

JOSÉ RODRIGUES DELFINO

Desenvolvimento de detectores eletroquímicos baseados em eletrodos modificados com materiais nanoestruturados para determinação de antioxidantes em bioquerosene de aviação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para a obtenção do título de
Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

Araraquara – SP
2019

FICHA CATALOGRÁFICA

D349d Delfino, José Rodrigues
Desenvolvimento de detectores eletroquímicos baseados em eletrodos modificados com materiais nanoestruturados para determinação de antioxidantes em bioquerosene de aviação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência / José Rodrigues Delfino. – Araraquara : [s.n.], 2019
156 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Nelson Ramos Stradiotto

1. Análise eletroquímica. 2. Cromatografia líquida de alta eficiência. 3. Materiais nanoestruturados. 4. Antioxidantes. 5. Biocombustíveis. I. Título.

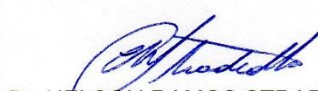
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Desenvolvimento de detectores eletroquímicos baseados em eletrodos modificados com materiais nanoestruturados para determinação de antioxidantes em bioquerosene de aviação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência"

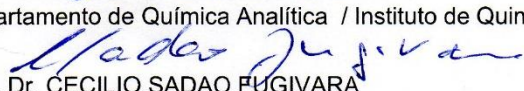
AUTOR: JOSÉ RODRIGUES DELFINO

ORIENTADOR: NELSON RAMOS STRADIOTTO

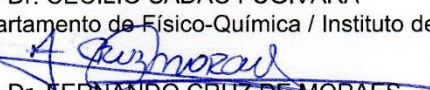
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. NELSON RAMOS STRADIOTTO

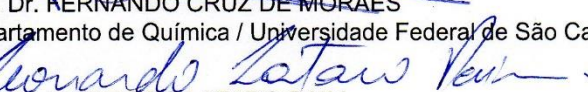
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. CECILIO SADAÓ FUGIVARA

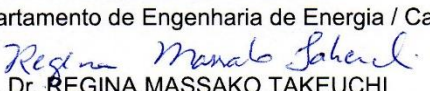
Departamento de Físico-Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. FERNANDO CRUZ DE MORAES

Departamento de Química / Universidade Federal de São Carlos - UFSCAr - São Carlos


Prof. Dr. LEONARDO LATARO PAIM

Departamento de Engenharia de Energia / Campus Experimental de Rosana - UNESP - Rosana


Prof. Dr. REGINA MASSAKO TAKEUCHI

Departamento de Química Analítica / Faculdade de Ciências Integradas do Pontal - UFU - Ituiutaba

Araraquara, 17 de outubro de 2019

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: José Rodrigues Delfino

Nome em citações bibliográficas: Delfino, J. R.; Delfino, José R.; Rodrigues Delfino, J.; José Rodrigues Delfino; José R. Delfino;

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Endereço: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Instituto de Química de Araraquara. Departamento de Química Analítica.
Rua Prof. Francisco Degni, 55.
Bairro Quitandinha
Araraquara. 14800-060, SP – Brasil

Endereços eletrônicos: jrdelfino.cv@gmail.com
jr.delfino@unesp.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2015-2019 Doutorado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Instituto de Química – Câmpus de Araraquara (IQ/UNESP), Araraquara - SP, Brasil
Título: Desenvolvimento de detectores eletroquímicos baseados em eletrodos modificados com materiais nanoestruturados para determinação de antioxidantes em bioquerosene de aviação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência
Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

2015 – 2015 Licenciatura em Química

Universidade Católica de Brasília, UCB/DF, Brasil

2012-2014

Mestrado em Química

Universidade Federal do Maranhão (UFMA). São Luís - MA, Brasil

Título: Procedimento analítico para determinação do teor de água em amostras de biodiesel por espectroscopia de impedância eletroquímica

Orientadora: Profa. Dra. Aldaléa Lopes Brandes Marques

Bolsista da: Fundação de Amparo à Pesquisa ao Desenvol. Científico e Tecnológico - MA, FAPEMA, Brasil

2012 – 2013

Especialização em Análise de Risco Ambiental

Universidade Federal do Maranhão (UFMA) Brasil. São Luís - MA, Brasil

Título: Estratégias de gestão com foco na prevenção da poluição por resíduos sólidos gerados em refinarias de petróleo e gás

Orientador: Prof. Ms. Antônio Alves Dias Neto

2008-2011

Bacharel em Química Industrial

Universidade Federal do Maranhão (UFMA) Brasil

Título: Estudo do comportamento voltamétrico de piridoxina (vitamina B6) sobre eletrodos de carbono vítreo

Orientador: Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka

Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos:

1. Delfino, J. R.; Da Silva, J. L.; Marques, A. L. B.; Stradiotto, N. R. Antioxidants detection in aviation biokerosene by high-performance liquid chromatography using gold nanoparticles anchored in reduced graphene oxide. **Fuel**, v. 260, 116315, 2020;

2. Delfino, José Rodrigues; Pereira, Thúlio C.; Costa Viegas, Helmara D.; Marques, Edmar P.; Pupim Ferreira, Antônio A.; Zhang, Lei; Zhang, Jiujun; Brandes Marques, Aldaléa L. A simple and fast method to determine water content in biodiesel by electrochemical impedance spectroscopy. *Talanta*, v. 179, p. 753-759, 2018;
3. Pereira, Thulio César; Delfino, José R.; Ferreira, Antônio A. P.; Barros, Fernando José S.; Marques, Edmar P.; Zhang, Jiujun; Marques, Aldaléa L. B. Stainless Steel Electrodes to Determine Biodiesel Content in Petroleum Diesel Fuel by Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Electroanalysis*, v. 29, p. 814-820, 2016;

Trabalhos apresentados e publicados em anais de eventos científicos:

1. Delfino, J. R.; Marques, A. L. B.; Stradiotto, N. R. Amperometric detection of antioxidants in biokerosene by HPLC, using electrode modified with reduced graphene oxide and gold nanoparticles. In: Sociedade Brasileira de Química, 2019, Joinville – SC. **42^a Reunião Annual da Sociedade Brasileira de Química**, 2019;
2. Delfino, J. R.; Da Silva, J. L.; Marques, A. L. B.; Stradiotto, N. R. Amperometric detection of antioxidants in aviation biokerosene by HPLC, using electrode modified with graphene oxide and nickel nanoparticles. In: Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2019, Ribeirão Preto – SP. **XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, 2019.

Aos meus pais: Raimundo Joaquim Delfino, e
Maria Rodrigues Delfino (*in memoriam*);
Aos meus irmãos: Cicero, Francisco Delfino, e
Raimundo Delfino Filho; e
A minha tia Francisca Lima.

AGRADECIMENTOS

Expresso os mais sinceros votos de gratidão a:

Deus pelo dom da vida e por todas as realizações;

Ao meu pai Raimundo Delfino; meus irmãos Francisco, Cicero e Raimundo Filho, por todo apoio, incentivo e confiança;

Todos meus familiares, tias, tios, primos e primas que sempre me apoiaram;

Meu orientador Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto, especial agradecimento, pela orientação, ensinamentos, e incentivos nos momentos mais difíceis desta caminhada; pelas oportunidades oferecidas, e imensurável aprendizado propiciado;

Profa. Dr^a. Aldaléa Lopes Brandes Marques, que me acolheu em seu laboratório de pesquisa, permitindo a realização de parte deste trabalho, auxiliando e incentivando em todos os momentos;

Aos professores do grupo de Eletroanalítica de Araraquara: Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni, Dra. Hideko Yamanaka e Dra. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor, pela amizade, apoio, agradável convivência e contribuições à minha formação acadêmica;

Aos demais professores do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por todo aprendizado, experiências compartilhadas e incentivo propiciados ao longo dessa etapa da minha vida;

Aos companheiros de laboratório, que sempre estiveram à disposição e que muito contribuíram, direta ou indiretamente, para o bom desempenho deste trabalho: José Luíz, Acelino, Maísa, Thúlio, Edervaldo, Daniel, e todos os demais que passaram ou que fazem parte do laboratório IPBEN;

Aos amigos Gláucia, Carlos e Thúlio pela acolhida durante os períodos que estive em Araraquara;

Aos amigos: Raquel Sousa, Leidiana Lima, Gabrielle Soares, Stefanni Everton, e Luis Miguel pelo apoio e incentivo;

Ao LMA-IQ pela disponibilidade de utilização do aparelho de MEV e AFM;

A CAPES, CNPq e FAPESP (Processo nº 2017/25329-6), pelos auxílios financeiros;

E a todos aqueles que, eventualmente não foram aqui mencionados, mas colaboraram de alguma maneira para a execução desse trabalho.

“ O Senhor é o meu pastor, nada me faltará. Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranquilas.

Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da justiça, por amor do seu nome.

Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal algum, porque tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam.

Preparas uma mesa perante mim na presença dos meus inimigos, unges a minha cabeça com óleo, o meu cálice transborda.

Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida; e habitarei na casa do Senhor por longos dias. ”

RESUMO

A globalização e o aumento da população mundial refletem diretamente na demanda energética, principalmente por combustíveis de origem fóssil, que causam diversos problemas de cunho econômico e ambiental. O setor de transporte possui uma demanda crescente por combustíveis, esse cenário contribuiu para o desenvolvimento de novos biocombustíveis, especialmente no setor da aviação. O bioquerosene é um combustível alternativo, oriundo de fontes renováveis que pode ser adicionado ao querosene mineral em até 50%, diminuindo consideravelmente os problemas ambientais ocasionados por querosene de origem fóssil. Apesar dos efeitos benéficos, o bioquerosene possui menor estabilidade a oxidação, característica que pode causar sérios problemas ao motor, e colocar em risco a segurança do usuário. Todavia, antioxidantes sintéticos têm sido utilizados com sucesso para eliminar este problema. Esses fatores tornam indispensável o controle de qualidade do bioquerosene, sendo a determinação de antioxidantes um dos principais parâmetros de qualidade. Neste trabalho, é descrito a construção de eletrodos de carbono vítreo modificados com óxido de grafeno reduzido (GCE/rGO) e nanopartículas metálicas de ouro (AuNPs), níquel (NiNPs) e prata (AgNPs). Os eletrodos modificados foram caracterizados por técnicas eletroquímicas, tais como voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica; e microscópicas, tais como microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica. Os comportamentos eletroquímicos dos antioxidantes N, N'-di-sec-butil-p-fenilenodiamina (BPA); 2,6-di-terc-butilfenol (TBP); 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT) e 2-(tert-butil)-4,6-dimetilfenol (BMP) foram estudados nos eletrodos modificados. Os métodos analíticos desenvolvidos utilizaram GCE/rGO-AuNPs, GCE/rGO-NiNPs e GCE/rGO-AgNPs como detectores em HPLC, para quantificação de antioxidantes em bioquerosene de aviação. Os métodos cromatográficos utilizaram separação de fase reversa, com detecção amperométrica pulsada dos compostos. Os limites de detecção obtidos nos três métodos foram inferiores a $2,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, sensibilidade superior a $3,0 \times 10^6 \text{ nA mol}^{-1}$. Os três eletrodos modificados demonstraram ser adequados como detectores eletroquímicos em HPLC para a determinação de antioxidantes em amostras de bioquerosene de aviação, sem problemas de interferência. Os valores de concentração obtidos na amostra variaram entre $2,0 \times 10^{-5} \pm 1,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,4 \times 10^{-5} \pm 2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Os estudos de recuperação variaram entre $95,3 \pm 2,6\%$ e $103,5 \pm 4,5\%$. As características analíticas dos eletrodos modificados os tornam atraentes, para uso como detectores eletroquímicos em HPLC, podendo ser empregados para determinação rotineira de antioxidantes em matrizes complexas.

Palavras chaves: Detecção eletroquímica. Cromatografia líquida de alta eficiência. Óxido de grafeno reduzido. Nanopartículas metálicas. Antioxidantes; Bioquerosene.

ABSTRACT

Globalization and the increase in world population reflect directly on energy demand, mainly by fossil fuels, which cause various economic and environmental problems. The transportation sector has a growing demand for fuels, this scenario contributed to the development of new biofuels, especially in the aviation sector. Biokerosene is an alternative fuel, from renewable sources that can be added to mineral kerosene by up to 50%, can considerably reduce the environmental problems caused by fossil fuels. Despite the beneficial effects, biokerosene has lower oxidation stability, it can be serious engine problems, and endanger user safety. However, synthetic antioxidants have been successfully used to eliminate this problem. These factors make quality control of bioqueosene indispensable, the determination of antioxidants is one of the main quality parameters. In this work, the construction of modified graphene oxide (GCE/rGO) modified glassy carbon electrodes and gold (AuNPs), nickel (NiNPs) and silver (AgNPs) metal nanoparticles is described. The modified electrodes were characterized by electrochemical techniques, such as cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy; and microscopic, such as scanning electron microscopy and atomic force microscopy. The electrochemical behaviors of the antioxidants N, N'-di-sec-butyl-p-phenylenediamine (BPA); 2,6-di-tert-butylphenol (TBP); 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) and 2- (tert-butyl) -4,6-dimethylphenol (BMP) were studied on the modified electrodes. The analytical methods developed used GCE / rGO-AuNPs, GCE / rGO-NiNPs and GCE / rGO-AgNPs as HPLC detectors for antioxidant quantification in aviation biokerosene. The chromatographic methods used reverse phase separation, with pulsed amperometric detection of compounds. The detection limits obtained in the three methods were less than $2.8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, sensitivity greater than $3.0 \times 10^6 \text{ nA mol}^{-1} \text{ L}$. The three modified electrodes have been found to be suitable as HPLC electrochemical detectors for the determination of antioxidants in aviation biokerosene samples, no interference issues. The concentration values obtained in the sample ranged from $2.0 \times 10^{-5} \pm 1.3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ to $5.4 \times 10^{-5} \pm 2.5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Recovery studies ranged from $95.3 \pm 2.6\%$ to $103.5 \pm 4.5\%$. The analytical characteristics of modified electrodes make them attractive as electrochemical HPLC detectors, they can be used for routine determination of antioxidants in complex matrices.

