausência da molécula de HHF, a exposição ao solvente provoca o intumescimento e, conseqüentemente, a ruptura de sua estrutura. A Figura 20 mostra as imagens de SEM-FEG obtidas para o sensor GCE-NIP após a eletropolimerização e após a exposição ao solvente por 60 segundos:

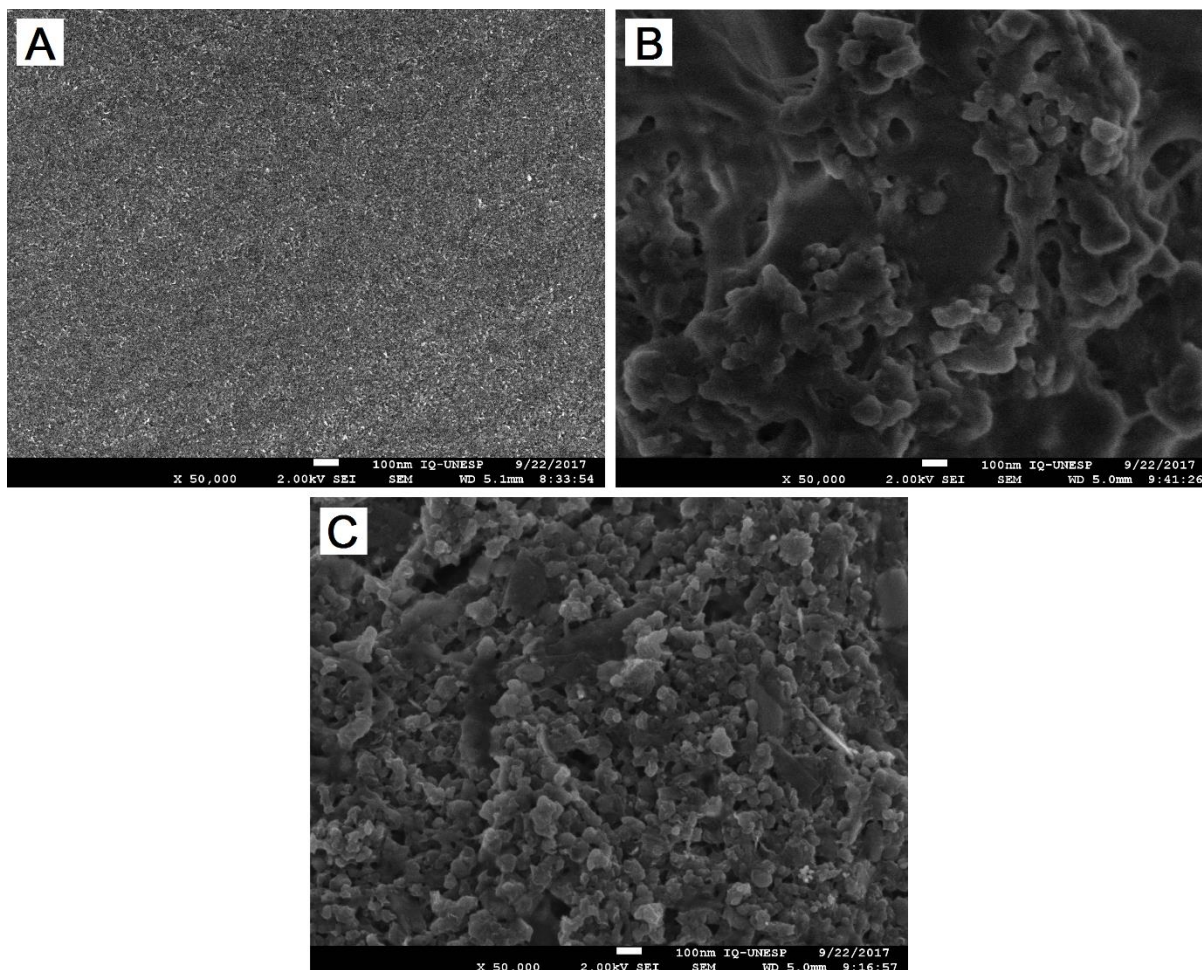


Figura 20 - Imagens de SEM-FEG para: (A) GCE, (B) GCE-NIP após a eletropolimerização, e (C) GCE-NIP após a exposição ao solvente por 60 segundos.

Na Figura 20A, pode-se observar uma superfície praticamente lisa e uniforme, correspondente ao eletrodo de GCE sem modificação. Já a Figura 20B, que corresponde ao eletrodo GCE-NIP após a eletropolimerização, é observado a presença de um filme compacto de *o*-PD sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. Contudo, na Figura 20C, é possível notar que a estrutura do filme polimérico de *o*-PD foi fragmentada após a exposição ao solvente, corroborando com a hipótese de intumescimento e ruptura da matriz polimérica de *o*-PD.

Em tempos acima de 60 segundos, a queda de corrente observada na Figura 20 para o sensor GCE-NIP pode ser atribuída ao contínuo intumescimento do polímero, que por sua vez, promove o recobrimento da superfície do GCE que havia sido exposta pela ruptura do filme de *o*-PD.

4.3.5 Efeito do tempo de religação

Assim como o tempo de extração, o tempo de religação é um parâmetro que influencia diretamente na performance do sensor impresso. Após a extração da molécula molde, o sensor foi imerso em uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sob baixas velocidades de agitação (entre 40-50 rpm) em um intervalo de tempo de 1 a 25 minutos. O efeito do tempo de religação foi avaliado através da comparação da corrente do sensor GCE-MIP com a corrente do sensor GCE-NIP, conforme exibido na Figura 21:

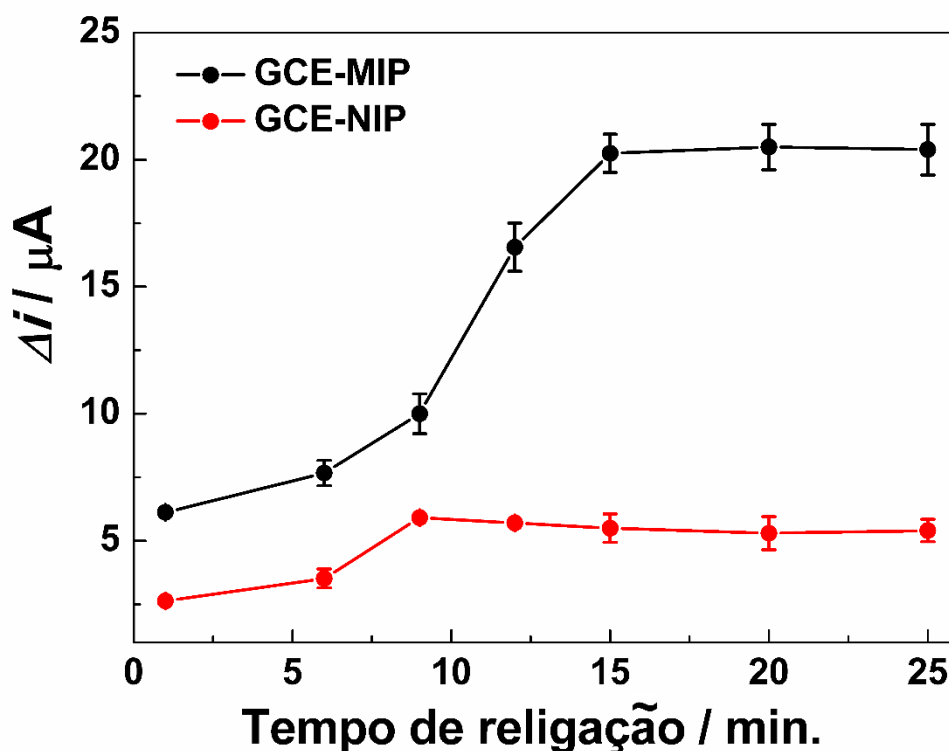


Figura 21 - Influência do tempo na performance do sensor GCE-MIP durante a religação em uma solução de HHF $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3} 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Para comparação, o desempenho do sensor GCE-NIP também foi avaliado.

Durante o processo de religação, as moléculas de HHF se recombinaram com as cavidades impressas do sensor GCE-MIP. Como se pode observar na Figura 21, as correntes do sensor GCE-MIP são superiores as correntes do sensor GCE-NIP. Essa diferença de corrente demonstra a inexistência de cavidades impressas no filme de *o*-PD do sensor GCE-NIP. A resposta do sensor aumentou com o tempo de religação até 15 minutos, sendo observado um sinal estável entre 15 a 25 minutos,

indicando que o equilíbrio de adsorção foi estabelecido. Desta forma, o tempo de 15 minutos foi escolhido como o tempo ótimo para se realizar a religação das moléculas de HHF nas cavidades do sensor GCE-MIP.

4.4 Performance analítica do sensor GCE-MIP

A performance do sensor GCE-MIP na determinação de HHF foi investigada por meio da DPV utilizando as condições experimentais otimizadas. Após a remoção da molécula molde para a formação das cavidades de reconhecimento de HHF na superfície do filme polimérico de *o*-PD e a medida da corrente de fundo, o sensor GCE-MIP foi submetido ao procedimento de religação utilizando soluções de diferentes concentrações de HHF em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ por 15 min. sob baixas velocidades de agitação (entre 40-50 rpm). A Figura 22 apresenta a curva analítica obtida para o sensor GCE-MIP:

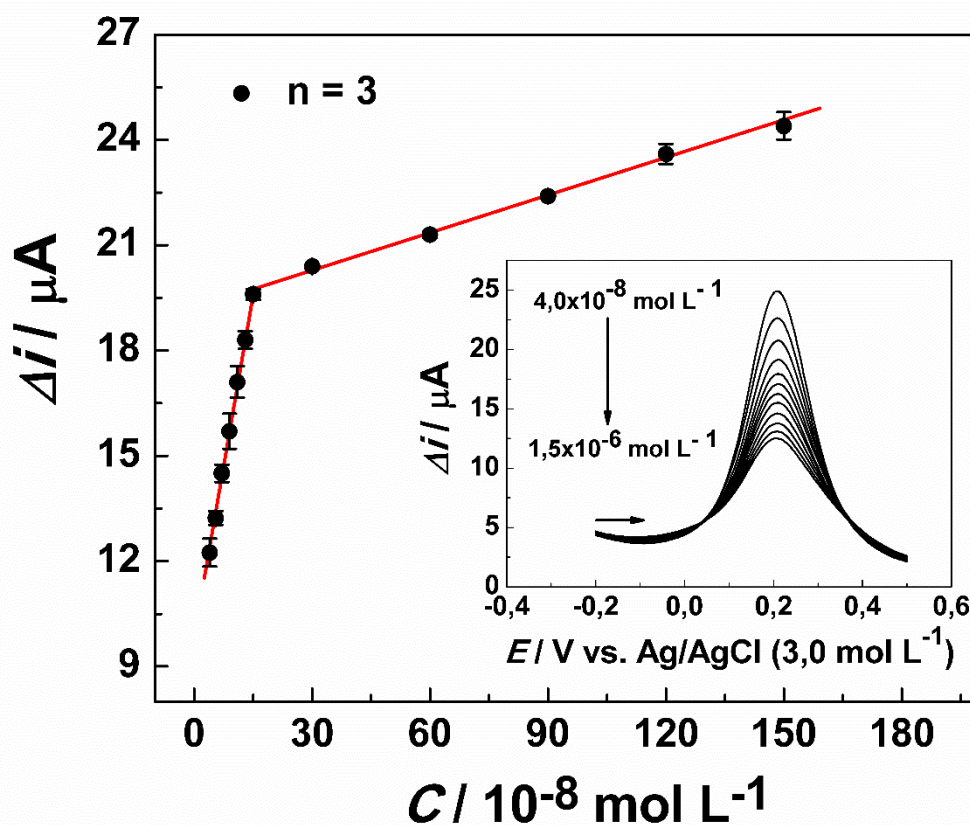


Figura 22 - Curva analítica para o sensor GCE-MIP obtida em soluções de diferentes concentrações de HHF em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Inserção: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos utilizando soluções de HHF em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma faixa de concentração de $4,0 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

A inserção na Figura 22 mostra a diminuição de corrente de pico da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ com o aumento da concentração da solução de HHF, indicando que com o aumento da concentração de HHF um maior número de cavidades impressas foram ocupadas pelas moléculas de HHF. A Figura 22 mostra que a diminuição de corrente observada para espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ é linearmente proporcional ao aumento da concentração de HHF em duas faixas de trabalho: $4,0 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e $1,5 \times 10^{-7}$ a $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com as respectivas equações de regressão linear: $\Delta i \text{ (A)} = 67C_{\text{HHF}} \text{ (mol L}^{-1}\text{)} + 9,7 \times 10^{-6}$ ($r = 0,9991$) e $\Delta i \text{ (A)} = 3,6C_{\text{HHF}} \text{ (mol L}^{-1}\text{)} + 1,9 \times 10^{-5}$ ($r = 0,9974$). As figuras de mérito como sensibilidade (m), limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) foram obtidas utilizando a primeira faixa linear como sendo 67 A L mol^{-1} ; $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e $4,1 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ respectivamente.