Keywords: Electrochemical detection. High performance liquid chromatography. Reduced graphene oxide. Metal nanoparticles. Antioxidants; Biokerosene.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular dos antioxidantes. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....	31
Figura 2 - Representação esquemática do processo de obtenção do óxido de grafeno reduzido (rGO). Fonte: adaptado de McCoy, et. al [85].	39
Figura 3 - Síntese de nanopartículas de diferentes tamanhos e morfologias, via métodos mecânicos, “top-down”, ou usando sais de metal, “bottom-up”. Fonte: adaptado de Teow et. al. [93].....	42
Figura 4 - Voltamogramas cíclicos do GCE na presença e na ausência de (A) BHT, (B) TBP e (C) BPA $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ . $v = 50$ mV s ⁻¹ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....	59
Figura 5: Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO $1,0$ mg mL ⁻¹ em Na ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ . $v = 50$ mV s ⁻¹ . 1º ciclo ao 15º ciclo. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	60
Figura 6 - Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO na presença e na ausência de BHT, TBP e BPA $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ . $v = 50$ mV s ⁻¹ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019	61
Figura 7 - Voltamograma cíclico do GCE/rGO-AuNPs em $0,10$ mol L ⁻¹ NaOH, após 30 ciclos. $v = 50$ mV s ⁻¹ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....	63
Figura 8 - Parâmetros da formação de nanopartículas de ouro: (A) Estudo da concentração de H ₂ AuCl ₄ ; (B) Estudo do potencial e (C) Estudo do tempo de eletrodeposição. Corrente de pico anódica de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ BHT, 50 mV s ⁻¹ . $n = 3$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....	63
Figura 9 - (A) Voltamogramas cíclicos do estudo de velocidade: 10 a 750 mV s ⁻¹ , GCE/rGO-AuNPs em solução de NaOH $0,10$ mol L ⁻¹ . (B) Correlações lineares de I_{pa} versus $(v)^{1/2}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	64
Figura 10 - Imagens MEV de: GCE/rGO (A), GCE/rGO-AuNPs (B), Análise EDX da superfie de GCE/rGO-AuNPs (C). Histograma do diâmetro das nanopartículas (D). Fonte: elaborado pelo autor, 2019	66
Figura 11 - Imagens de AFM: eletrodo modificado com rGO; (A) eletrodo modificado com rGO-AuNPs (B). Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....	66

Figura 12 - Voltamogramas cíclicos (A); Diagramas de Nyquist (B), em potencial de circuito aberto (OCP): GCE (a), GCE/rGO (b), GCE/rGO-AuNPs (c), em $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe}[(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ e $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $v=50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 201967

Figura 13 - Voltamogramas cíclicos para GCE/rGO e GCE/rGO-AuNPs na ausência e presença de BHT, TBP e BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019..69

Figura 14 - Estudos de velocidade de varredura para (A) BHT (B) TBP e (C) BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre GCE/rGO-AuNPs. (D) Dependência de I_{pa2} com $v^{1/2}$ para a oxidação de (a) BHT (b) TBP e (c) BPA $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre o GCE/rGO-AuNPs. Fonte: elaborado pelo autor, 201970

Figura 15 - Estudos de concentração dos antioxidantes no GCE/rGO-AuNPs. Curvas analíticas (inseridas) obtidas a partir da relação de I_{pa} versus a concentração de: (A) BHT; (B) TBP e (C) BPA em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....72

Figura 16 - Sequência de pulsos aplicada na detecção amperométrica dos antioxidantes. Fonte: elaborado pelo autor, 201974

Figura 17 - (A) Cromatogramas da otimização da fase móvel (ACN), variado de 100 a 85%. (B) influência da acetonitrila na área dos picos e (C) no tempo de retenção. Condições experimentais: Coluna C18, fase móvel: ACN:H₂O, e $\text{NaOH } 0,3 \text{ mol L}^{-1}$ (pós-coluna), potencial de detecção 0,35 V versus Pd, fluxo $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. Picos: (1) BPA (2) TBP (3) BHT $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 201975

Figura 18 - (A) Cromatogramas da otimização do teor de ácido acético na água que constitui a fase móvel, variando de (a) 0,5 a (c) 1,5%. Coluna C18, fase móvel : ACN:H₂O, e $\text{NaOH } 0,3 \text{ mol L}^{-1}$, potencial de detecção 0,35 V versus Pd, fluxo $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. Picos: (1) BPA (2) TBP (3) BHT $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Influência do ácido acético na área dos picos. Fonte: elaborado pelo autor, 201976

Figura 19: (A) Estudos da velocidade da fase móvel, variando de (a) 0,1 a (d) 0,7 mL min^{-1} . (B) Influência da taxa de fluxo no tempo de retenção (t_r) dos picos. Condições experimentais: fase móvel: ACN:H₂O acidificada (90:10%) e $\text{NaOH } 0,3 \text{ mol L}^{-1}$, potencial de detecção de 0,35 V versus Pd. Picos: (1) BPA, (2) TBP e (3) BHT $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....77

Figura 20 - (A) Cromatogramas do estudo de potencial aplicado na resposta amperométrica dos antioxidantes (1) BPA, (2) TBP e (3) BHT $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, variando de (a) 0,25 a (f) 0,50 V vs. Pd. (B) Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para (a) BHT, (b) BPA e (c) TBP usando GCE/rGO-AuNPs.

Condições experimentais: Fase móvel: ACN:H₂O (90:10%) e NaOH 0,3 mol L⁻¹, HAc 1%; fluxo 0,3 mL min⁻¹. Temperatura da coluna e do detector: 30 °C e 35°C, respectivamente. Fonte: elaborado pelo autor, 201977

Figura 21 – Cromatogramas de uma mistura de três antioxidantes, picos: (1) BPA, (2) TBP e (3) BHT 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹. (a) Eletrodo Au não modificado e (b) GCE/rGO-AuNPs. Condições experimentais: fase móvel: ACN:H₂O acidificada (90:10%) e NaOH 0,3 mol L⁻¹, *Eletrododo de ouro* (■) e *GCE/rGO-AuNPs* (■). *E* = 0,4 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....78

Figura 22 - (A) Cromatogramas obtidos para diferentes concentrações dos antioxidantes. (B) Curvas analíticas relacionando área de pico versus concentração. Detector amperométrico GCE/rGO-AuNPs. Fase móvel: ACN:H₂O acidificada (90:10%) e NaOH 0,3 mol L⁻¹; fluxo 0,3 ml min⁻¹. Potencial de detecção 0,40 V. Picos: (1) BPA, (2) TBP e (3) BHT. Fonte: elaborado pelo autor, 201980

Figura 23 - Separação cromatográfica da amostra de bioquerosene diluída 1:100 com ACN. Picos: 1- espécies não identificadas, 2- BPA, 3- TBP e 3- BHT. Condições: eluição isocrática com ACN:H₂O 90/10% (v/v), com 1,0% de HAc, e NaOH 0,3 mol L⁻¹, potencial de detecção de 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 201982

Figura 24 - (A) Voltamogramas cíclicos do estudo de concentração de GO, variado de (a)0,1 a (f)1,0 mg mL⁻¹. (B) Concentração de GO versus *I*_{pa}; (C) Concentração de Na₂SO₄ versus *I*_{pa}. (D) Potencial de eletrodeposição versus *I*_{pa}. (E) Tempo de eletrodeposição vs *I*_{pa}. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 ...86

Figura 25 - Estudo dos fatores que influenciam na formação das nanopartículas de níquel: concentração de NiSO₄ versus *I*_{pa}; (B) concentração de NiSO₄ versus *E*_{pa}; (C) *E*_{eletrodeposição} versus *I*_{pa}; (D) *t*_{eletrodeposição}. Fonte: elaborado pelo autor, 201988

Figura 26 - (A) Voltamogramas cíclicos de GCE/rGO; GCE/NiNPs e GCE/rGO-NiNPs. *v* = 50mV s⁻¹. (B) Diagramas de Nyquist do GCE não modificado (a); GCE/rGO (b) e GCE/rGO-NiNPs, potencial de circuito aberto (OCP). Circuito elétrico equivalente inserido. Fonte: elaborado pelo autor, 201990

Figura 27 - (A) Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Velocidades de varredura: 10 a 750 mV s⁻¹. (B) *I*_{pa} e *I*_{pc} versus *v*^{1/2}. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.....91

Figura 28 - Imagens MEV de: (A) GCE/rGO, (B) GCE/rGO-NiNPs, (C) Análise EDX da superfície de GCE/rGO-NiNPs. (D) Histograma do diâmetro das nanopartículas. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.92

Figura 29 - Imagens de AFM: (A) eletrodo modificado com rGO, (B) eletrodo modificado com NiNPs/rGO. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	92
Figura 30 - Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-NiNPs na (I) ausência e (II) presença de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de: BHT (A); BPA (B); TBP (C) e BMP (D), em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ ; 50 mV s ⁻¹ . Fonte: Elaborado pelo autor, 2019	94
Figura 31 - Voltamogramas do estudo da velocidade de varredura: (A) BHT; (C) TBP; (E) BMP e (G) BPA. Efeito da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) nas correntes de picos anódicos do GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , antioxidantes $5,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019	95
Figura 32 - (A) Voltamogramas cíclicos dos estudos de concentração de BHT sobre o GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , velocidade 50mV s ⁻¹ . (B) Curva analítica para BHT, n=3. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	96
Figura 33 - (A) Voltamogramas cíclicos dos estudos de concentração de TBP sobre o GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , velocidade 50mV s ⁻¹ . (B) Curva analítica para TBP, n=3. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	97
Figura 34 - (A) Voltamogramas cíclicos dos estudos de concentração de BPA sobre o GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , velocidade 50mV s ⁻¹ . (B) Curva analítica para BPA, n = 3. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	97
Figura 35 - (A) Voltamogramas cíclicos dos estudos de concentração de BMP sobre o GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , velocidade 50mV s ⁻¹ . (B) Curva analítica para BMP, n = 3. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	98
Figura 36 - Amperogramas de adições sucessivas de: (A) BHT; (B) TBP; (C) BMP e (D) BPA, em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , utilizando GCE/rGO-NiNPs, potencial constante de 0,75 V sob agitação. Gráficos da corrente em função da concentração para os respectivos antioxidantes, inseridos. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	99
Figura 37 - Voltamograma cíclico obtido em fluxo (HPLC), empregando como eletrólito acetonitrila:água (90:10% v/v) com fluxo 0,5 ml min ⁻¹ ; e NaOH 0,30 mol L ⁻¹ (pós coluna), fluxo de 0,3 mL min ⁻¹ . Utilizando GCE/rGO-NiNPs, no intervalo de potencial 0 a 0,55 V e velocidade 50 mV s ⁻¹ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019	101

Figura 38: Sequência de pulsos aplicada na detecção amperométrica dos antioxidantes. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 102

Figura 39 - (A) Cromatogramas do estudo de composição da fase móvel ACN:H₂O: (a- 100% ACN), (b- 90:10 v/v), (c- 80:20 v/v) e (d- 70:30 v/v). (B) Relação ACN:H₂O versus área de pico para diferentes composições da fase móvel. Coluna C18, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 103

Figura 40 - (A) Cromatogramas obtidos para o estudo do teor de ácido acético na fase móvel, variação de 0,5 a 1,5% (a até c). (B) Relação entre área de pico versus teor de ácido acético. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 104

Figura 41: (A) Cromatogramas referentes ao estudo de concentração de NaOH (pós-coluna), variação de (a)0,1 mol L⁻¹ a (d)0,4 mol L⁻¹. (B) Relação entre área de pico dos antioxidantes e concentração de NaOH. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 105

Figura 42: (A) Cromatogramas referentes ao estudo do fluxo da fase móvel, variando de (a)0,2 a (e)0,6 mL min⁻¹. (B) Relação entre tempo de retenção e fluxo. (C) Relação entre área de pico e fluxo. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 106

Figura 43 - Estudos de temperatura para: (A) Coluna, variando de 25 a 40°C; (B) Detector, variando de 25 a 40°C. Condições experimentais: coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 107

Figura 44: (A) Cromatogramas referente ao estudo de potencial de detecção dos antioxidantes (a- 0,30 até f- 0,55 V), fase móvel ACN:H₂O (80:20 v/v) e HAc 1,0%, fluxo 0,3 ml min⁻¹, NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós-coluna). (B) Relação da área de pico versus potencial de detecção empregado. Coluna C18. Detector: GCE/rGO-NiNPs. t_{coluna} 30°C e $t_{detector}$ 35°C. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 108

Figura 45 - Cromatogramas referente a injeção dos antioxidantes na fase móvel, em condições otimizadas. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,45 V vs Pd. t_{coluna} 30°C e $t_{detector}$ 35°C. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 109

Figura 46 - (A) Cromatogramas dos antioxidantes para diferentes concentrações. (B) Relação das áreas de pico versus concentração dos antioxidantes: BPA, BMP, TBP e BHT. Coluna C18, fase móvel ACN:H ₂ O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,45 V vs Pd. t_{coluna} 30°C e $t_{detector}$ 35°C. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	110
Figura 47 - Cromatogramas representativos da amostra de bioquerosene (diluição 1:100), antes e após adição dos padrões. Condições: coluna C18. Detector: GCE/rGO-NiNPs; fase móvel ACN:H ₂ O (80:20 v/v) e HAc 1,0%, fluxo 0,4 ml min ⁻¹ . E =0,45 V. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	112
Figura 48 - Voltamograma cíclico do GCE/rGO em solução de AgNO ₃ 1,0×10 ⁻³ mol L ⁻¹ em HNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹ . Velocidade 50 mV s ⁻¹ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019	115
Figura 49 - Voltamograma cíclico do GCE/rGO-AgNPs em 0,10 mol L ⁻¹ NaOH, v = 50 mV s ⁻¹ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019	117
Figura 50 - Voltamogramas cíclicos referente a oxidação de 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de BHT em NaOH 0,10 mol L ⁻¹ para GCE/rGO-AgNPs, na ausência (linha preta) e na presença (linha vermelha) do BHT. v = 50 mV s ⁻¹ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019	117
Figura 51 - Otimização da eletrodeposição das AgNPs sobre a superfície do GCE/rGO. (A) Resposta eletrocatalítica para BHT em função do potencial de eletrodeposição; (B) tempo de eletrodeposição; (C) Concentração de AgNO ₃ ; (D) Concentração de HNO ₃ . Fonte: elaborado pelo autor, 2019	119
Figura 52 - (A) Voltamogramas cíclicos do estudo de velocidade de varredura no intervalo de 10 a 750 mV s ⁻¹ do GCE/rGO-AgNPs em solução de NaOH 0,10 mol L ⁻¹ . (B) Correlação das correntes de pico anódicas (I _{pa}) e catódicas (I _{pc}) versus raiz a quadrada da velocidade (V) ^{1/2} . Fonte: elaborado pelo autor, 2019	120
Figura 53 - Diagramas de Nyquist do GCE (a); GCE/rGO (b) e GCE/rGO-AuNPs (c), potencial de circuito aberto. Circuito elétrico equivalente inserido. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	121
Figura 54 - Imagens MEV: (A) GCE/rGO e (B) GCE/rGO-AgNPs. (C) Espectro de EDX do GCE/rGO-AgNPs e (D) Histograma do diâmetro das AgNPs na superfície do GCE/rGO. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	122
Figura 55 - Imagens AFM: (A) eletrodo GCE/rGO e (B) GCE/rGO-AgNPs. Fonte: elaborado pelo autor, 2019	123

Figura 56 - Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-AgNPs na presença de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de: (A) BHT; (B) BMP; (C) BPA e (D) TBP em NaOH 0,1 mol L⁻¹, $v = 100$ mV s⁻¹. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 124

Figura 57: Voltamogramas cíclicos do estudo de concentração dos antioxidantes sobre o GCE/rGO-AgNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹; $v = 50$ mV s⁻¹. Figuras inseridas: curvas analíticas obtidas para os antioxidantes: (A) BHT; (B) BMP; (C) BPA e (D) TBP. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 125

Figura 58: Voltamogramas do estudo de velocidade do GCE/rGO-AgNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹, na presença de antioxidantes $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Efeito da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) nas correntes de picos anódicos, Figuras inseridas: (A) BHT; (B) BMP; (C) BPA e (D) TBP. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 126

Figura 59 - Voltamograma cíclico obtido no HPLC. Condições: coluna C18. Fase móvel ACN:H₂O (90:10% v/v) com fluxo 0,5 ml min⁻¹; e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós coluna) fluxo 0,3 ml min⁻¹. GCE/rGO-AgNPs, velocidade 50 mV s⁻¹. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 128

Figura 60 - Sequência de pulsos aplicada na detecção amperométrica dos antioxidantes. Detector: GCE/rGO-AgNPs. Condições: coluna C18. Fase móvel: ACN:H₂O (90:10% v/v) com fluxo 0,5 ml min⁻¹; e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós coluna) fluxo 0,3 ml min⁻¹. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 129

Figura 61: (A) Cromatogramas do estudo de composição da fase móvel ACN:H₂O – (a)100 a (d)70% ACN. (B) Relação ACN:H₂O versus tempo de retenção e (C) ACN:H₂O versus área de pico. Coluna C18; fluxo 0,5 ml min⁻¹; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 .. 130

Figura 62 - (A) Cromatogramas obtidos para o estudo do teor de ácido acético na fase móvel, variado de: (a)0,5 a (c)1,5%. (B) Relação entre área de pico versus teor de ácido acético. Coluna C18; fase móvel ACN: H₂O (80:20, v/v) fluxo 0,5 ml min⁻¹; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 131

Figura 63 - (A) Cromatogramas referentes ao estudo da concentração de NaOH (pós-coluna), variação de 0,1 mol L⁻¹ a 0,4 mol L⁻¹ (a) a (d). (B) Relação entre área de pico dos antioxidantes e concentração de NaOH. Coluna C18; fase móvel ACN: H₂O (80:20, v/v) e HAc 1%; fluxo 0,5 ml min⁻¹; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 132

Figura 64 - (A) Cromatogramas referentes ao estudo do fluxo da fase móvel, variando de (e)0,2 a (a)0,6 mL min⁻¹. (B) Relação entre área de pico e fluxo. Coluna C18; fase móvel ACN: H₂O (80:20, v/v) e HAc 1%; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 132

Figura 65 - Estudos de temperatura: (A) Coluna, variando de 25 a 40°C. (B) Detector, variando de 25 a 40°C. Coluna C18; fase móvel ACN: H₂O (80:20, v/v) e HAc 1%; fluxo 0,4 ml min⁻¹; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 133

Figura 66 - (A) Cromatogramas referente ao estudo do potencial de detecção dos antioxidantes, fase móvel ACN:H₂O (80:20 v/v) e HAc 1,0%, fluxo 0,4 ml min⁻¹, NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós-coluna). (B) Relação da área de pico versus potencial de detecção dos antioxidantes. (a) 0,3 V até (f) 0,5 V. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 134

Figura 67: Cromatogramas referente a injeção dos antioxidantes na fase móvel, em condições otimizadas. Empregando GCE/rGO-AgNPs. Coluna C18; fase móvel ACN: H₂O (80:20, v/v) e HAc 1,0%; fluxo 0,4 ml min⁻¹; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 .. 135

Figura 68: (A) Cromatogramas das misturas dos antioxidantes em diferentes concentrações. (B) Relação das áreas de pico versus concentração dos antioxidantes: BPA, BMP, TBP e BHT. Coluna C18; Fase móvel ACN:H₂O (80:20% v/v) e 1,0% HAc, fluxo 0,4 ml/min; e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós coluna) 0,3 ml/min. Detector amperométrico GCE/rGO-AgNPs. Potencial de detecção 0,40 V vs. Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 136

Figura 69: Cromatogramas representativos da amostra de bioquerosene (dilução 1:100), antes e após adição dos padrões. Coluna C18; Fase móvel ACN:H₂O (80:20 v/v), fluxo 0,4 ml min⁻¹ e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós coluna) fluxo 0,3 mol L⁻¹. Detector amperométrico GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V. Fonte: elaborado pelo autor, 2019 138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Combustíveis de aviação alternativos certificados pela ASTM [24].	30
Tabela 2 - Especificação dos querosenes de aviação alternativos. RANP 778/2019 [6]	32
Tabela 3: Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares da Figura 9. $n = 3$	64
Tabela 4 - Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares da Figura 14-D. $n = 3$	70
Tabela 5: Parâmetros analíticos para os antioxidantes BHT, TBP e BPA no GCE/rGO-AuNPs em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ . $n = 3$	72
Tabela 6: Parâmetros cromatográficos para a separação de BPA, TBP e BHT.	79
Tabela 7 – Desempenho analítico do GCE/rGO-AuNPs como detector amperométrico para antioxidantes ($n=3$)	80
Tabela 8 - Valores de recuperação obtidos para o método empregado na quantificação de antioxidantes na amostra de bioquerosene por RP-HPLC-PAD. $n=3$.	82
Tabela 9 - Parâmetros voltamétricos para GCE e rGO-GCE. Diferentes concentrações de GO	85
Tabela 10: Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares de corrente de pico anódica e raiz quadrada da velocidade, para os antioxidantes BHT, TBP, BMP e BPA, obtidas a partir da Figura 31.	95
Tabela 11: Figuras de mérito para os antioxidantes utilizando a técnica de amperometria pulsada com eletrodo de GCE/rGO-NiNPs. $n=3$	100
Tabela 12 - Parâmetros cromatograficos para separação dos antioxidantes. Detector: GCE/rGO-NiNPs	109
Tabela 13: Figuras de mérito para os antioxidantes utilizando RP-HPLC-PAD e GCE/rGO-NiNPs. $n=3$	110
Tabela 14 - Valores de recuperação obtidos para o método empregado na quantificação de antioxidantes na amostra de bioquerosene por RP-HPLC-PAD. $n = 3$.	112
Tabela 15: Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares da Figura 52-B.	120

Tabela 16: Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares de corrente de pico anódica e raiz quadrada da velocidade, para os antioxidantes BHT, TBP, BMP e BPA, obtidas a partir da Figura 58.	127
Tabela 17: Parâmetros Cromatográficos para separação de antioxidantes. Detector: GCE/rGO-AgNPs	135
Tabela 18: Figuras de mérito obtidas a partir da detecção dos antioxidantes utilizando RP-HPLC-PAD, com eletrodo GCE/rGO-AgNPs. n=3.....	137
Tabela 19: Valores de recuperação obtidos para o método empregado na quantificação de antioxidantes na amostra de bioquerosene por RP-HPLC-PAD. Detector: GCE/rGO-AgNPs.	138

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN: Acetonitrila

AFM: Microscopia de força atômica

AgNPs: Nanopartículas de prata

ANP: Agência Nacional de Petróleo

ASTM: American Society for Testing and Materials

AuNPs: Nanopartículas de ouro

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

BMP: 2-(terc-butil)-4,6-dimetilfenol

BPA: N,N'-di-sec-butil-parafenilenodiamina

EIS: Electrochemical Impedance Spectroscopy

GC: Cromatografia a gás

GCE/rGO: Eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido

GCE: Eletrodo de carbono vítreo (Glassy Carbon Electrode)

GO: Óxido de grafeno

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*)

I_{pa} : Corrente de pico anódica

Jet A-1: Querosene de origem fóssil

MEV: Microscopia eletrônica de varredura

NiNPs: Nanopartículas de níquel

NPs: Nanopartículas

RANP: Resolução da agência nacional de petróleo

rGO: Óxido de grafeno reduzido

R_s : Resistência da solução

R_{ct} : Resistência de transferência de carga

RP-HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa

RP-HPLC-PAD: Cromatografia líquida de fase reversa com detecção amperométrica pulsada

RSD: Desvio padrão relativo

SIP: Iso-parafinas sintetizadas

SPK/A: Querosene parafínico sintetizado mais aromáticos

SPK: Querosene parafínico sintetizado

SPK-ATJ: Querosene parafínico sintetizado por álcool

SPK-FT: Querosene parafínico sintetizado por Fischer-Tropsch

SPK-HEFA: Querosene parafínico sintetizado de ácidos graxos e ésteres hidroprocessados

TBP: 2,6-Di-terc-butilfenol

UV-VIS: Ultravioleta visível

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO	26
CAPÍTULO II: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
2.1. Bioquerosene de aviação	28
2.2. Antioxidantes	30
2.2.1. Determinação eletroquímica de antioxidantes	34
2.3. Eletrodos modificados com materiais nanoestruturados	37
2.3.4. Óxido de Grafeno Reduzido	38
2.3.5. Nanopartículas metálicas	41
2.4. Cromatografia líquida de alta eficiência	44
2.4.4. Detectores eletroquímicos em HPLC	48
CAPÍTULO III: OBJETIVOS	53
3.1. Objetivo geral	53
3.2. Objetivos específicos	53
CAPÍTULO IV: PARTE EXPERIMENTAL	54
4.1. Reagentes	54
4.2. Medidas eletroquímicas	54
4.3. Modificação eletroquímica do eletrodo de carbono vítreo (GCE) com óxido de grafeno reduzido (rGO) e nanopartículas metálicas (NPs)	54
4.3.1. Eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas ouro (GCE/rGO-AuNPs)	55
4.3.2. Eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas níquel (GCE/rGO-NiNPs)	55
4.3.3. Eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas prata (GCE/rGO-AgNPs)	56
4.4. Caracterização	56
4.5. Análises cromatográficas	56
4.6. Preparo de amostras	57
CAPÍTULO V: DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE ANTIOXIDANTES EM BIOQUEROSENE DE AVIAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE FASE REVERSA, UTILIZANDO ELETRODOS MODIFICADOS COM ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO E NANOPARTÍCULAS DE OURO	58
5.1. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1.1. Comportamento eletroquímico dos antioxidantes no eletrodo de carbono vítreo não modificado (GCE), e modificado com óxido de grafeno reduzido (GCE/rGO)	58

5.1.2.	Comportamento eletroquímico do eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro (GCE/rGO-AuNPs).....	61
5.1.3.	Caracterização morfológica e eletroquímica do eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro	65
5.1.4.	Comportamento eletroquímico dos antioxidantes	68
5.1.5.	Estudo da concentração dos antioxidantes	71
5.1.6.	Comportamento cromatográfico	73
5.1.7.	Curvas analíticas.....	79
5.1.8.	Determinação de antioxidantes em bioquerosene por RP-HPLC-PAD	80
5.2.	CONCLUSÕES PARCIAIS:.....	83
CAPÍTULO VI: DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE ANTIOXIDANTES EM BIOQUEROSENE DE AVIAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE FASE REVERSA, UTILIZANDO ELETRODOS MODIFICADOS COM ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO E NANOPARTÍCULAS DE NÍQUEL		84
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
6.1.1.	Estudos de otimização do eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido (GCE/rGO) e nanopartículas de níquel (GCE/rGO-NiNPs)	84
6.1.2.	Comportamento eletroquímico do eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de níquel.....	88
6.1.3.	Caracterização morfológica do eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de níquel	91
6.1.4.	Comportamento eletroquímico dos antioxidantes	93
6.1.5.	Estudos da concentração de antioxidantes	96
6.1.6.	Resposta amperométrica dos antioxidantes em GCE/rGO-NiNPs.....	98
6.1.7.	Comportamento cromatográfico	100
6.1.8.	Otimização do sistema de detecção cromatográfica.....	101
6.1.9.	Otimização da separação cromatográfica.....	102
6.1.10.	Curvas analíticas.....	110
6.1.11.	Determinação dos antioxidantes em bioquerosene de aviação	111
6.2.	CONCLUSÕES PARCIAIS	113
CAPÍTULO VII: DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE ANTIOXIDANTES EM BIOQUEROSENE DE AVIAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE FASE REVERSA, UTILIZANDO ELETRODOS MODIFICADOS COM ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO E NANOPARTÍCULAS DE PRATA.....		114
7.1.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	114
7.1.1.	Estudo eletroquímico das nanopartículas de prata sobre o eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido	114

7.1.2.	Caracterização de superfície do eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de prata (GCE/rGO-AgNPs)	121
7.1.3.	Eletro-oxidação dos antioxidantes	123
7.1.4.	Estudos da concentração dos antioxidantes	124
7.1.5.	Comportamento cromatográfico	127
7.1.6.	Otimização do sistema de detecção cromatográfica	128
7.1.7.	Otimização da separação cromatográfica	129
7.1.8.	Curvas analíticas	136
7.1.9.	Determinação dos antioxidantes em bioquerosene de aviação	137
7.2.	CONCLUSÕES PARCIAIS	139
	CAPÍTULO VII: CONCLUSÕES	140
	REFERÊNCIAS	141

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO

Segundo dados das Nações Unidas, a população mundial pode chegar a aproximadamente 8,1 bilhões de habitantes em 2025 [1]. Em razão desse aumento, a demanda energética tem crescido significativamente, principalmente por combustíveis destinados ao setor de transportes [2]. Nesse contexto, os biocombustíveis surgem como uma alternativa promissora, visando sanar problemas relacionados aos combustíveis fósseis, tais como a instabilidade dos preços, emissão de poluentes e a necessidade de diversificar as matrizes energéticas [3]. Por essas razões, recentemente muito têm se discutido a respeito do bioquerosene como combustível para a aviação, especialmente devido ao aumento expressivo no número de voos [4].

Visando diminuir a emissão de gases poluentes, e atender as metas estabelecidas pelos governos e entidades internacionais, o setor da aviação tem empregado o bioquerosene na mistura com o querosene de origem fóssil [4,5]. Todavia, para que esse biocombustível seja utilizado de forma segura e eficaz é exigido o atendimento a rigorosos padrões de qualidade. Um dos principais parâmetros que determinam a qualidade do bioquerosene é a presença de antioxidantes [6]. Esses compostos são adicionados ao biocombustível afim de impedir a formação de radicais, que levam a formação de compostos tais como, aldeídos, cetonas, ácidos, peróxidos e polímeros, que modificam as propriedades do biocombustível, comprometendo o armazenamento do produto e suas especificações [7,8].

Os principais antioxidantes sintéticos encontrados no bioquerosene são 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT), N,N'-di-sec-butil-p-fenilenodiamina (BPA), 2,6-di-terc-butilfenol (TBP) e 2-(terc-butil)-4,6-dimetilfenol (BMP) [8]. Portanto, a qualidade do bioquerosene está diretamente relacionada à presença e a concentração de desses compostos. Para este controle, são necessários métodos analíticos confiáveis, altamente sensíveis, capazes de quantificar baixíssimas concentrações. Todavia, o desenvolvimento destes métodos analíticos não é uma tarefa trivial, uma vez que os biocombustíveis são considerados matrizes relativamente complexas e, portanto, exigem métodos analíticos com elevada seletividade.

Métodos de detecção para antioxidantes em amostras de interesse alimentar, ambiental e industrial têm sido propostos, empregando principalmente

métodos cromatográficos [9], espectrométricos [10] e eletroquímicos [11]. Geralmente, mais de um antioxidante são empregados em biocombustíveis, exigindo, portanto, métodos analíticos com elevada seletividade.

As técnicas eletroquímicas constituem-se poderosa ferramenta analítica para determinação de antioxidantes, seu uso tem sido justificado por características, tais como elevada sensibilidade, custo moderado, portabilidade e versatilidade [11,26,36-38]. De outro modo, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) tem sido amplamente utilizada para a determinação de compostos fenólicos em amostras lipídicas, proporcionando estabilidade e eficiência de separação [41-43]. Nesse sentido, pesquisas empregando detectores eletroquímicos acoplados a sistemas de separação têm recebido atenção crescente, principalmente por redução da exposição do eletrodo a contaminações provenientes de amostras reais, problemas de estabilidade e diminuição dos processos de adsorção.