A existência de duas faixas lineares em sensores molecularmente impressos é comum devido à presença de cavidades de reconhecimento com diferentes afinidades para a molécula de interesse (53). Assim, quando o sensor GCE-MIP é imerso em soluções de baixas concentrações de HHF, as moléculas de HHF se recombinam preferencialmente com as cavidades impressas de maior afinidade, que estão localizadas em regiões menos profundas da superfície do sensor. Quando a concentração de HHF aumenta, todas as cavidades de maior afinidade são ocupadas e as próximas religações ocorrem em cavidades de menor afinidade, que estão localizadas em regiões mais profundas da superfície do sensor. Nesse contexto, a queda na inclinação da curva analítica ocorre devido à dificuldade da transferência de massa que as moléculas de HHF precisam superar para chegarem até as cavidades de menor afinidade (53).

4.5 Isoterma de adsorção de Langmuir

As duas faixas lineares apresentadas pelo sensor GCE-MIP foram individualmente analisadas em termos do modelo da isoterma de adsorção de Langmuir, que considera que o recobrimento da superfície não pode ir além de uma monocamada (62). A isoterma de adsorção de Langmuir prevê o grau de cobertura das cavidades impressas, θ , em função da concentração, C , de HHF (54):

$$\theta = \frac{K_D C}{1 + K_D C} \quad \text{(Equação 4)}$$

Onde, $\theta = \frac{\Gamma}{\Gamma_{\text{máx.}}}$, sendo que Γ corresponde ao excesso superficial que as cavidades impressas possuem em uma determinada concentração de HHF.

A Equação 2 pode ser reescrita em sua forma linear como sendo:

$$\theta = \frac{1}{K_D} C + \theta C \quad (\text{Equação 5})$$

De acordo com Bard e Faulkner (55), Γ pode ser calculado através da seguinte equação:

$$\Gamma = \frac{Q}{nFA} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde, Q é a carga (obtida pela integração da área do pico voltamétrico), n é o número de elétrons envolvidos no processo eletrodico (1 elétron), F é a constante de Faraday (96485 C mol⁻¹) e A_a é a área ativa do sensor (cm²).

A área ativa do sensor GCE-MIP pode ser calculada através da equação de Randles-Sevcik (55):

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n_e^{\frac{3}{2}} A_a D_0^{\frac{1}{2}} C_0^* v^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Equação 7})$$

Onde, i_p é a corrente de pico (A), n_e é o número de elétrons envolvidos no processo redox (1 elétron), D_0 é o coeficiente de difusão da sonda redox (7,6x10⁻⁶ cm² s⁻¹), C_0^* é a concentração da sonda redox (mol cm⁻³), $v^{1/2}$ é a raiz quadrada da velocidade de varredura (V s⁻¹) e A_a é a área ativa do sensor (cm²). Com base nos dados da Figura 11B, a área ativa calculada para o sensor GCE-MIP foi de 1,0x10⁻³ cm².

A constante de dissociação aparente (K_D), nas Equações 2 e 3, está associada com a afinidade existente entre as cavidades impressas e as moléculas de HHF. Um baixo valor de K_D indica uma alta afinidade entre as cavidades impressas e as moléculas de HHF. Por outro lado, um alto valor de K_D indica que as interações entre as cavidades impressas e as moléculas de HHF não são tão

eficientes, de modo que o equilíbrio de adsorção só poderá ser alcançado se a concentração de HHF for suficientemente alta para promover a saturação das cavidades impressas da matriz polimérica (56,57).

De acordo com a Equação 3, os valores de K_D para as duas faixas de trabalho do sensor GCE-MIP podem ser calculados através da construção de curvas de Langmuir, que relaciona o preenchimento gradual das cavidades impressas, θ , em função da concentração, C , de HHF. A Figura 23 mostra as curvas de Langmuir obtidas para as duas faixas de trabalho do sensor GCE-MIP:

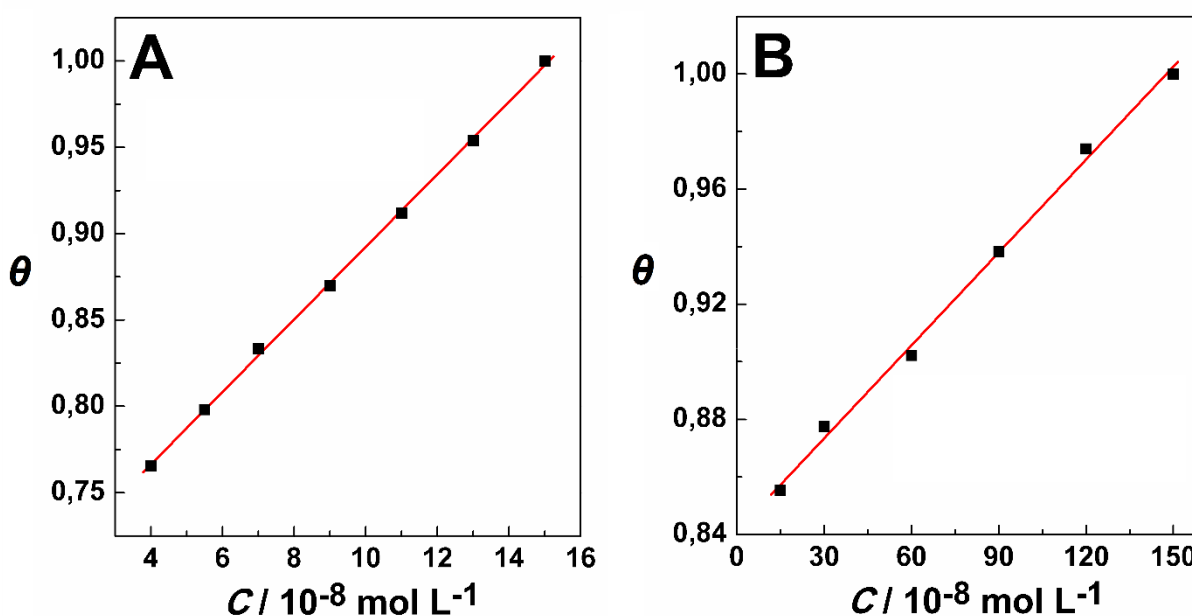


Figura 23 – Curvas de Langmuir para o sensor GCE-MIP obtidas na: (A) primeira faixa linear ($4,0 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$) e na (B) segunda faixa linear ($1,5 \times 10^{-7}$ a $1,5 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$).

Na Figura 23, observa-se que o preenchimento das cavidades impressas varia linearmente com o aumento da concentração de HHF para os dois intervalos analisados, indicando que as moléculas de HHF são adsorvidas nas cavidades impressas, independentemente de suas afinidades, de acordo com o modelo de adsorção de Langmuir.

As dependências lineares observadas na Figura 23 para o primeiro e o segundo intervalo de concentração podem ser expressas respectivamente pelas seguintes equações de regressão linear: $\theta = 2,1 \times 10^6 C$ (mol L $^{-1}$) + 0,68 ($r = 0,9996$) e $\theta = 1,1 \times 10^5 C$ (mol L $^{-1}$) + 0,84 ($r = 0,9980$). De acordo com a Equação 5, K_D pode ser determinado pelo inverso do coeficiente angular das curvas de Langmuir, de modo

que os valores de K_D para o primeiro e o segundo intervalo de concentração foram obtidos como sendo $4,8 \times 10^{-7}$ e $9,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ respectivamente. Sendo assim, ao comparar os valores de K_D , nota-se que a primeira faixa linear apresentada pelo sensor impresso possui uma maior afinidade para o reconhecimento das moléculas de HHF.

O sucesso da aplicação do modelo de adsorção de Langmuir para as duas faixas lineares do sensor GCE-MIP indica que, para uma determinada região linear, as cavidades impressas são equivalentes, de modo que, a capacidade de adsorção de uma cavidade é independente da ocupação das cavidades vizinhas, ou seja, não há interações entre as moléculas de HHF adsorvidas (62). Além disso, o modelo de adsorção de Langmuir preconiza que cada cavidade adsorve reversivelmente apenas uma molécula de HHF (54), de maneira que, conforme discutido anteriormente, a dessorção das moléculas de HHF das cavidades impressas pode ser realizada pela imersão do sensor em uma solução de etanol-ácido acético 9:1 (v:v) por um determinado tempo.

4.6 Seletividade do sensor GCE-MIP

De acordo com a norma D7566 da ASTM, o querosene alternativo SIP deve ser composto por no mínimo 97% em massa de farnesano e no máximo 1,5% em massa de HHF. Além disso, essa norma prevê a adição de alguns aditivos nesse biocombustível, tais como o agente complexante N,N'-bis(salicilideno)-1,2-propanodiamina (SALPN) (2 mg L⁻¹, máx.) e alguns agentes antioxidantes (24 mg L⁻¹, máx.), como o 2,6-di-terc-butil-4-metil-fenol (BHT) (16). As estruturas das moléculas de farnesano, HHF, SALPN e BHT são apresentadas na Figura 24:

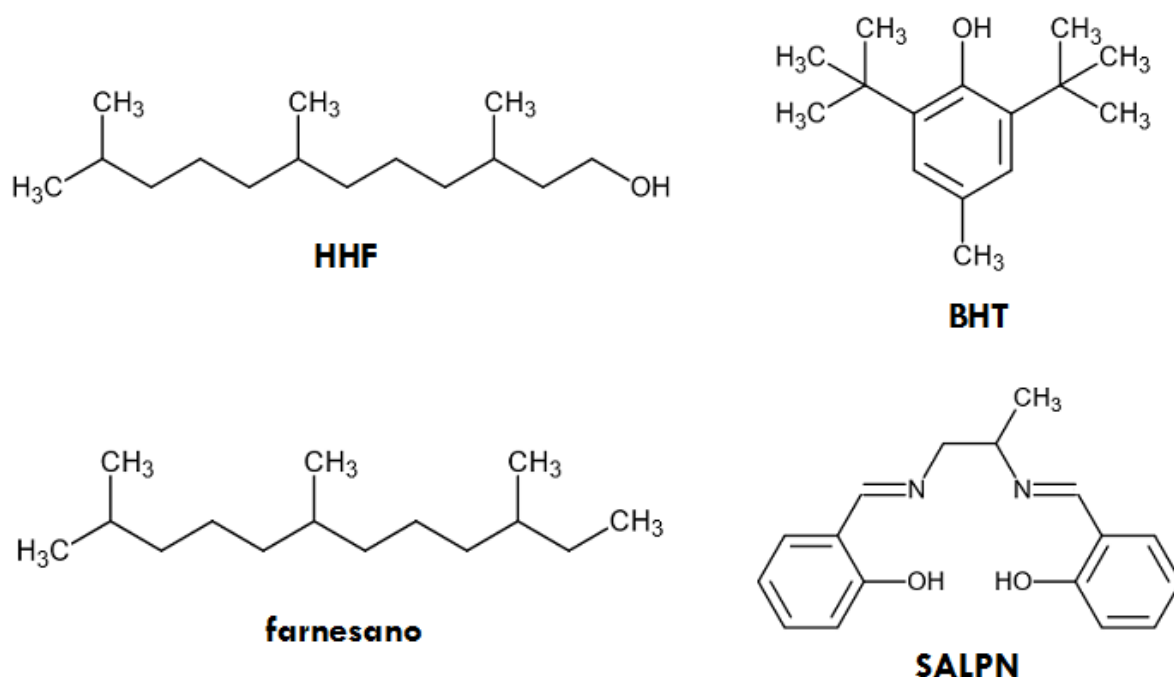


Figura 24 – Representação estrutural das moléculas de farnesano, HHF, SALPN e BHT.

A presença das moléculas de farnesano, BHT e SALPN no bioquerosene de aviação podem interferir no reconhecimento seletivo do sensor impresso as moléculas de HHF. A Figura 25 apresenta as intensidades de corrente para o sensor GCE-MIP após a realização de experimentos de religação na presença das moléculas de HHF, BHT, farnesano e SALPN:

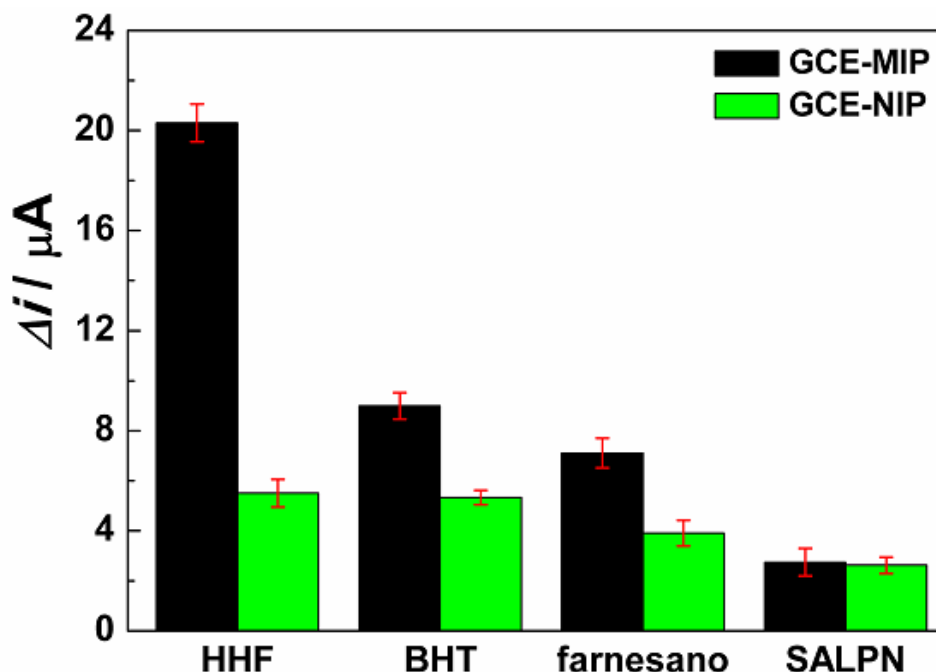


Figura 25 – Intensidades de corrente obtidas para os sensores GCE-MIP e GCE-NIP após o processo de religação utilizando soluções de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ de HHF, BHT, farnesano e SALPN em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ (tempo de religação: 15 min.). A resposta do sensor foi monitorada através da técnica de DPV utilizando uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em KCl 0,50 mol L⁻¹.