O desenvolvimento de métodos analíticos mais simples, precisos e exatos para a quantificação de antioxidantes em biocombustíveis é altamente desejável. A fim de cumprir todos os requisitos exigidos na detecção e quantificação dessas espécies em amostras complexas, esta tese descreve o desenvolvimento de detectores eletroquímicos para HPLC, baseados em eletrodos modificados com materiais nanoestruturados, visando detectar simultaneamente baixas concentrações de antioxidantes em amostras de bioquerosene de aviação.

CAPÍTULO II: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Bioquerosene de aviação

Devido à intensa globalização, o setor de transporte é, talvez, uma das fontes de emissões mais difíceis de lidar, isso porque o transporte de pessoas e mercadorias por longas distâncias têm aumentando bastante nos últimos anos, especialmente o transporte aéreo [12,13]. Apesar da indústria da aviação ser 70% mais eficiente do que há 40 anos, esta indústria está crescendo a uma taxa acelerada, cerca de 5% ao ano até 2030, aumentando drasticamente o consumo de combustível, o que resulta em consideráveis níveis de emissão de CO₂ [14-16].

Os biocombustíveis são considerados uma alternativa viável para superar os atuais desafios do setor energético mundial, tais como o aumento da emissão de gases de efeito estufa, e a necessidade de recursos mais sustentáveis [14,17]. Além disso, as oscilações do preço do petróleo tornam ainda mais eminente o uso de novas fontes de energia, particularmente nos setores aéreo e rodoviário [17,18]. Atualmente, muitos governos têm incentivado a produção de biocombustíveis por meio de subsídios e isenções fiscais, além de estabelecer metas e padrões para adição aos combustíveis fósseis [14,18,19].

O transporte terrestre possui várias alternativas energéticas, tais como os biocombustíveis, hidrogênio, células a combustível, eletro-mobilidade, entre outras, no entanto, o setor da aviação depende basicamente do Jet A-1 (querosene de origem fóssil) [20,21]. Pensando nisso, a Associação Internacional de Transporte Aéreo (AITA) definiu como meta a redução de 50% das emissões de gases, pela indústria aeronáutica, até 2050, tomando como referência as emissões globais de 2005 [22]. Para superar esses e outros desafios, a indústria da aviação tem buscado desenvolver aeronaves mais eficientes, e biocombustíveis com características semelhantes às do querosene mineral [14,19,21]. Nesse sentido, inúmeras opções para produzir querosene a partir de matéria orgânica, ou seja, biomassa, foram e ainda estão sendo investigadas pela comunidade científica [14,20,21].

Diferentes rotas para produção de biocombustíveis de aviação foram desenvolvidas nos últimos anos. Todas estas opções visam modificar as moléculas da matéria-prima orgânica para satisfazer as especificações do combustível para o

querosene sintético [21]. As principais rotas de conversão da biomassa em hidrocarbonetos biocombustíveis envolvem processos mecânicos, biológicos, térmicos e químicos [19,22]. As rotas bioquímicas envolvem o pré-tratamento da biomassa, seguida da hidrólise enzimática dos açúcares, celulose e hemicelulose; já as vias termoquímicas são baseadas na gaseificação da biomassa a altas temperaturas, seguida pelo processo Fischer Tropsch, processo de conversão do gás de síntese em combustíveis líquidos [19]. A maioria das rotas envolve primeiramente a conversão da matéria-prima em produtos intermediários (por exemplo, gás de síntese, álcool, óleo bruto), estes intermediários são processados por uma segunda etapa de conversão em destilados médios como combustível, bioquerosene [23].

O querosene de aviação alternativo é definido pela Resolução Nº 778, de 5 de abril de 2019 da Agência Nacional de Petróleo (ANP), como combustível derivado de fontes alternativas, como biomassa, gases residuais, resíduos sólidos, carvão e gás natural [6]. De acordo com o esquema de certificação da ASTM (ASTM D7566) os biocombustíveis de aviação podem ser classificados como: querosene parafínico sintetizado (SPK) e iso-parafinas sintetizadas (SIP), Tabela 1 [24]. Baseado nessa classificação, a ANP reconhece cinco formas de Querosene de Aviação Alternativo: (1) querosene parafínico sintetizado por Fischer-Tropsch (SPK-FT), obtido de um ou mais precursores produzidos pelo processo Fischer-Tropsch (FT), conversão catalítica do gás de síntese obtido a partir da biomassa; (2) querosene parafínico sintetizado com aromáticos (SPK/A), querosene sintetizado a partir da variação do processo Fischer-Tropsch com adição de aromáticos; (3) querosene parafínico sintetizado de ácidos graxos e ésteres hidroprocessados (SPK-HEFA), obtido pela hidrogenação de ésteres de ácidos graxos e ácidos graxos livres; (4) querosene parafínico sintetizado por álcool (SPK-ATJ), sintetizado a partir de álcool etílico ou isobutílico, processado através de desidratação, oligomerização, hidrogenação e fracionamento; e (5) Isoparafinas sintetizadas de açúcares fermentados e hidroprocessados (SIP), obtido da fermentação de açúcares [6,25].

De acordo com a norma ASTM D7566, os combustíveis alternativos só podem ser utilizados como misturas, juntamente com o combustível fóssil Jet A-1 [24]. A Resolução ANP 778/2019, prevê que o querosene de aviação alternativo pode ser adicionado ao querosene de aviação de origem fóssil até o limite máximo de 50% em volume (no caso do SPK-FT, SPK-HEFA, SPK/A e SPK-ATJ); e até o limite máximo

de 10% em volume no caso do SIP [6]. Para que esses combustíveis sejam utilizados nos aviões, devem apresentar alta densidade energética e combustão altamente eficiente, visando minimizar o volume necessário e garantir operação por longas distâncias [25]. Para isso, devem cumprir vários requisitos rigorosos de segurança, o que exige métodos de controle de qualidade altamente eficientes tanto para averiguar a eficiência do combustível, quanto para monitorar a presença de contaminantes e composição química do produto final.

Tabela 1 - Combustíveis de aviação alternativos certificados pela ASTM [24].

PROCESSO DE CONVERSÃO	POSSÍVEIS MATÉRIAS-PRIMAS	% (VOL.)*
Querosene parafínico sintetizado por fischer-tropsch (SPK-FT)	Biomassa, carvão, biogás	50%
Querosene parafínico sintetizado com aromáticos (SPK/A)	Biomassa, carvão, biogás	
Querosene parafínico sintetizado de ácidos graxos e ésteres hidroprocessados (SPK-HEFA)	Óleos e gorduras de origem animal e/ou vegetal	
Querosene parafínico sintetizado por álcool (SPK-ATJ)	Biomassa celulósica, amido, açúcares, álcoois	30%
Isoparafinas sintetizadas de açúcares fermentados e hidroprocessados (SIP-HFS)	Açúcares oriundos da biomassa	10%

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

* % de mistura ao Querosene de origem fóssil

2.2. Antioxidantes

Para que o bioquerosene possa ser certificado como combustível comercial, para fins aeronáuticos, deve possuir as mesmas especificações preconizadas nas normas padrões nacionais e internacionais do querosene mineral

[17,19,24]. Em virtude das condições extremas a que são expostos, como temperaturas muito baixas, e a gravidade das consequências no caso de falhas, os combustíveis empregados na aviação devem passar por constante e rigoroso controle de qualidade, e fiscalização [26-28]. Para isso, existem normas e especificações que regulam esse tipo de produto, registradas no Brasil pela Resolução ANP nº778/2019, que se baseia na norma americana ASTM D7566 [6,24].

Existem algumas limitações quanto ao uso de biocombustíveis em substituição aos combustíveis fósseis, sendo a principal delas sua baixa estabilidade à oxidação, decorrente da exposição ao ar, umidade, metais, luz, calor e do próprio período de armazenagem, isso reflete diretamente nas suas propriedades físico-químicas [14,18,29,30]. Em razão disso, a adição de agentes antioxidantes sintéticos é uma forma de aumentar a resistência de biocombustíveis à oxidação, permitindo assim um maior tempo de armazenamento, além de aumentar também a estabilidade térmica [29,31,32]. Dentre estes antioxidantes, destacam-se: N,N'-di-sec-butil-p-fenilenodiamina (BPA), 2,6-di-terc-butilfenol (TBP), 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT) e 2-(tert-butil)-4,6-dimetilfenol (BMP) (Figura 1) [28,32].

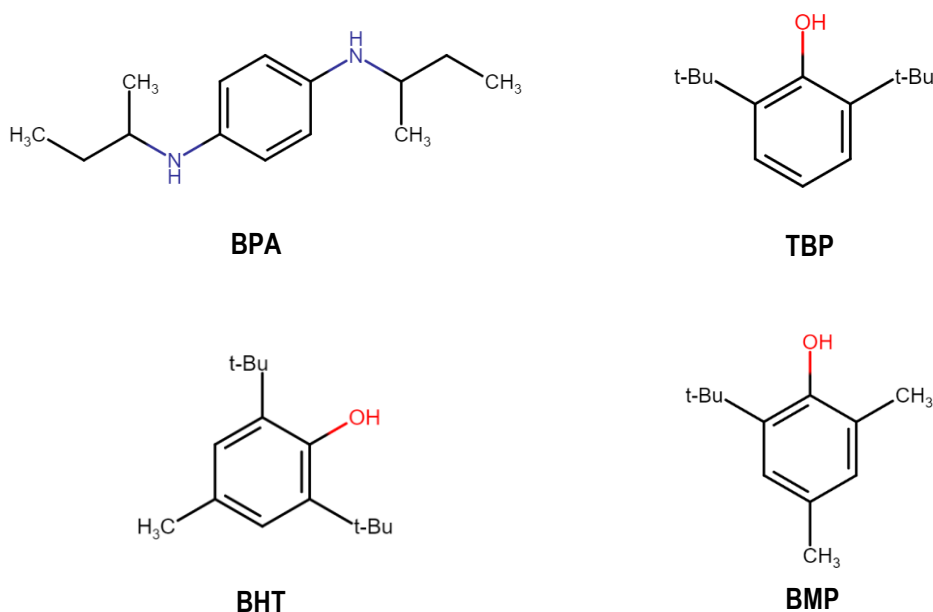


Figura 1 - Estrutura molecular dos antioxidantes. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

A qualidade do bioquerosene está diretamente associada à presença e concentração de antioxidantes que são adicionados ao bioquerosene de aviação na faixa de concentração de 17 mg L⁻¹ a 24 mg L⁻¹ após o processo de fabricação e antes

do armazenamento [6,24], Tabela 2. Para este controle, são necessários métodos analíticos confiáveis e altamente sensíveis, capazes de quantificar pequenas concentrações. Todavia, o desenvolvimento destes métodos analíticos não é uma tarefa trivial, uma vez que os biocombustíveis são considerados matriz relativamente complexa e, portanto, exigem métodos analíticos com elevada seletividade. Há uma variedade de métodos analíticos que descrevem a determinação de antioxidantes em amostras alimentícias e outras matrizes [33-35], usando cromatografia a gás (GC) [31-33]; espectrofotometria [35], técnicas eletroquímicas [11,26,36-40] e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector de UV [41-44], detector de arranjo de diodos [45,46] e detector de fluorescência [47]. A detecção eletroquímica de antioxidantes após separação cromatográfica tem sido relatada na literatura, [48,49]. No entanto, métodos aplicados à determinação de antioxidantes em bioquerosene de aviação ainda não foram explorados. Desse modo, o desenvolvimento de métodos analíticos mais simples, precisos e exatos para a quantificação de antioxidantes é altamente desejável, a fim de cumprir todos os requisitos exigidos na detecção e quantificação dessas espécies em amostras complexas, como o bioquerosene.

Tabela 2 - Especificação dos querosenes de aviação alternativos. RANP 778/2019 [6]

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE / PROCESSO			
		SPK-FT e SPK- HEFA	SIP	SPK/A	SPK- ATJ
Acidez total, máx.	mgKOH/g	0,015			
Hidrocarbonetos saturados, mín.	% (m/m)	-	98	-	-
Farnesano, mín.	% (m/m)	-	97	-	-
Hexahidroxifarnesol, máx.	% (m/m)	-	1,5	-	-
Olefinas, máx.	mgBr ₂ /100 g	-	300	-	-
Ponto de fulgor, mín.	°C	38,0	100	38	38
Massa específica a 20°C	Kg/m ³	725,9 - 766,2	761,2 - 776,3	751,1 - 796,5	725,9 - 766,2
Ponto de congelamento, máx.	°C	-40,0	-60	-40	

Estabilidade térmica 2,5h - mín.	°C	325	355	325°C	
Queda de pressão no filtro, máx.	mmHg	25,0			
Goma atual, máx.	mg/100 ml	7,0		4,0	-
Índice de separação de água, mín.	mg/100ml	-	85,0	90	-
Entalpia de combustão, mín.	MJ/kg	-	43,5	-	-
Teor de biodiesel, máx.	mg/kg	5	-	-	-
Antioxidantes	mg/l	17,0 a 24,0			
Cicloparafinas, máx.	%(m/m)	15	-	15	
Aromáticos, máx	%(m/m)	0,5		20	0,5
Teor de aromáticos, máx	% volume	-	-	20-21,5	-
Parafinas	%(m/m)	Anotar	-	Anotar	
Carbono e hidrogênio, mín.	%(m/m)	99,5			
Nitrogênio, máx.	mg/kg	2			
Água, máx.	mg/kg	75			
Enxofre, máx.	mg/kg	15	2	15	
Metais, máx.	mg/kg	0,1 por metal			
Halogênios, máx.	mg/kg	1,0 por halogênio			

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Os métodos para detecção de antioxidantes descritos na literatura, são frequentemente empregados em matrizes de alimentos, farmacêuticas, ambientais e de interesse industrial. Esses métodos empregam principalmente técnicas cromatográficas (GC e HPLC), eletroquímicas e espectroscópicas.

Um método foi desenvolvido para determinação simultânea de BHA (hidroxianisol butilado) e BHT (hidroxitolueno butilado) em óleos minerais sintéticos, empregando eletrodo de ouro e a técnica de voltametria de varredura linear, em que a resposta eletroquímica foi obtida em eletrólito de suporte baseado em uma mistura de H₂SO₄ e isopropanol [37]. O método eletroanalítico desenvolvido permitiu a determinação de BHA e BHT com resultados satisfatórios. No entanto, observou-se que a presença de BHA em concentrações comparáveis ou mais elevadas podem afetar negativamente a determinação de BHT, resultando na sobreposição dos picos.

Um método cromatográfico foi desenvolvido para a determinação dos antioxidantes fenólicos propil galato (PG), t-butil-hidroquinona (TBHQ), hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT)), utilizando HPLC com eluição gradiente, em diferentes amostras de alimentos (óleo de cozinha, margarina, manteiga e queijo) [42]. Foi utilizada uma Coluna C18 como fase estacionária; a eluição gradiente foi realizada com acetonitrila e água: ácido acético (1,0%). Um detector UV foi utilizado e ajustado a 280 nm. As condições de separação dos quatro antioxidantes foram alcançadas em menos de 8 min. Antes da separação por HPLC, os antioxidantes foram extraídos com metanol/acetonitrila (1:1, v/v) e foram submetidos a tratamento vortex / ultrassônico. Estudos de recuperação variaram entre 99,5 a 108,3% (PG); 85,3 a 108,3% (TBHQ); 97,5 a 101,2% (BHA) e 80,2 a 94,6% (BHT). O limite de detecção para PG foi de 0,3 mg L⁻¹ e de 0,5 mg L⁻¹ para TBHQ, BHA e BHT.