Os sensores baseados em MIPs são seletivos para reconhecerem especificamente a molécula utilizada como molde. Este reconhecimento específico se deve a dois fatores importantes: os grupos funcionais e o tamanho da molécula molde. Assim, moléculas que possuem os mesmos grupos funcionais e tamanhos semelhantes são mais propensas a interferirem no processo de reconhecimento molecular.

Na Figura 25, observa-se que a molécula de BHT apresenta uma pequena interferência na resposta do sensor GCE-MIP, que pode ser atribuída a presença do grupo -OH em sua estrutura, o qual é responsável pela interação ocorrida entre essa molécula e o sítio ativo da cavidade impressa. Entretanto, como a molécula de BHT possui uma estrutura diferente da molécula de HHF, esta não consegue penetrar efetivamente nas cavidades impressas do sensor.

A molécula de farnesano, que possui uma estrutura molecular semelhante à molécula de HHF, apresenta uma interferência ainda menor na resposta do sensor GCE-MIP devido à ausência do grupo -OH em sua estrutura. Como essa molécula possui uma estrutura muito semelhante, quando comparada à molécula de HHF, esta consegue penetrar totalmente na cavidade impressa, contudo, como essa molécula não possui nenhum grupo funcional para interagir com o sítio de interação

da cavidade impressa, esta não consegue permanecer dentro da cavidade e acaba retornando para o meio da solução.

Na presença da molécula de SALPN, ao comparar os valores de corrente para os sensores GCE-MIP e GCE-NIP, não foi observado nenhum tipo de interferência na resposta do sensor impresso, possivelmente devido ao tamanho dessa molécula, que é relativamente maior em relação ao HHF, de modo que a molécula de SALPN não consegue interagir com as cavidades impressas devido ao seu grande impedimento estérico.

A seletividade do sensor GCE-MIP foi avaliada através do fator de impressão (α) e do fator de seletividade (β). A Tabela 2 resume os resultados obtidos a partir dos cálculos dos parâmetros α e β :

Tabela 2 – Parâmetros de seletividade do sensor GCE-MIP para HHF e moléculas potencialmente interferentes.

Molécula	GCE-MIP (μA)	GCE-NIP (μA)	α *	β **
HHF	20,3	5,5	3,7	1,0
BHT	8,9	5,3	1,7	2,2
Farnesano	7,1	3,9	1,8	2,0
SALPN	2,7	2,6	1,0	3,5

$$* \alpha = \frac{\Delta i_{(\text{GCE-MIP})}}{\Delta i_{(\text{GCE-NIP})}}$$

$$** \beta = \frac{\alpha_{(\text{HHF})}}{\alpha_{(\text{interferente})}}$$

O fator de impressão (α) está relacionado com a capacidade do sensor em interagir com a molécula alvo. Esse parâmetro apresentou uma maior resposta para o HHF, em relação aos demais interferentes, indicando a existência de cavidades impressas específicas para o seu reconhecimento. Ao analisar o fator de seletividade (β), observa-se, que de fato as cavidades impressas possuem uma maior afinidade em reconhecer a molécula de HHF do que às moléculas interferentes. Esses resultados indicam que as cavidades impressas formadas na matriz polimérica de *o*-PD são seletivas para o reconhecimento da molécula de HHF.

4.7 Repetibilidade inter-dia e intra-dia

A repetibilidade inter-dia é definida como a capacidade do método em repetir os resultados de uma análise em um mesmo laboratório, mas em dia diferentes, utilizando diferentes equipamentos, diferentes reagentes e diferentes soluções (58). Já a repetibilidade intra-dia é definida como a capacidade do método em repetir os resultados de uma análise em um mesmo dia, utilizando o mesmo laboratório, o mesmo equipamento, os mesmos reagentes e as mesmas soluções (58). Vale ressaltar, que para os ensaios de repetibilidade inter-dia e intra-dia, são considerados satisfatórios valores de RSD $\leq 5,0\%$.

Para a avaliação da repetibilidade inter-dia do sensor GCE-MIP, cinco sensores preparados de forma independente foram inseridos separadamente em soluções de HHF $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ $5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ para a realização do processo de religação. A resposta de cada eletrodo foi monitorada através da DPV e um desvio padrão relativo (RSD) de 4,8% foi obtido.

A repetibilidade intra-dia do sensor GCE-MIP foi avaliada ao monitorar a corrente de um mesmo eletrodo três vezes consecutivas durante o processo de religação. O RSD obtido para esse estudo foi de 3,2%.

4.8 Estabilidade do sensor GCE-MIP

Para o estudo da estabilidade, um sensor foi preparado e armazenado por 10 dias em contato com o ar à temperatura ambiente (25 °C). Após esse período, o sensor apresentou 96% de sua corrente inicial, indicando que o mesmo possui uma considerável estabilidade.

Os resultados obtidos pelos estudos de repetibilidade e de estabilidade indicam que a aplicação do sensor GCE-MIP na determinação de HHF em bioquerosene de aviação pode ser realizada de forma reprodutível e confiável.

4.9 Determinação de HHF em bioquerosene de aviação

Para a determinação de HHF em bioquerosene de aviação, uma alíquota do bioquerosene de aviação (querosene alternativo SIP) adquirido da empresa AMYRIS foi diluída conforme descrito na seção 3.9.