Um método espectrofotométrico foi desenvolvido para a determinação simultânea da concentração de hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT) em preparações farmacêuticas e gomas de mascar [50]. A concentração de um antioxidante foi calculada pela sobreposição de espectros em dois comprimentos de onda apropriadamente selecionados nos quais o interferente, outro antioxidante, deve ter o mesmo valor de absorbância. Absorbâncias em dois pares de comprimentos de onda, 265 e 288 nm (BHA como analito) ou 288 e 293 nm (BHT como analito) foram monitorados, adicionando soluções padrão de BHA ou BHT, respectivamente. As faixas lineares foram de 4 a 20 µg mL⁻¹ para o BHA e 20 a 100 µg mL⁻¹ para BHT. O limite de detecção e de quantificação foram de 0,48 e 1,51 µg mL⁻¹ para BHA e 0,72 e 2,41 µg mL⁻¹ para BHT, respectivamente. As faixas de recuperação percentual foram de 100,44 a 102,50% para o BHA e de 96,45 a 100,04% para o BHT, com desvios-padrão relativos (RSD) inferiores a 1,48%.

2.2.1. Determinação eletroquímica de antioxidantes

Os métodos eletroanalíticos baseiam-se nas propriedades elétricas mensuráveis (corrente, potencial e condutividade), que ocorrem a partir de interações física e/ou químicas entre as espécies redox e os demais componentes do meio, ou ainda, decorrentes de fenômenos interfaciais [51]. A partir desses fenômenos, é possível relacionar a concentração das espécies redox com a geração de corrente

(sensores amperométricos), diferença de potencial (sensores potenciométricos) ou alterações na condutividade de um meio (sensores condutométricos) [51,52].

As técnicas eletroquímicas têm ampla faixa de aplicação, incluindo monitoramento ambiental, controle de qualidade e análises biomédicas [52,53]. Essas técnicas fornecem muitas informações relacionadas ao sistema eletroquímico, constituindo, portanto, uma abordagem eficiente em eletroanálise devido a vantagens como: sensibilidade, seletividade, baixo custo instrumental e operacional, possibilidade de miniaturização, rapidez e versatilidade [51-53]. Diversos métodos eletroquímicos foram desenvolvidos nos últimos anos para a determinação de antioxidantes, envolvendo principalmente técnicas voltamétricas [36-40] e amperométricas [54-56].

Antioxidantes podem ser oxidados na superfície de eletrodos, tais como platina, carbono vítreo, ouro e diamante dopado com boro, entretanto, a aplicação destes sensores é limitada devido à complexidade das matrizes, e a ocorrência de processos de adsorção na superfície dos eletrodos [26,39,56]. Visando reduzir/eliminar esses problemas, a modificação da superfície de eletrodos, bem como outros tratamentos têm sido realizados, visando a determinação direta ou indireta. Essas estratégias promovem maior controle das características dos eletrodos e reatividade, uma vez que a modificação transfere as propriedades físico-químicas do modificador para a superfície do eletrodo [57,58].

O comportamento voltamétrico de antioxidantes sintéticos, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), propil galato (PG) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ), em um eletrodo de carbono vítreo e solução de 0,1 mol L⁻¹ de ácido perclórico contendo 1,0% de metanol foi investigado [59]. Os voltamogramas de varredura linear demonstraram picos de oxidação bem definidas em potenciais de 0,629; 0,818; 0,599 e 0,501 V para BHA, BHT, PG e TBHQ, respectivamente. Gráficos de calibração linear foram obtidos nas faixas de concentração de 0,5 a 15,0 mg L⁻¹; 0,5 a 8,0 mg L⁻¹; 1,0 a 15,0 mg L⁻¹ e 1,0 a 15,0 mg L⁻¹ para BHA, BHT, PG e TBHQ, respectivamente. Os autores concluíram ainda que os picos voltamétricos desses antioxidantes se sobrepõem seriamente tornando difícil a determinação individualmente. Os autores desenvolveram um método de determinação simultânea destes antioxidantes, baseado na sua oxidação no eletrodo de carbono vítreo, com o auxílio de abordagens quimiométricas. Os limites de detecção do método foram de 0,19 mg L⁻¹ (BHA); 0,15 mg L⁻¹ (BHT); 0,54 mg L⁻¹ (PG) e 0,073 mg L⁻¹ (TBHQ). Os

resultados mostraram que os métodos quimiométricos propostos são capazes de resolver os voltamogramas de misturas contendo os quatro antioxidantes, e o método foi aplicado para determinar os quatro antioxidantes em um conjunto de misturas sintéticas e várias amostras de alimentos.

Um método foi desenvolvido para a determinação indireta do antioxidante sintético 2,6-di-*tert*-butil-4-metil-fenol (BHT) por voltametria de pulso diferencial com eletrodo de mercúrio [60]. 2,6-di-*tert*-butil-4-metil-4-nitro-2,5-ciclo-hexadieno-1-ona foi sintetizado para determinação voltamétrica após nitração. O analito forneceu um sinal voltamétrico em uma mistura de 0,014 mol L⁻¹ de cloreto de potássio e 94% de etanol, os limites de quantificação e detecção foram 2,58x10⁻² e 2,19x10⁻³ µg mL⁻¹, respectivamente. O método desenvolvido foi empregado para a determinação de 2,6-di-*tert*-butil-4-metil-fenol em óleo com resultados satisfatórios, sugerindo futuras aplicações em análises.

Um método eletroanalítico para determinação de *tert*-butilhidroquinona (TBHQ) em biodiesel foi desenvolvido [61]. O surfactante Triton X-100 (T-100) foi utilizado para melhorar o sinal eletroanalítico do antioxidante, sendo este foi considerado decisivo para a análise direta em biodiesel, exigindo apenas uma diluição prévia da amostra de biodiesel em metanol. A corrente de pico da oxidação foi proporcional a concentração de TBHQ na faixa de 1,05 a 10,1x10⁻⁶ mol L⁻¹, com limites de detecção e quantificação de 3,43x10⁻⁸ mol L⁻¹ e 1,14x10⁻⁷ mol L⁻¹, respectivamente, por voltametria de onda quadrada. Os resultados obtidos com o método proposto foram satisfatórios, em relação aos obtidos utilizando cromatografia líquida de alta eficiência.

Um método foi desenvolvido para a análise do antioxidante *tert*-butilhidroquinona (TBHQ) em biodiesel de soja por voltametria de pulso diferencial (DPV), utilizando um eletrodo de carbono vítreo [62]. Este método foi desenvolvido submetendo amostras do biodiesel à extração líquido-líquido usando dois solventes: acetonitrila (ACN) e etanol (EtOH). Os limites de detecção e quantificação foram inferiores a 2,00 mg L⁻¹. Os percentuais de recuperação de TBHQ variaram de 96,7 a 100,8% para ambos os solventes, com desvio padrão relativo inferior a 3,0%. O método foi aplicado em amostras comerciais de biodiesel de soja contendo 877,00 ppm de TBHQ, com recuperação de 110,1% e 99,4% alcançada quando ACN e EtOH foram utilizados como solventes de extração, respectivamente. Os resultados foram

semelhantes aos obtidos usando cromatografia líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta (HPLC-UV).

2.3. Eletrodos modificados com materiais nanoestruturados

Uma limitação clássica da determinação eletroquímica direta de muitos analitos decorre da polimerização de produtos de oxidação, resultando em um isolamento na superfície do eletrodo [63,64]. A modificação de vários substratos de eletrodos com diferentes materiais tem sido realizada com o objetivo de melhorar as características eletroquímicas e o desempenho do eletrodo preparado [57,58,64]. Nos últimos anos, os avanços em nanotecnologia tiveram um impacto substancial no desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos [65,66]. De fato, os nanomateriais abriram a possibilidade de aproveitar as propriedades peculiares da formação de superfícies sensoras nanoestruturadas, visando alcançar sensibilidade e seletividade desejadas [63,67]. A oxidação de antioxidantes, empregando diversas estratégias de modificação, tem sido bastante descrita na literatura nos últimos anos [36,39,40,49,64].

Um grande desafio da nanotecnologia é o desenvolvimento de materiais nanoestruturados para diversas aplicações. O interesse nesse ramo da ciência decorre das intrigantes mudanças nas propriedades físicas de determinados materiais, quando em dimensões nanométricas, muitas vezes inferior a 100 nm [68,69]. Esses materiais chamam atenção por suas características físico-químicas, propriedades morfológicas e estruturais únicas, possuindo aplicações nas mais diversas áreas do conhecimento [65,66,68]. Entre os materiais nanoestruturados mais estudados na literatura estão os nanomateriais a base de carbono, com diferentes arquiteturas e uma variedade de estruturas estáveis, tais como os fulerenos, nanotubos, grafeno, e as nanopartículas metálicas [66,69].

Apesar da disponibilidade de uma ampla gama de materiais, a escolha do material apropriado do eletrodo para detecção eletroquímica é uma etapa importante no desenvolvimento de sensores de alto desempenho [65]. A importância da escolha do material consiste no fato de que, o desempenho e as propriedades dos materiais dependem de diversos fatores como: estrutura atômica, composição, microestrutura, defeitos e interfaces [68,69].

2.3.4. Óxido de Grafeno Reduzido

O grafeno compreende uma estrutura bidimensional (2D) de átomos de carbono com hibridização sp^2 , ligados covalentemente para formar uma estrutura plana hexagonal [70,71,72]. Esse material tem sido bastante estudado nos últimos anos e possui ampla gama de aplicações potenciais em diversos campos da ciência, em razão de suas propriedades eletrônicas, ópticas, mecânicas, térmicas e eletroquímicas [73]. Algumas propriedades excepcionais do grafeno, tais como grande área superficial, excelente mobilidade de elétrons e condutividade, têm propiciado muitas aplicações, entre estas, as principais aplicações envolvem uso como supercapacitores [74], célula a combustível [75], baterias [76], catálise e fotocatálise [77,78], sensores e biossensores [79].

No entanto, o uso do grafeno puro representa um desafio devido a difícil síntese, fraca solubilidade e aglomeração em solução devido às interações de van der Waals [70-72]. Como alternativa, compostos similares em estrutura ao grafeno podem ser sintetizados a partir do grafite ou outras fontes de carbono, visando alcançar muitas das vantagens do grafeno, funcionalizando a superfície com grupos oxigenados, Figura 2 [72].

Óxido de grafeno tem uma estrutura de carbono hexagonal similar a do grafeno, mas contém grupos oxigenados, como carboxila, hidroxila e epóxi, que são inseridos às folhas de carbono, melhorando suas propriedades físico-químicas [79,80]. Além da facilidade de síntese, esses grupos oxigenados são responsáveis por muitas vantagens, tais como maior solubilidade e possibilidade de funcionalização da superfície [81]. O GO é um material eletricamente isolante, devido à mudança de hibridização dos átomos de carbono sp^2 conjugados para sp^3 que interrompem a passagem de elétrons [79-80]. Todavia, um processo de redução, pode ser realizado visando restaurar as ligações π e restabelecer a condutividade elétrica do material, alcançando propriedades mais próximas a do grafeno puro [72,73,76-81].

Diversos métodos podem ser utilizados para tratar o GO e sintetizar o óxido de grafeno reduzido (rGO), tais como a redução química, térmica, e eletroquímica [81]. O rGO reduzido quimicamente é obtido com uso de agentes redutores, como a hidrazina (N_2H_4), borohidreto de sódio ($NaBH_4$), hidreto de alumínio e lítio ($LiAlH_4$), entre outros [82]. A obtenção do rGO por via térmica envolve temperaturas bastante elevadas ($>500^\circ C$), que eliminam alguns grupos funcionais oxigenados, restaurando

alguns domínios sp^2 [82,83]. Já a redução eletroquímica do óxido de grafeno, pode ser realizada pela aplicação de um potencial após a modificação da superfície de um eletrodo com GO, ou em uma solução do material no eletrólito, por meio de técnicas como voltametria cíclica e cronoamperometria [84].

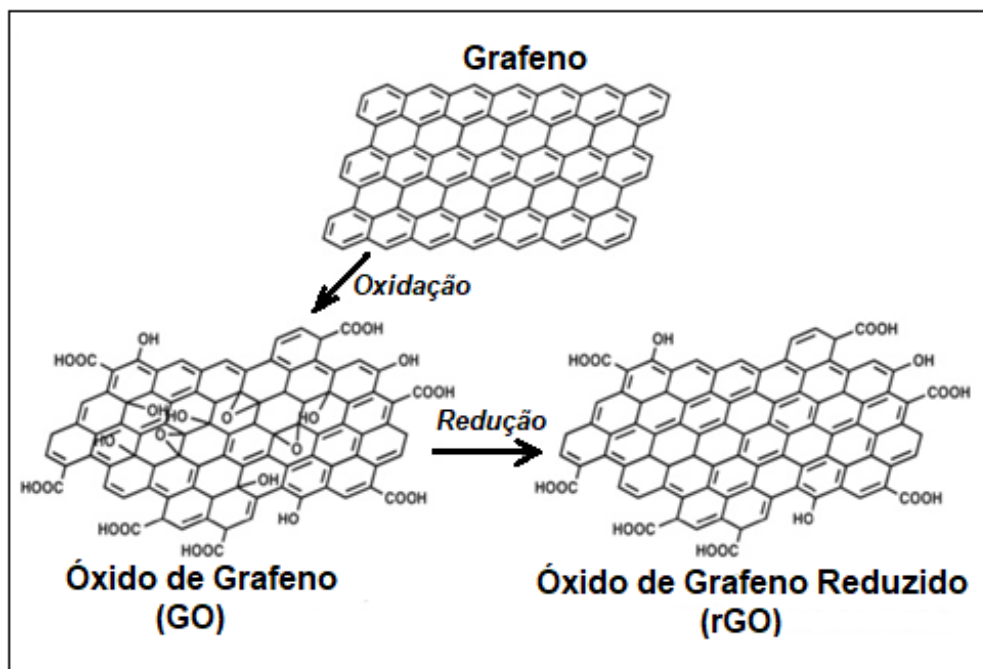


Figura 2 - Representação esquemática do processo de obtenção do óxido de grafeno reduzido (rGO). Fonte: adaptado de McCoy, et. al [85].

Eletrodos baseados em filmes de óxido de grafeno reduzido têm maior sensibilidade, menores limites de detecção e cinética de transferência de carga mais rápida que os eletrodos de carbono tradicionais [70,81,86], razões pelas quais esses materiais têm sido bastante explorados nos últimos anos para fins eletroanalíticos:

Um método de eletrodeposição do óxido de grafeno, diretamente na superfície do eletrodo de carbono vítreo foi realizada por meio de voltametria cíclica, permitindo obter óxido de grafeno reduzido (rGO/GCE) [87]. Neste estudo, as técnicas de voltametria cíclica e voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial foram utilizadas para estudar o comportamento eletroquímico do rGO/GCE em relação a ácido ascórbico (AA), paracetamol (PA) e cafeína (CA). Os resultados de voltametria de pulso diferencial mostraram que AA, PA e CA podem ser detectados seletivamente, com separação entre os picos de 312 mV e 756 mV para AA-PA e PA-CA, respectivamente. Os resultados mostraram que o eletrodo modificado com rGO exibe

excelente atividade eletroquímica na oxidação de PA, CA e AA. Os limites de detecção foram de $3,6 \times 10^{-7}$, $2,5 \times 10^{-7}$ e $2,3 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para AA, PA e CA, respectivamente, sugerindo que o rGO/GCE pode ser utilizado com alta sensibilidade e seletividade para a determinação simultânea dos compostos estudados. O método proposto foi usado com sucesso para determinação dos três compostos em formulações farmacêuticas.

Um método para determinação eletroquímica de antioxidantes foi desenvolvido por Wang e colaboradores [88], empregando grafeno funcionalizado por uma monocamada de colina (Ch). A monocamada de Ch proporcionou uma superfície positivamente carregada com grupos polares -N⁺(CH₃)₃, que aumentaram a transferência de carga e favoreceu a construção de grafeno carregado negativamente. Como consequência, foi possível montar o grafeno de forma uniforme e compacta em monocamadas, obtendo um adequado estado de distribuição. O eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de GO/Ch exibiu atividade eletrocatalítica para a oxidação de terc-butilhidroquinona (TBHQ) e hidroxianisol butilado (BHA). A separação de picos entre TBHQ e BHA foi de 0,238 V, suficiente para o reconhecimento do potencial. Sob as condições ótimas, o método proposto exibiu ampla faixa linear de $4,0 \times 10^{-7}$ a $1,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e $6,0 \times 10^{-7}$ a $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, limites de detecção de $1,4 \times 10^{-7}$ e $1,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para detecção simultânea de TBHQ e BHA, respectivamente. A aplicabilidade do sistema proposto foi confirmada em amostras de óleos comerciais.

Um método para determinação de ácido cafeico foi desenvolvido, empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno eletroquimicamente reduzido [89]. O método eletroquímico foi baseado na adsorção do ácido cafeico em Nafion/rGO/GCE e depois na oxidação do analito durante a etapa de stripping. O comportamento eletroquímico do ácido cafeico em eletrodos de carbono vítreo modificados Nafion/rGO(GCEs) foi estudado por voltametria cíclica e voltametria de redissolução por adsorção de onda quadrada (SW-AdSV), e mostrou resposta eletrocatalítica para oxidação do ácido cafeico. O limite de detecção foi de $9,1 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ usando SW-AdSV. O método proposto foi utilizado para determinar CA em amostras de vinho branco.

Materiais híbridos de nanotubos de carbono e óxido de grafeno reduzido foram utilizados em multicamadas (rGO-MWNTs) para detectar contaminações ambientais [90]. Estudos de voltametria cíclica possibilitaram a medição simultânea de hidroquinona (HQ), catecol (CC), p-cresol (PC) e nitrito (NO₂⁻) com quatro picos

bem separados. Os intervalos de resposta linear foram $8,0 \times 10^{-6}$ a $3,91 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; $5,5 \times 10^{-6}$ a $5,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; $5,0 \times 10^{-6}$ a $4,3 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e $7,5 \times 10^{-5}$ a $6,06 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, para HQ, CC, PC e NO₂⁻, respectivamente. Estudos realizados por voltametria de pulso diferencial demonstraram limites de detecção de $2,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹; $1,8 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹; $1,6 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, respectivamente. A capacidade de formação do filme rGO-MWNTs conferiu estabilidade ao eletrodo modificado. Além disso, o sensor fabricado foi aplicado para a determinação simultânea de HQ, CC, PC e NO₂⁻ em amostras de água de rio.

2.3.5. Nanopartículas metálicas

A importância da nanotecnologia nos campos da ciência conta com a síntese, modulação, identificação e aplicação de nanopartículas (NPs), especificamente nanopartículas metálicas [69,91]. As NPs têm um grande papel em muitas áreas científicas, como química, física, mecânica, farmacêuticas e outras [92]. Nos últimos anos, esses materiais têm sido tema de diversos estudos devido as suas propriedades eletrônicas, ópticas, mecânicas, magnéticas e químicas que podem ser significativamente diferentes das propriedades de materiais macroscópicos [91,92]. Durante o último século, um desenvolvimento substancial neste campo da ciência aconteceu, incluindo a introdução de metodologias inovadoras para sintetizar NPs usando diferentes métodos baseados em abordagens “top-down”, que inclui abordagem física e química, e métodos “bottom-up”, que incluem métodos biológicos e químicos, possibilitando a obtenção de várias formas de NPs, Figura 3 [93].

Esses nanomateriais são caracterizadas pelo tamanho reduzido e desempenho catalítico significativamente melhorado, apresentam elevada área superficial, maior número de átomos na superfície, além de apresentarem variações nas propriedades ópticas e eletrônicas [69,91-93]. Essas propriedades dependem fortemente da forma e tamanho da partícula, bem como surgem em função de fatores como alta relação superfície/volume, alta energia de superfície, confinamento espacial e efeitos quânticos [91-94].

Nanopartículas de metais nobres como Pt, Au e Ag receberam muita atenção em catálise devido às suas propriedades físicas e químicas únicas [95, 96]. As nanopartículas de ouro (AuNPs) têm sido amplamente utilizadas em várias aplicações devido à excelente condutividade e grande área superficial [97-99]. Os

nanomateriais a base de grafeno (tais como GO e rGO) são candidatos atrativos para detecção eletroquímica, em razão de vantagens como: poder ser quimicamente funcionalizado com facilidade; e elevada área superficial que possibilita sua funcionalização com nanopartículas metálicas, óxidos metálicos e quantum dots [94]. Com base nessas propriedades, a determinação eletroquímica de antioxidantes utilizando eletrodos modificados com nanopartículas oferece grande potencial de interesse e tem sido descrita para diferentes matrizes.

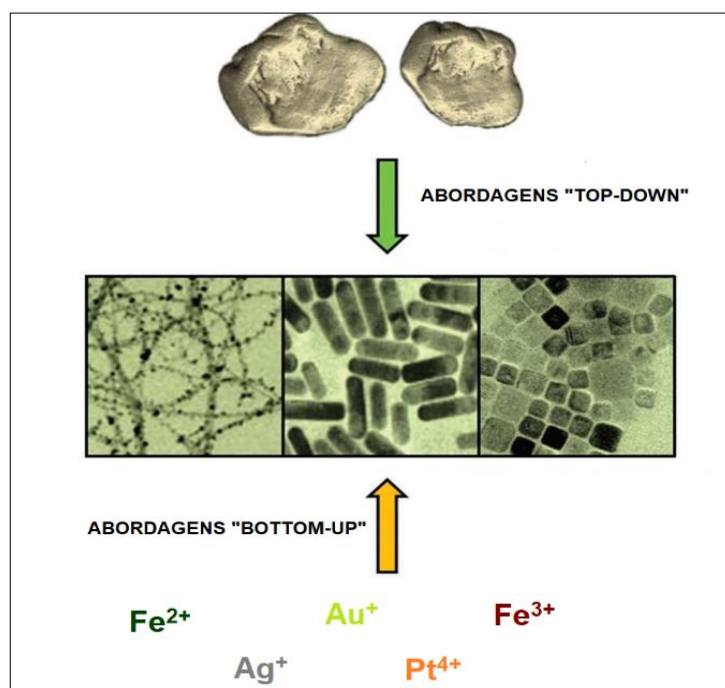


Figura 3 - Síntese de nanopartículas de diferentes tamanhos e morfologias, via métodos mecânicos, “top-down”, ou usando sais de metal, “bottom-up”. Fonte: adaptado de Teow et. al. [93].

Um método para detecção seletiva de cloranfenicol (CAP) foi desenvolvido, eletrodos modificados com óxido de grafeno reduzido decorados com nanopartículas de paládio (rGO/PdNPs) [100]. As características eletroquímicas do sensor foram avaliadas por voltametria de pulso diferencial e voltametria cíclica, nesses estudos o GCE modificado por rGO/PdNPs apresentou eletroatividade na presença de cloranfenicol em comparação com o carbono vítreo modificado e não modificado. O eletrodo apresentou intervalo linear de resposta de $5,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $5,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. A sensibilidade e estabilidade do método foram estudadas, obtendo-se excelentes resultados, bem como uma reprodutibilidade e recuperação satisfatória para detecção eletroquímica de CAP em amostras reais.

Nanopartículas de ouro (AuNPs) e óxido de grafeno reduzido (rGO) foram sintetizados na presença de polivinilpirrolidona (PVP) para detecção do antioxidante hidroxianisol butilado (BHA) [39]. Devido à grande área superficial, e taxa de transferência de elétrons elevada, o sensor baseado no eletrodo de carbono vítreo modificado Au-PVP-graphene apresentou respostas eletroquímicas altamente sensíveis ao BHA. A técnica utilizada foi voltametria de varredura linear, apresentou faixa linear de $2,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, e limite de detecção $4,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. O desempenho analítico do Au-PVP-grafeno/GCE foi examinado através da avaliação de BHA em óleo de soja e amostras de farinha.

O comportamento eletroquímico de três antioxidantes: hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroquinona butilada (TBHQ), foi investigado em um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro (AuNPs/GCE) [40]. Os resultados experimentais indicaram que o eletrodo modificado era fortemente eletroativo para reações redox de BHA, BHT e TBHQ. Com base nisso, um método eletroquímico foi desenvolvido para a determinação simultânea de BHA, BHT e TBHQ com o uso de voltametria; os intervalos de concentração lineares foram 0,10 a 1,50 µg mL⁻¹; 0,20 a 2,20 µg mL⁻¹ e 0,20 a 2,80 µg mL⁻¹ e os limites de detecção foram 0,039, 0,080 e 0,079 µg mL⁻¹ para BHA, BHT e TBHQ, respectivamente. O método proposto foi aplicado com sucesso para a análise dos três analitos em amostras de óleo comestível.

Um filme composto de óxido de grafeno reduzido (rGO) e nanopartículas de ouro (AuNPs) foi eletrododepositado em um eletrodo de carbono vítreo (GCE) por voltametria cíclica [101]. O rGO-AuNPs/GCE foi fabricado para determinar traços de As(III) por voltametria de redissolução anódica (ASV). Nesse método, uma microbalança eletroquímica de cristal de quartzo (EQCM) foi usada para monitorar os processos de formação de filmes e detectar as interações de espécies de arsênio com o filme rGO-AuNPs. Sob condições ótimas (pré-concentração a -0,35 V durante 400 s em 0,8 M de HCl), o pico de corrente ASV por voltametria de varredura linear, foi linear com As(III) de $1,0 \times 10^{-8}$ a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com uma sensibilidade de 12,2 µA µM⁻¹ e um limite de detecção de $2,7 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. Este método foi aplicado com sucesso para análises de As(III) em amostras reais de água.

Um sensor baseado em óxido de grafeno reduzido (rGO) modificado com nanopartículas de prata (AgNPs) foi desenvolvido para a oxidação do hormônio estriol [102]. A morfologia e o comportamento eletroquímico do compósito rGO-AgNPs foram

caracterizados por microscopia eletrônica de varredura e voltametria cíclica, demonstrando que as AgNPs foram incorporadas em rGO. A transferência de um elétron da molécula de estriol para o eletrodo de trabalho a + 0,45 V, e a consequente perda de íon H^+ para a solução tampão foram confirmadas combinando experimentos eletroquímicos e técnicas de modelagem molecular. O eletrodo de carbono vítreo modificado com o compósito rGO/AgNPs foi otimizado para a determinação de estriol utilizando voltametria de pulso diferencial, atingindo limite de detecção de $2,1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para o hormônio estriol. Os valores de reprodutibilidade e repetibilidade obtidos foram 1,5 e 1,3%, respectivamente. O GC/rGO-AgNPs foi aplicado com sucesso na determinação de estriol em amostras de água de torneira e urina sintética.

Não há dúvida de que as nanopartículas metálicas e os nanocompósitos de grafeno têm grande potencial em aplicações eletroanalíticas, dessa forma, o horizonte para sistemas baseados em nanomateriais de carbono decorados com nanopartículas de metal, podem fornecer sensores eletroquímicos de alto desempenho, em razão disso a busca por sistemas mais eficientes e ambientalmente benéficos é indispensável.

2.4. Cromatografia líquida de alta eficiência

Segundo a IUPAC cromatografia é um método físico de separação no qual os componentes a serem separados se distribuem entre duas fases, uma estacionária e outra que se movimenta numa direção definida, fase móvel [103]. Os fatores envolvidos nesse processo de separação incluem características moleculares relacionadas à adsorção (líquido-sólido), partição (líquido-sólido) e afinidade ou diferenças entre seus pesos moleculares [104,105]. Existem vários critérios usados para classificar a cromatografia, sendo os mais comuns relacionados à técnica empregada, ao mecanismo de separação e as características fases utilizadas [105].

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência é uma das técnicas analíticas de separação mais utilizadas para fins qualitativos e quantitativos, esta técnica possui diversas aplicações práticas, tais como na indústria farmacêutica [106], ambiental [107], alimentos [108] e forense [109]. As razões são características como confiabilidade, possibilidade de ajuste da técnica, versatilidade de aplicação e automação.

Entre as técnicas analíticas, HPLC têm sido uma das mais utilizadas para a determinação de compostos fenólicos, devido ao seu elevado poder de separação e possibilidade de acoplamento de diferentes sistemas de detecção [110,111]. A análise de antioxidantes por HPLC é normalmente realizada no modo de fase reversa, empregando principalmente colunas C8 e C18 [112,113], tendo como vantagens as interações fracas entre os antioxidantes e a fase estacionária, a compatibilidade desta fase com a maioria dos solventes usados e a excelente seletividade para separação destes compostos fenólicos [112-115]. A eluição em gradiente frequentemente tem sido descrita, empregando solventes orgânicos como metanol, acetonitrila (amplamente utilizados por sua seletividade e baixa viscosidade) e soluções aquosas de tampão [112,114].

Quanto aos sistemas de detecção, são frequentemente empregados detectores UV, de arranjo de diodos, e espectrometria de massas. Como a maioria dos antioxidantes são eletroativos, a detecção eletroquímica é passível de ser empregada em HPLC, a conjugação da eficiência de separação da técnica cromatográfica com a seletividade e sensibilidade das técnicas eletroquímicas constitui um método promissor para determinações rotineiras. Em termos de características desejáveis, sempre que possível, é desejável a utilização de eluição isocrática, visto que a eluição por gradiente pode levar a problemas como maior complexidade de análise, baixa reprodutibilidade, aumento do diferencial do detector e necessidade de tempo de reequilíbrio [116,117].

Um método usando cromatografia de fase reversa foi desenvolvido para determinação de 2,6-di-terc-butilfenol em Irganox 1425 [118]. A separação foi realizada em uma coluna Welch Material Ultimate XB-C18 (5 μm , 150 mm 9,6 mm), utilizando a mistura metanol-água (0,1% HClO_4) (75/25, v/v) como fase móvel, e eluição isocrática. A detecção foi realizada por absorção de UV a um comprimento de onda de 275 nm e o limite de detecção foi 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O método apresentou excelente repetibilidade e precisão com desvios-padrão relativos (RSDs) inferiores a 2,0%, e valores de recuperação entre 98,7 e 102,3%. O método foi aplicado com sucesso para análise do produto industrial Irganox 1425.