A determinação de HHF neste biocombustível foi realizada utilizando o método de adição de padrão, que consiste na adição de quantidades conhecidas da espécie de interesse em uma quantidade conhecida da amostra (59). As amostras com o padrão incorporado foram utilizadas para a obtenção de voltamogramas, que possibilitaram a construção de uma curva analítica através da relação entre a concentração da espécie de interesse adicionada à amostra em função das respectivas correntes obtidas. O ponto da curva analítica que corta o eixo das ordenadas corresponde a corrente da espécie analisada sem qualquer adição do padrão, enquanto que a extrapolação da curva define, no eixo das abscissas, a concentração da espécie de interesse na amostra analisada (59). A Figura 26 apresenta a curva de adição de padrão obtida após adições de concentrações conhecida de HHF à amostra de bioquerosene de aviação:

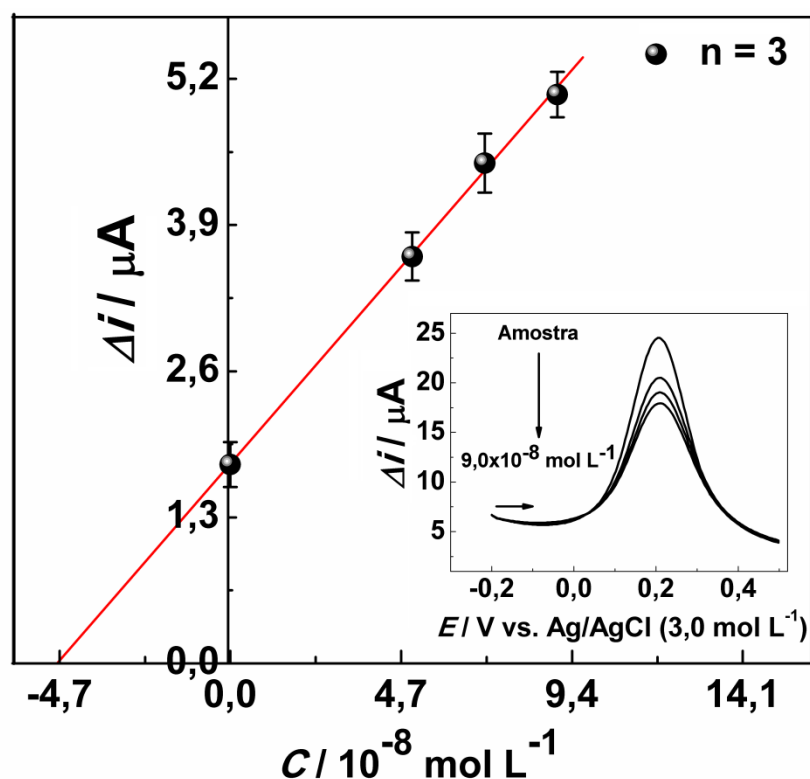


Figura 26 - Curva de adição de padrão para o sensor GCE-MIP obtida com as adições de $5,0$; $7,0$ e $9,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de HHF em etanol à solução de bioquerosene de aviação. Inserção: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a solução de bioquerosene de aviação fortificada com diferentes concentrações de HHF.

A Figura 26 mostra que a corrente do sensor GCE-MIP varia linearmente com as adições de concentrações conhecidas de HHF à amostra de

bioquerosene de aviação, de acordo com a seguinte equação de regressão linear: $\Delta i (A) = 37C_{\text{HHF}} (\text{mol L}^{-1}) + 1,8 \times 10^{-6}$ ($r = 0,9989$).

A concentração de HHF determinada na amostra de bioquerosene de aviação foi de $0,31 \pm 0,02\%$ (m:m) ($7,1 \times 10^{-5} \pm 4,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), o que indica que a concentração de HHF presente no bioquerosene de aviação produzido pela AMYRIS está dentro do limite estabelecido pela norma técnica D7566 da ASTM.

4.10 Validação da metodologia analítica desenvolvida

A etapa de validação é de fundamental importância para demonstrar a adequação do método desenvolvido à sua finalidade. O ensaio de recuperação é o procedimento mais utilizado para validação de metodologias analíticas. O ensaio de recuperação está associado com a exatidão do método, pois relaciona a quantidade recuperada do analito à sua quantidade presente na amostra. A exatidão do método é expressa como um erro sistemático percentual, característico do processo, que ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas imprecisas, substâncias interferentes na amostra, dentre outras causas (60).

Os ensaios de recuperação foram realizados através da "fortificação" da amostra, ou seja, na adição de diferentes concentrações de HHF ao bioquerosene de aviação. Após cada adição, foi realizada a determinação voltamétrica da concentração de HHF presente na amostra. A quantidade percentual recuperada foi calculada através da Equação 1, descrita na seção 3.9. A Tabela 3 resume os valores adicionados e recuperados para três concentrações distintas de HHF:

Tabela 3 – Recuperações de HHF na amostra de bioquerosene de aviação (n=3).

Amostra	Quantidade adicionada ($10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$)	Quantidade detectada ($10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD (%)	$t_{\text{calculado}}^a$
BQAv.	-	$4,7 \pm 0,3$	-	-	-
	5,0	$9,6 \pm 0,3$	98,3	3,9	-0,5
	7,0	$12,1 \pm 0,2$	105,8	1,7	2,2
	9,0	$13,5 \pm 0,4$	97,6	3,3	-2,2

^a $t_{\text{tabelado}} = 4,3$ para 95% de confiança.

As recuperações médias variaram de 97,6% a 105,8% com RSDs entre 1,7% a 3,9%, indicando que o método desenvolvido possui uma boa exatidão para a determinação de HHF e que a resposta do sensor GCE-MIP não sofre nenhum efeito significativo de matriz. As concentrações encontradas foram comparadas estatisticamente com as concentrações adicionadas utilizando o teste t de Student não pareado. Os resultados obtidos para um nível de confiança de 95% apresentaram um valor inferior em comparação com o valor tabelado ($t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$), indicando o sensor GCE-MIP pode ser aplicado com sucesso na determinação de HHF em amostras de bioquerosene de aviação.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, um sensor eletroquímico para a determinação de HHF em bioquerosene de aviação foi desenvolvido através da eletropolimerização de um filme de *o*-PD na presença da molécula de HHF sobre a superfície de um GCE pela técnica de CV. Os resultados obtidos pelas técnicas de CV, EIS, SEM-FEG e espectroscopia RAMAN demonstraram que o método de eletropolimerização pela técnica de CV foi satisfatório para a eletrossíntese do filme polimérico de *o*-PD sobre a superfície eletródica.

As técnicas de CV, EIS e AFM permitiram constatar que o processo de formação das cavidades para o reconhecimento de HHF foi realizado com sucesso. Por meio da técnica de espectroscopia RAMAN, foi possível diagnosticar que o filme de *o*-PD estava em sua forma oxidada na superfície do GCE, e a técnica de AFM possibilitou estimar a espessura desse filme polimérico em aproximadamente 10 nm. Além disso, através da CV foi possível verificar que o sensor GCE-MIP possui um processo eletródico controlado pela difusão da espécie $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$.

As otimizações dos parâmetros experimentais (razão molar entre o monômero funcional e a molécula molde, o número de ciclos utilizado na eletropolimerização, o pH da solução utilizada durante a eletropolimerização, o tempo de extração da molécula molde e o tempo de religação da molécula de interesse nas cavidades impressas do polímero) permitiram maximizar a performance do sensor desenvolvido, de modo que a curva analítica obtida para o sensor GCE-MIP apresentou duas faixas lineares em um amplo intervalo de concentração. As duas faixas lineares observadas para esse dispositivo obedecem ao modelo da isoterma de adsorção de Langmuir, sendo que a primeira faixa possui uma maior afinidade para o reconhecimento das moléculas de HHF.