Um método analítico foi desenvolvido para a determinação de antioxidantes fenólicos sintéticos (SPAs) e três metabólitos em lodo de esgoto, efluentes e água de rio [119]. A extração dos analitos foi realizada por solventes, diclorometano/hexano 3:1 a 90 °C. A coluna de sílica gel foi utilizada para o procedimento de limpeza do

extrato de lodo. Para a análise da amostra de água, foi utilizada a extração líquido-líquido combinada com a limpeza com sílica gel. Os analitos foram determinados pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção espectrométrica de massas em modo negativo de ionização por eletropulverização. Os limites de quantificação variaram de 0,1 a 23 ng L⁻¹; 0,1 a 20 ng L⁻¹ e 0,1 a 15 ng g⁻¹ para efluentes de esgoto, água do rio e matrizes de lodo, respectivamente. Nove analitos, incluindo 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT), 3,5-di-terc-butil-4-hidroxibenzaldeído (BHT-CHO), 2,6-di-terc-butil-1,4-benzoquinona (BHT-Q), 2,6-di-terc-butil-4-hidroxi-4-metil-2,5-ciclo-hexadienona (BHT-quinol), 3-terc-butil-4-hidroxianisole (BHA), 4-terc-octilfenol (4-tOP), 2,2-Metilenobis (6-terc-butil-4-metilfenol) (AO 2246), 4,4-Butilidenebis (2-(1,1-dimetiletil)-5-metil-fenol) (AO44B25) e 1,3,5-trimetil-2,4,6-tris (3,5-di-terc-butil-4-hidroxibenzil) benzeno (AO 330) foram identificados nas amostras, com concentrações variando de 1,1 a 2325 ng g⁻¹ e 0 a 2510 ng L⁻¹ para matrizes de lodo e água, respectivamente.

Um método analítico foi desenvolvido para seis antioxidantes fenólicos oriundos de emissões de veículos leves a diesel e gasolina [120]. Os veículos foram testados em um roteiro típico da cidade e, com um dinamômetro suas amostras de exaustão foram coletadas nos filtros. Cromatografia líquida de alta performance acoplada a espectrometria de massa (HPLC-MS/MS) foi utilizada para a determinação de antioxidantes nas amostras de exaustão. Os limites de detecção do método atingiram ng/m³ no escape após a otimização das condições. A identificação e quantificação mostraram que o método é confiável para estes fenóis em amostras de filtro de carga. Em amostras pesadamente carregadas, existiam interferências de matriz, que diminuíam as recuperações do substituto no filtro e no disco. No entanto, amostras de matriz mostraram boas recuperações dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) alvo. Nas amostras de emissão de veículos, o nível mais alto de HPAs foi 2,6-di-terc-butilfenol em 52,7 ng/m³ (28.9 pg/mm² em filtro). A maioria dos HPAs não foi detectada ou esteve próximo dos limites de detecção.

Um método de HPLC com detecção espectrofotometria no ultravioleta-visível para determinação simultânea de compostos fenólicos, antioxidantes hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT), e octil metil cinamato (OMC) em produtos para cuidados pessoais foi desenvolvido [121]. A faixa linear estava entre 1 e 250 mg L⁻¹ com desvio padrão relativo inferior a 0,25% (n = 4). Os limites de detecção para BHA, BHT e OMC foram de 0,196, 0,170 e 0,478 mg L⁻¹,

respectivamente. Enquanto os limites de quantificação para BHA, BHT e OMC foram 0,593, 0,515 e 1,448 mg L⁻¹, respectivamente. A recuperação para BHA, BHT e OMC variou de 92,1 a 105,9%, 83,2 a 108,9% e 87,3 a 103,7%, respectivamente. As faixas de concentração de BHA, BHT e OMC em 12 amostras de cuidados pessoais comerciais foram de 0,13 a 4,85, 0,16 a 2,30 e 0,12 a 65,5 mg g⁻¹, respectivamente. As concentrações de compostos fenólicos nestas amostras estavam abaixo da concentração permitida na formulação de cuidados pessoais, isto é, 0,0004-10 mg g⁻¹, 0,002-5mg g⁻¹, e até 100 mg g⁻¹ para BHA, BHT, e OMC, respectivamente.

Uma abordagem analítica utilizando cromatografia líquida de fase reversa isocrática (RP-LC) foi desenvolvida para a determinação quantitativa de hidroxitolueno butilado (BHT) em cápsula de gelatina de paricalcitol [122]. O método foi capaz de estimar BHT em concentração de 0,0039 µg L⁻¹, e separar o BHT do composto principal do paricalcitol e outros excipientes à base de óleo. O método foi desenvolvido utilizando coluna de 5 mm ACE-C18 (250 x 4,6 mm) com fase móvel contendo uma mistura de solvente A (água) e solvente B (metanol) na proporção de 5:95 v/v, respectivamente. O fluxo foi de 0,8 mL min⁻¹ com temperatura da coluna de 45 ° C e comprimento de onda de detecção a 277 nm. No estudo de precisão, o resultado de BHT foi inferior a 1,5%, os limites de detecção, limite de quantificação foram 0,0013 µg mL⁻¹ e 0,0039 µg mL⁻¹, respectivamente, a precisão ao nível do LQ (0,0039 µg mL⁻¹) foi de 6,2%. O método apresentou linearidade na faixa de concentração de 0,0039-0,64 µg mL⁻¹. Os valores de recuperação para o BHT variaram entre 98,8 a 104,8%.

Uma estratégia analítica combinou o método quimiométrico e cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência (HPLC-FLD), para a determinação simultânea de sete antioxidantes fenólicos em seis tipos de amostras de óleo [123]. Após uma simples etapa de diluição, as amostras de óleo puderam ser diretamente injetadas na coluna, os dados foram medidos em um curto espaço de tempo com sistema de eluição gradiente. Uma vez que os picos cromatográficos e espectrais dos analitos e interferentes estavam fortemente sobrepostos, foi necessário adotar o método de calibração de segunda ordem, baseado no algoritmo alternativo de decomposição trilinear (ATLD) que explorou totalmente a vantagem de segunda ordem. A resolução bem-sucedida foi obtida na presença de diferentes interferências de matriz em amostras de óleo, e a abordagem desenvolvida permitiu a quantificação dos antioxidantes em óleos vegetais comestíveis, sem a necessidade de aplicar etapas de pré-concentração ou extração. A faixa linear para os antioxidantes sintéticos

foram: 3,14-31,36; 0,40-12,80; 0,42-3,78; 0,28-2,84; 4,61-41,51; 2,02-18,18 e 4,11-18,50 $\mu\text{g ml}^{-1}$ para PG, TBHQ, NDGA, BHA, OG, DG e BHT, respectivamente. Os limites de detecção foram: 19,330; 20,70; 12,90; 9,70; 574,50; 176,80 e 41,20 ng ml^{-1} para PG, TBHQ, NDGA, BHA, OG, DG e BHT, respectivamente.

Uma metodologia cromatográfica foi desenvolvida para análise quantitativa de antioxidantes fenólicos sintéticos: propil galato (PG), 2,4,5-tri-hidroxibutirofenona (THBP), terc-butilhidroquinona (TBHQ), ácido nordihydroguaiaretic (NDGA), etoxiquina (EQ), 3-terc-butil-4- hidroxianisol (BHA), galato de octilo (OG), 2,6-di-terc-butil-4-hidroximetilfenol (Ionox-100), dodecil galato (DG), 3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno (BHT), em cinco tipos de amostras de óleo [114]. A calibração de segunda ordem, com base em um algoritmo de decomposição trilinear foi utilizado para modelar os dados tridirecionais, de picos sobrepostos, fazendo a determinação e resolução dos antioxidantes fenólicos em óleos. A recuperação média do método para os antioxidantes variou entre 94,9 e 106,1%, os dez analitos foram determinados com limites de detecção de 0,18 - 5,72 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Os limites de detecção foram: 0,85; 0,38; 0,18; 1,61; 1,01; 0,55; 0,95; 4,73; 5,72; 1,62 $\mu\text{g ml}^{-1}$ para PG, THBP, TBHQ, NDGA, EQ, BHA, OG, Ionox-100, DG e BHT, respectivamente.

2.4.4. Detectores eletroquímicos em HPLC

Entre os detectores acoplados a cromatografia líquida de alta eficiência, os mais populares são os de ultravioleta-visível (UV-VIS), fluorescência, espectrometria de massas e eletroquímico [106,110,117]. Devido as características dos antioxidantes, tais como polaridade, caráter iônico e basicidade, estes compostos são tipicamente determinados por cromatografia líquida de alta eficiência [42-48]. Assim sendo, métodos empregando diferentes detectores têm sido frequentemente propostos [124-128].

Métodos com detector de índice de refração foram empregados, no entanto, devido a elevada sensibilidade do detector a mudança na composição da fase móvel e temperatura, este método não têm sido muito adequados para quantificação [128]. Detectores de dispersão de luz evaporativo (ELSD) e de aerossol carregado (CAD) baseados no princípio de nebulizar o eluente em um aerossol de gotículas finas, permitem a quantificação sem derivatização, todavia os maiores problemas dizem respeito ao emprego de uma fase móvel volátil, além disso, não

apresenta um comportamento linear numa ampla faixa de trabalho [113,116,128]. A detecção direta usando detector UV e fluorescência é possível para alguns antioxidantes, quando possuem grupos cromóforos, porém a seletividade destes métodos nem sempre é adequada. Procedimentos de derivatização pós-coluna têm sido descritos a fim de melhorar a detectabilidade e seletividade nesses sistemas [104,117,129]. Outros inconvenientes são a necessidade de controle rigoroso da temperatura da reação de derivatização, considerável tempo de análise, e ocorrência de subprodutos da reação, e reações incompletas que podem levar a erros na quantificação [110,128]. Vários métodos de HPLC combinados com espectrometria de massas também têm sido reportados, contudo, apesar do detector ser altamente seletivo e permitir a confirmação de identidade, é uma técnica que requer um investimento relativamente alto, o qual não é possível para muitos laboratórios que realizam análises de rotina [111,128].

Os detectores eletroquímicos podem ser usados para compostos que, ao serem oxidados ou reduzidos nos eletrodos de trabalho, produzem corrente a partir das reações eletroquímicas [128]. Esse tipo de detecção oferece vantagens sobre a detecção espectrofotométrica, especialmente em espécies que não possuem grupos cromóforos ou quando apresentam baixo coeficiente de absorbância molar [130-132]. Apresenta também vantagens sobre a detecção fluorimétrica de analitos eletroativos que não têm propriedades fluorescentes, porque não necessita da derivatização [128,133].

A detecção eletroquímica combinada à HPLC constitui-se uma ferramenta analítica potente, quando se deseja determinar compostos em baixas concentrações em amostras de composição química altamente complexa como os biocombustíveis. Visto que, os compostos eletroativos que eluem da coluna cromatográfica, são previamente separados, diminuindo a ocorrência de interferentes [133,134]. Adicionalmente, a seletividade da detecção eletroquímica contribui para a simplificação da etapa de preparo da amostra, diminuindo a necessidade de se empregar grandes quantidades de amostra e de solventes orgânicos, normalmente exigidos na etapa de preparação da amostra [128,130,131]. Tais vantagens reduzem o tempo da análise, diminui o consumo de reagentes, além de minimizar perdas com solventes, e simplifica o preparo da amostra, além disso esse conjunto de fatores contribui para melhor reprodutibilidade do sinal analítico e dos resultados da análise.

Entre os detectores eletroquímicos empregados, os mais explorados são coulométricos, amperométricos e condutimétricos devido a vantagens, como sensibilidade, seletividade e instrumentação de baixo custo [130,135]. Os detectores amperométricos têm vantagens sobre os demais, em razão da relação sinal/ruído mais satisfatória, configuração mais simples, proporcionando alta sensibilidade em relação a técnicas potenciométricas. Esses fatores contribuem para menores limites de detecção e quantificação, que é ideal para análises a nível traço [128,133].

Os eletrodos utilizados como detectores em HPLC podem ser divididos em três classes: eletrodos metálicos, de carbono e eletrodos quimicamente modificados (EQM). Estes últimos oferecem vantagens em relação a outros detectores comumente utilizados em HPLC, características que têm justificado as muitas aplicações em diversas áreas, tais como: alimentícia [49], ambiental [139], e de bioenergia [137].

Um eletrodo de grafite poroso foi utilizado para determinação eletroquímica de antioxidantes fenólicos, após separação por cromatografia líquida de alta eficiência [136]. A análise da amostra pôde ser realizada em menos de 10 min, com uma sensibilidade de $0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ e um desvio padrão relativo de 2,5%. Uma comparação com cromatográfica a gás com detecção por espectrometria de massa com monitoramento iônico selecionado (GC-MS-SIM) foi realizada. A sensibilidade do método GC-MS-SIM foi de $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ com desvio padrão relativo de 3,1%. As faixas lineares obtidas foram $5\text{--}100 \mu\text{g mL}^{-1}$ para todos os antioxidantes, e os limites de detecção foram 0,005; 0,05 e $0,002 \mu\text{g mL}^{-1}$ para 2,6-di-terc-butilmetilfenol, 2,4-dimetil-6-terc-butilfenol e 2,6-di-terc.-butilfenol, respectivamente [136].

Um eletrodo de carbono vítreo quimicamente modificado com nanopartículas de níquel (NiNPs) acoplado a cromatografia líquida de fase reversa com detecção amperométrica pulsada (RP-HPLC-PAD) foi utilizado para a análise quantitativa de furfural e 5-hidroximetilfurfural, em amostra real de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar [137]. A separação cromatográfica foi realizada em condições isocráticas (acetonitrila/água, 1:9) com vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, o potencial de detecção empregado foi de -50 mV vs. Pd . As curvas analíticas apresentaram limites de detecção de $4,0 \times 10^{-7}$ e $4,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, limites de quantificação de $1,3 \times 10^{-6}$ e $1,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para furfural e 5-hidroximetilfurfural, respectivamente. Os valores de concentração encontrados na amostra foram $1,54 \pm 0,02 \text{ g kg}^{-1}$ para 5-hidroximetilfurfural e $11,5 \pm 0,2 \text{ g kg}^{-1}$ para furfural. O método desenvolvido pôde ser utilizado para a detecção de aldeídos furânicos sem a interferência de outras espécies

eletroativas, além de ter apresentado outras características como resolução de pico, repetibilidade analítica, sensibilidade e precisão adequadas.

Um método analítico baseado em cromatografia líquida de ultra performance acoplado a um eletrodo modificado foi desenvolvido para a determinação simultânea de antioxidantes fenólicos [138]. O eletrodo de carbono impresso (SPCE) foi modificado com uma tinta condutora contendo grafeno e nanocompósito de polianilina (G-PANI). Comparado ao eletrodo impresso não modificado, o eletrodo modificado com G-PANI (G-PANI/SPCE) exibiu maior sensibilidade eletroquímica com aumento (2 a 4 vezes) da corrente de pico de cada antioxidante. Quatro antioxidantes (Ácido gálico (GA), epigallocatequina-3-galato (EGCG), catequina (C) e ácido cafeico (CFA)) foram separados e determinados em 3 minutos, usando cromatografia líquida de ultra-alta performance de fase reversa (UHPLC), com uma fase móvel contendo tampão fosfato e acetonitrila (90:10 v/v). Sob um potencial de detecção de -1,2 V vs. Ag/AgCl, os limites de detecção obtidos para os antioxidantes foram: 1,38 ng mL⁻¹ (GA), 1,80 ng mL⁻¹ (EGC), 1,94 ng mL⁻¹ (C) e 1,93 ng mL⁻¹ (CFA). O método desenvolvido foi aplicado para a determinação de antioxidantes em amostras de chá, os resultados obtidos apresentaram valores próximos aqueles obtidos a partir de um método UHPLC-UV padrão.