A resposta do sensor impresso na presença de moléculas potencialmente interferentes que compõem o bioquerosene de aviação demonstrou que as cavidades impressas formadas na matriz polimérica de *o*-PD são seletivas para o reconhecimento específico da molécula de HHF.

O sensor desenvolvido apresentou excelente repetibilidade inter-dia e intra-dia, com valores de RSD $\leq 4,8\%$. Após ser armazenado por 10 dias em contato com o ar à temperatura ambiente, o sensor apresentou 96% de sua corrente inicial, o que representa uma considerável estabilidade.

O sensor GCE-MIP foi aplicado com sucesso na determinação de HHF na amostra de bioquerosene de aviação. As recuperações médias variaram de 97,6% a 105,8% com RSDs entre 1,7% a 3,9%, indicando que o método desenvolvido possui uma boa exatidão para a determinação de HHF e que a resposta do sensor GCE-MIP não sofre nenhum efeito significativo de matriz. Esses resultados indicam a viabilidade de utilização desse sensor para o monitoramento dos níveis de HHF em amostras de bioquerosene de aviação, de modo a garantir a qualidade deste biocombustível durante o seu processo de produção.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 NEULING, U.; KALTSCHMITT, M. Conversion routes for production of biokerosene-status and assessment. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 5, p. 367–385, 2015.
- 2 ARAUJO, P. H. M. **Obtenção de Bioquerosene de Aviação “Drop in” por Pirólise Rápida e Desoxigenação Catalítica a partir do Licuri (Syagrus coronata)**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- 3 LAVIOLA, B. G.; CAPDEVILLE, G. **Matérias-primas oleaginosas para a produção de bioquerosene – oportunidades e desafios**. Embrapa Agroenergia, 2015. (Artigo). Disponível em: <http://www.ubrabetio.com.br/1891/noticias/artigomateriasprimasoleaginosasparaaproducaodebioquerosene_250721/>. Acesso em: 23 mai. 2017.
- 4 IPCC. **Summary for Policymakers: Aviation and the Global Atmosphere**. IPCC Special Report, 1999. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/pdf/special-reports/spm/av-en.pdf>>. Acesso em: 23 mai. 2017.
- 5 UBRABIO. **Biocombustíveis de aviação são aposta para redução de CO₂**. Ubrabetio, 2015 (Artigo). Disponível em: <http://www.ubrabetio.com.br/1891/noticias/biocombustiveisdeaviacaosaoapostaparareducaodeco2_244423/>. Acesso em: 23 mai. 2017.
- 6 BONASSA, G. et al. Bioquerosene: panorama da produção e utilização no Brasil. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 3, p. 97–106, 2014.
- 7 BABAU, M. et al. Towards a Microbial Production of Fatty Acids as Precursors of Biokerosene from Glucose and Xylose. **Oil & Gas Science and Technology-Revue D Ifp Energies Nouvelles**, v. 68, p. 899–911, 2013.
- 8 RANUCCI, C. R. et al. Obtaining biokerosene of jatropha (*Jatropha curcas* L.) and their mixtures to fossil kerosene. **Revista Tecnológica - Edição Especial 2014**, p. 43–52, 2015.
- 9 SILVA, L. N. et al. Biokerosene and green diesel from macauba oils via catalytic deoxygenation over Pd/C. **Fuel**, v. 164, p. 329–338, 2016.
- 10 LLAMAS, A. et al. Biokerosene from babassu and camelina oils: production and properties of their blends with fossil kerosene. **Energy and Fuels**, v. 26, p. 5968–5976, 2012.
- 11 VELÁZQUEZ, R. S. G.; KUBOTANI, R. T.; VELÁZQUEZ, S. M. S. G. Novos combustíveis para a aviação: um estudo de caso. **Revista Mackenzie de Engenharia e Computação**, v. 12, p. 77–93, 2012.

12 CGEE. **Biocombustíveis aeronáuticos: progressos e desafios**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos – Brasília: 2010 (Série de Documentos Técnicos). Disponível em: <https://www.cgee.org.br/documents/10182/734063/biocombustiveis_aeronauticos_24012011_9559.pdf>. Acesso em: 14 dez. 2017.

13 OLIVEIRA, M. Voo verde. **Pesquisa Fapesp**, v. 209, p. 56–60, 2013.

14 RANUCCI, C. R. **Transesterificação seguida de destilação para a obtenção de bioquerosene de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), babaçu (*Orbignya phalerata*) e palmiste (*Elaeis guineenses*)**. 2015. 89 f. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) - Centro de Engenharia e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2015.

15 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D7566**: standard specification for aviation turbine fuel containing synthesized hydrocarbons. West Conshohocken, 2015. 32 p.

16 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEIS. Resolução ANP nº 63, de 5 dez. 2014. Estabelece as especificações dos Querosenes de Aviação Alternativos e do Querosene de Aviação B-X (QAV B-X) contidas no Regulamento Técnico, parte integrante desta Resolução, bem como as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas pelos diversos agentes econômicos que comercializam esses produtos em todo o território nacional. **Diário Oficial da União**, 8 dez. 2014. Brasília, 2014. Disponível em: <<http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=anp:10.1048/enu>>. Acesso em 11 mai. 2016.

17 FRANCO, M. **Pinhão manso: aposta para combustível de aviação**. Avião Sustentável, 2013 (Artigo). Disponível em: <<http://aviacaosustentavel.blogspot.com.br/2013/03/o-desafio-do-desenvolvimento-sustentavel.html>>. Acesso em: 23 mai. 2017.

18 UNICA. **Bioquerosene de cana se torna uma realidade e deve ajudar a aviação com suas metas de redução de CO₂**. ÚNICA, 2014 (Notícias). Disponível em: <<http://www.unica.com.br/noticia/1108734492039273619/bioquerosene-de-cana-se-torna-uma-realidade-e-deve-ajudar-a-aviacao-com-suas-metas-de-reducao-de-co2/>>. Acesso em: 31 mai. 2017.

19 ASSESSORIA DE COMUNICAÇÃO SOCIAL UBRABIO. **Ubrabio lança a Plataforma Brasileira do Bioquerosene na Rio+20**. UBRABIO, 2012 (Notícias). Disponível em: <http://www.ubrablo.com.br/1891/noticias/ubrabiolancaaplataforma-brasileiradobioquerosenenario20_166714/>. Acesso em: 31 mai. 2017.

20 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D7974**: standard test method for determination of farnesane, saturated hydrocarbons, and hexahydrofarnesol content of synthesized iso-paraffins (SIP) fuel for blending with jet fuel by gas chromatography. West Conshohocken, 2015. 10 p.

21 RODRIGUES SOLANA, R. et al. Characterization of fennel extracts and quantification of estragole: Optimization and comparison of accelerated solvent extraction and Soxhlet techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 528–536, 2014.

22 YANG, Z. Y. et al. Changes in the physicochemical characteristics, free and bound aroma compounds in the raspberry juice during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, p. 2834–2843, 2015.

23 PENG, F. et al. Comparison of different extraction methods: steam distillation, simultaneous distillation and extraction and headspace co-distillation, used for the analysis of the volatile components in aged flue-cured tobacco leaves. **Journal of Chromatography A**, v. 1040, p. 1–17, 2004.

24 LANÇAS, F. M. **Cromatografia em fase gasosa**. 1.ed. São Carlos: Acta Eventos, 1993. 240 p.

25 COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. 1.ed. Campinas: Editora Unicamp, 2006. 453 p.

26 LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, p. 1318–1325, 2006.

27 MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 1882–1886, 1975.

28 SOUZA, M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, v. 20, p. 191–195, 1997.

29 LANE, R. F.; HUBBARD, A. T. Electrochemistry of chemisorbed molecules. I. Reactants connected to electrodes through olefinic substituents. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 77, p. 1401–1410, 1973.

30 WATKINS, B. F. et al. A Chiral Electrode. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, p. 3549–3550, 1975.

31 MALITESTA, C.; MAZZOTTA, E. MIP sensors – the electrochemical approach. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, p. 1827–1846, 2012.

32 HILT, J. Z.; BYRNE, M. E. Configurational biomimesis in drug delivery: molecular imprinting of biologically significant molecules. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 1599–1620, 2004.

33 SHARMA, P. S.; PIETRZYK-LE, A. Electrochemically synthesized polymers in molecular imprinting for chemical sensing. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, p. 3177–3204, 2012.

34 PAN, Y. et al. A novel electrochemical 4-nonyl-phenol sensor based on molecularly imprinted poly (o-phenylenediamine-co-o-toluidine)-nitrogen-doped graphene nanoribbons-ionic liquid composite film. **Electrochimica Acta**, v. 115, p. 423–428, 2015.

35 BELUOMINI, M. A. et al. D-mannitol sensor based on molecularly imprinted polymer on electrode modified with reduced graphene oxide decorated with gold nanoparticles. **Talanta**, v. 165, p. 231–239, 2017.

36 PENG, Y.; CHEN, Q. Selective determination of Bisphenol A based on molecularly imprinted poly(ortho-phenylenediamine)/multi-walled carbon nanotubes composite film. **Current Analytical Chemistry**, v. 12, p. 431–438, 2016.

37 ZHAI, W. et al. Preparation and characterization of a poly-*o*-phenylenediamine film. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 91, p. 1077–1084, 2013.

38 LI, H. et al. An amperometric sensor for the determination of benzophenone in food packaging materials based on the electropolymerized molecularly imprinted poly-*o*-phenylenediamine film. **Talanta**, v. 99, p. 811–815, 2012.

39 BILAL, S.; HOLZE, R. Electrochemical copolymerization of *o*-toluidine and *o*-phenylenediamine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 592, p. 1–13, 2006.

40 VANOSI, D. et al. Electropolymerization of ortho-phenylenediamine. Structural characterisation of the resulting polymer film and its interfacial capacitive behaviour. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 710, p. 22–28, 2013.

41 HAN, S. et al. A kanamycin sensor based on an electrosynthesized molecularly imprinted poly-*o*-phenylenediamine film on a single-walled carbon nanohorn modified glassy carbon electrode. **Analyst**, v. 142, p. 218–223, 2017.

42 DU, D. et al. Recognition of dimethoate carried by bi-layer electrodeposition of silver nanoparticles and imprinted poly-*o*-phenylenediamine. **Electrochimica Acta**, v. 53, p. 6589–6595, 2008.

43 KOR, K.; ZAREI, K. Development and characterization of an electrochemical sensor for furosemide detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. **Talanta**, v. 146, p. 181–187, 2016.

44 DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Porto Alegre: Editora EDIPUCRS, 2007. 60 p.

45 FARIA, D. L. A. **Entenda o que é espectroscopia Raman**. Química Viva - CRQ-IV, 2011 (Artigo). Disponível em: <http://crq4.org.br/sms/files/file/Espectroscopia_Raman_4.pdf>. Acesso em 14 dez. 2017.

46 SANTOS, F. C. U. et al. Electrochemical determination of total reducing sugars from bioethanol production using glassy carbon electrode modified with graphene oxide containing copper nanoparticles. **Fuel**, v. 163, p. 112–121, 2016.

47 WANG, Y. et al. An Electrochemical sensor for determination of Tryptophan in the presence of DA based on poly (L-Methionine)/Graphene modified electrode. **RSC Advances**, v. 6, p. 10662–10669, 2016.

48 WANG, L. et al. Morphology-controlled synthesis of Ag nanoparticle decorated poly(*o*-phenylenediamine) using microfluidics and its application for hydrogen peroxide detection. **Chemical Engineering Journal**, v. 268, p. 102–108, 2015.

49 YU, R. J. et al. Real-time sensing of *o*-phenylenediamine oxidation on gold nanoparticles. **Sensors (Switzerland)**, v. 17, p. 1–7, 2017.

50 FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H. Microscopia de força atômica aplicada em imunoenaios. **Química Nova**, v. 29, p. 137–142, 2006.

51 LOGRADO, D. L. **Microscopia de força atômica associada à espectrometria de massa na caracterização de sistemas protéicos**. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

52 TING, Y. et al. Electrochemical sensor based on a poly (para-aminobenzoic acid) film modified glassy carbon electrode for the determination of melamine in milk. **Electrochimica Acta**, v. 56, p. 4595–4602, 2011.

53 DEIMINIAT, B.; ROUNAGHI, G. H.; ARBAB-ZAVAR, M. H. Development of a new electrochemical imprinted sensor based on poly-pyrrole, sol–gel and multiwall carbon nanotubes for determination of tramadol. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 238, p. 651–659, 2017.

54 CHEN, L.; TANNER, E. E. L.; COMPTON, R. G. Adsorption on graphene: flat to edge to end transitions of phenyl hydroquinone. **Physical Chemistry Chemistry Physical**, v. 19, p. 17521–17525, 2017.

55 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2nd. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001. 856 p.

56 MOREIRA, F. T. C. et al. Protein-responsive polymers for point-of-care detection of cardiac biomarker. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 196, p. 123–132, 2014.

57 PEDROSO, M. M. et al. Electrochemical sensor for dodecyl gallate determination based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 253, p. 180–186, 2017.

58 CASSIANO, N. M. et al. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, v. 32, p. 1021–1030, 2009.

59 RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771–780, 2004.

60 BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.

61 ZITTEL, H. E.; MILLER, F. J. A glassy-carbon electrode for voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 37, p. 200–203, 1965.

62 ATKINS, P. W.; PAULA, J. **Físico-Química**. 8.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 427 p.