A determinação de ácidos fenólicos, empregando eletrodo de carbono vítreo foi realizada após separação por cromatografia líquida de fase reversa com detecção amperométrica pulsada (RP-HPLC-PAD) [139]. A separação cromatográfica foi realizada em condições isocráticas usando 0,20 mol L⁻¹ de ácido acético (pH 5,0)/água (80:20, v / v) como fase móvel, sob modo de funcionamento constante de 0,80 V. Os picos cromatográficos apresentaram alta resolução e separação. Os intervalos lineares foram de 0,018–18 mg L⁻¹(ácido gálico), 0,146-19 mg L⁻¹ (ácido vanílico), 0,13-17 mg L⁻¹ (ácido caféico), 0,016-16 mg L⁻¹ (ácido ferúlico) e 0,008-17 mg L⁻¹ (ácido p-cumárico). Os limites de detecção para os diferentes antioxidantes variaram de 1,6 a 97 µg L⁻¹ e a precisão variou entre 1,73 e 3,78%. Concentrações de 19 (± 0,51) mg L⁻¹ e 7,8 (± 2,5) mg L⁻¹ foram encontrados para os ácidos vanílico e caféico, respectivamente, em uma amostra de vinhaça de cana-de-açúcar. Ácidos gálico, ferúlico e p-cumárico não foram detectados. Os resultados de recuperação demonstraram que o método é preciso e pode ser usado para detectar e quantificar ácidos em vinhaça de cana-de-açúcar sem influência de interferentes.

Um método cromatográfico de troca aniônica com detecção amperométrica pulsada, utilizando eletrodo de diamante dopado com boro modificado com nanopartículas de níquel foi desenvolvido para determinar ácidos orgânicos de interesse industrial: ácido láctico, ácido málico, e ácido tartárico [140]. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna CarboPac PA1® sob eluição gradiente empregando diferentes proporções de 0,10 mol L⁻¹ de NaOH em 0,25 mol L⁻¹ de CH₃COONa e água desionizada. Os limites de detecção foram 1,2x10⁻⁴ mol L⁻¹ para ácido láctico, 6,1x10⁻⁵ mol L⁻¹ para ácido málico e 2,8x10⁻⁵ mol L⁻¹ para ácido tartárico. A concentração de cada ácido orgânico na vinhaça de cana-de-açúcar foi determinada: (1,2 ± 0,3) x 10⁻¹ mol L⁻¹ ácido láctico, (2,7 ± 0,6) x 10⁻³ mol L⁻¹ málico ácido e (9,9 ± 1,0) x 10⁻⁴ mol L⁻¹ ácido tartárico. Os valores de recuperação variaram entre 97,4 e 107,6%, e demonstraram que o método pode ser utilizado para análises de rotina durante o processo de produção de etanol. As principais características do método foram preparo de amostra não dispendioso e não demorado, sem necessidade de solventes, tempo de execução rápido e separação satisfatória.

CAPÍTULO III: OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolvimento de detectores eletroquímicos baseados em materiais nanoestruturados para aplicação em cromatografia líquida de alta eficiência, visando a determinação de antioxidantes em bioquerosene de aviação.

3.2. Objetivos específicos

Modificação dos eletrodos de carbono vítreo (GCE) com óxido de grafeno reduzido (rGO);

Modificação dos GCE/rGO com nanopartículas metálicas: ouro (AuNPs), níquel (NiNPs) e prata (AgNPs);

Estudo do comportamento eletroquímico dos antioxidantes nos eletrodos modificados e não modificados;

Caracterização eletroquímica dos detectores por técnicas de voltametria cíclica (CV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS);

Caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM);

Desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de antioxidantes utilizando eletrodos modificados com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas metálicas (AuNPs; NiNPs e AgNPs), utilizando estes eletrodos como detectores amperométricos acoplado a cromatografia líquida de alta eficiência;

Determinação dos antioxidantes em bioquerosene de aviação, empregando eletrodos modificados com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas metálicas, como detectores amperométricos acoplados à cromatografia líquida de alta eficiência.

CAPÍTULO IV: PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A água usada para preparar as soluções foi deionizada em um sistema Milli Q (Millipore, Billerica, MA, EUA), resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. Óxido de grafeno (GO, $4,0 \text{ mg mL}^{-1}$), hidróxido de sódio ($\text{NaOH} \geq 98\%$), ácido cloroáurico (HAuCl_4), sulfato de níquel (II) hexahidratado ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \geq 99\%$), nitrato de prata ($\text{AgNO}_3 \geq 99\%$), sulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \geq 99\%$) e os antioxidantes N, N'-di-sec-butil-p-fenilenodiamina (BPA $\geq 95\%$), 2,6-di-terc-butilfenol (TBP $\geq 99\%$), 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT $\geq 99\%$) e 2-(terc-butil)-4,6-dimetilfenol (BMP $\geq 99\%$), foram obtidos da Sigma-Aldrich. Ácido nítrico (HNO_3 , $\geq 65\%$), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \geq 96\%$), e acetonitrila ($\text{CH}_3\text{CN} \geq 99\%$) foram obtidos da Merck. Soluções padrão de BPA, BMP, TBP e BHT foram preparadas pela dissolução de quantidades apropriadas de antioxidantes em etanol e acetonitrila.

4.2. Medidas eletroquímicas

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula eletroquímica convencional contendo os eletrodos: referência de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$), auxiliar de Pt, e de trabalho de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas metálicas (ouro, níquel e prata), área aproximada de $0,07 \text{ cm}^2$. Um potenciostato PGSTAT-30 AUTOLAB controlado pelo software NOVA 1.11 foi utilizado. As medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foram realizadas utilizando um módulo FRA, em potencial de circuito aberto (OCP) e temperatura ambiente.

4.3. Modificação eletroquímica do eletrodo de carbono vítreo (GCE) com óxido de grafeno reduzido (rGO) e nanopartículas metálicas (NPs)

A superfície do GCE foi previamente polida mecânicamente com uma suspensão de alumina $0,3 \mu\text{m}$ em tecido feltro, e depois lavada com água deionizada ultrapura.

A modificação da superfície do GCE foi realizada com base em um trabalho publicado anteriormente [154]. Foi empregada uma suspensão de $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ de GO, preparada em água, e sonificada por quatro horas para que as folhas de GO fossem

dispersas. Após isso, a suspensão foi diluída em Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ para uma concentração final de $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ de GO. A eletroredução do GO na superfície do GCE foi realizada a um potencial constante de $-1,5 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) por 500 s (condições otimizadas, como descrito no Capítulo VI).

4.3.1. Modificação eletroquímica do eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas ouro (GCE/rGO-AuNPs)

As nanopartículas de ouro (AuNPs) foram eletrodepositadas na superfície do GCE/rGO com base em um trabalho descrito na literatura [99], utilizando aplicação de potencial constante por cronoamperometria. Nesta etapa o GCE/rGO foi imerso em solução de H_2SO_4 $0,50 \text{ mol L}^{-1}$, contendo HAuCl_4 $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, o potencial aplicado foi de $+0,40 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl), mantido constante por 120 s (condições otimizadas). Após a eletrodeposição, as nanopartículas de ouro foram oxidadas em NaOH para formação dos óxidos e hidróxidos de ouro. Nessa etapa, o eletrodo modificado foi imerso em solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e submetido a 30 ciclos de varredura no intervalo de $-0,30$ a $+0,70 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl), e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . A modificação GCE/rGO-AuNPs foi avaliada por medidas de voltametria cíclica dos eletrodos modificados em solução dos antioxidantes BHT, TBP, e BPA em NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$.

4.3.2. Modificação eletroquímica do eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas níquel (GCE/rGO-NiNPs)

As nanopartículas de níquel (NiNPs) foram eletrodepositadas na superfície do GCE/rGO tomando como base trabalhos descritos na literatura [137, 154], pela aplicação de potencial constante por cronoamperometria. Nesta etapa o GCE/rGO foi imerso em solução de NiSO_4 $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em Na_2SO_4 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, o potencial aplicado foi de $-1,2 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl), mantido constante por 60 s . Após a eletrodeposição, as NiNPs foram oxidadas em solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, o eletrodo modificado foi submetido a sucessivos ciclos de varredura no intervalo de $0,1$ a $0,8 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl), com taxa de varredura de 100 mV s^{-1} . A modificação GCE/rGO-NiNPs foi avaliada por medidas de voltametria cíclica e cronoamperometria dos eletrodos em solução dos antioxidantes BHT, TBP, BMP e BPA em NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$.

4.3.3. Modificação eletroquímica do eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas prata (GCE/rGO-AgNPs)

As nanopartículas de prata (AgNPs) foram eletrodepositadas na superfície do GCE/rGO, baseado em um trabalho descrito anteriormente [166]. A modificação foi realizada por aplicação de potencial constante por meio da técnica de cronoamperometria. Nesta etapa, o GCE/rGO foi imerso em solução de AgNO_3 $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em HNO_3 $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, o potencial aplicado foi de 0,3 V (vs. Ag/AgCl), por 60 s. Após a eletrodeposição, as AgNPs foram oxidadas em solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, com 30 ciclos de varredura no intervalo de -0,1 a 0,9 V (vs. Ag/AgCl) e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . Todos os parâmetros que influenciam na formação das nanopartículas foram otimizados, e a modificação GCE/rGO-NiNPs foi avaliada por medidas de voltametria cíclica dos eletrodos em solução dos antioxidantes BHT, TBP, BMP e BPA em NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$.

4.4. Caracterização

As técnicas de voltametria cíclica (CV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foram utilizadas para caracterização eletroquímica. O comportamento dos antioxidantes BHT, TBP, BMP e BPA em eletrodos modificados e não modificados foi investigado por voltametria cíclica e amperometria pulsada.

As caracterizações morfológicas dos eletrodos modificados foram realizadas com placas de carbono vítreo (área $1,0 \text{ cm}^2$), utilizando um microscópio eletrônico de varredura com campo de emissão de elétrons (SEM-FEG) marca Jeol, modelo JSM 7500F. A morfologia de superfície também foi caracterizada por microscopia de força atômica (AFM), em um equipamento da marca Bruker nanoscope V. As superfícies modificadas foram analisadas em um suporte de amostra de $2,0 \text{ } \mu\text{m} \times 2,0 \text{ } \mu\text{m}$ e a área de amostra foi exibida com uma resolução de 256×256 pixels, sendo a velocidade de varredura de $2,0 \text{ } \mu\text{m s}^{-1}$. Todas as caracterizações morfológicas foram realizadas no Laboratório de Microscopia Avançada, LMA-IQ.

4.5. Análises cromatográficas

Os experimentos cromatográficos foram realizados em um cromatógrafo de íons 850 Professional IC Cation-HP-Gradient (Metrohm), com módulo extensor 872 (pós-coluna) e loop de $20 \text{ } \mu\text{L}$, acoplado a um amostrador Compact Autosampler 863

(Metrohm). As separações cromatográficas dos antioxidantes foram realizadas com uma coluna Luna® 3 µm C18 100 Å, 150 x 4,6 mm, a temperatura utilizada no forno da coluna foi de 30 °C e no detector de 35 °C.

As medidas cronoamperométricas pulsadas em fluxo contínuo foram realizadas utilizando um detector amperométrico Modelo IC (Metrohm) e uma célula eletroquímica Wall-Jet com três eletrodos: eletrodo de trabalho de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido contendo nanopartículas de ouro (GCE/rGO-AuNPs), níquel (GCE/rGO-NiNPs) ou prata (GCE/rGO-AgNPs) de 3,0 mm de diâmetro, eletrodo de pseudo-referência de paládio (Pd) e um eletrodo auxiliar de aço inoxidável. O software MagIC Net™, versão 3.1, foi utilizado para a aquisição e processamento dos cromatogramas.

A separação dos antioxidantes foi realizada por eluição isocrática. A composição da fase móvel, a força de eluição dos solventes e a vazão foram otimizadas. A fase móvel consistiu de uma mistura de dois eluentes: acetonitrila (eluente A) e água deionizada com 1,0% de ácido acético (eluente B). Os testes cromatográficos foram realizados com uma bomba pós-coluna, com uma solução de hidróxido de sódio, para manter a força iônica constante no detector eletroquímico.

Soluções padrão dos antioxidantes foram preparadas na fase móvel. As curvas analíticas foram construídas e os limites de detecção foram calculados como $3,3 \times SD/S$, onde SD é o desvio padrão do intercepto, e S inclinação da curva de calibração. O intervalo linear, a sensibilidade amperométrica, o coeficiente de correlação e a repetibilidade foram avaliados. A validação do método foi realizada para a determinação simultânea de quatro antioxidantes, através de estudos de recuperação.

4.6. Preparo de amostras

A amostra de bioquerosene foi obtida de uma indústria local, região de Araraquara – SP / Brasil. Antes de ser injetada na coluna, a amostra foi filtrada (filtros Millipore 5,0 e 0,47 µm), e então diluída na fase móvel com fator 1:100 para a determinação de BPA, TBP, BMP e BHT. O método de adição de padrão foi utilizado para determinar a concentração dos antioxidantes presentes na amostra. Para isso, quatro diferentes níveis de concentração foram utilizados para cada antioxidante nas amostras ($7,5 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹).

CAPÍTULO V: DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE ANTIOXIDANTES EM BIOQUEROSENE DE AVIAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE FASE REVERSA, UTILIZANDO ELETRODOS MODIFICADOS COM ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO E NANOPARTÍCULAS DE OURO

5.1. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1.1. Comportamento eletroquímico dos antioxidantes no eletrodo de carbono vítreo não modificado (GCE), e modificado com óxido de grafeno reduzido (GCE/rGO)

O comportamento eletroquímico dos antioxidantes BHT, TBP e BPA utilizando eletrodos modificados e não modificados foi estudado por voltametria cíclica, na faixa de potencial de 0 a 1,6 V vs Ag/AgCl em NaOH 0,1 mol L⁻¹ e velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Os voltamogramas cíclicos para o GCE na presença e na ausência dos antioxidantes BHT, TBP e BPA 1,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ em NaOH 0,1 mol L⁻¹, estão apresentados na Figura 4. Pode-se observar que os voltamogramas não apresentam picos de oxidação ou redução significativos, no intervalo de potencial estudado. Indicando, portanto, a necessidade de modificação da superfície do GCE com materiais que promovam a eletrooxidação dos antioxidantes. Esses resultados estão de acordo com outros trabalhos da literatura, que têm demonstrado a necessidade de modificação da superfície de eletrodos para determinação de antioxidantes [36,39,40].

Diferentes materiais nanoestruturados têm sido empregados visando melhorar a determinação analítica de antioxidantes [26,64, 88,97,138]. Dentre estes, o grafeno tem sido bastante empregado, principalmente em razão das suas propriedades eletrônicas, ópticas, mecânicas e térmicas [141-142]. Nesse sentido, o GCE foi modificado com GO e sua eletrorredução foi investigada por voltametria cíclica no intervalo de potencial de -0,1 a -1,6 V, em Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ (Figura 5).

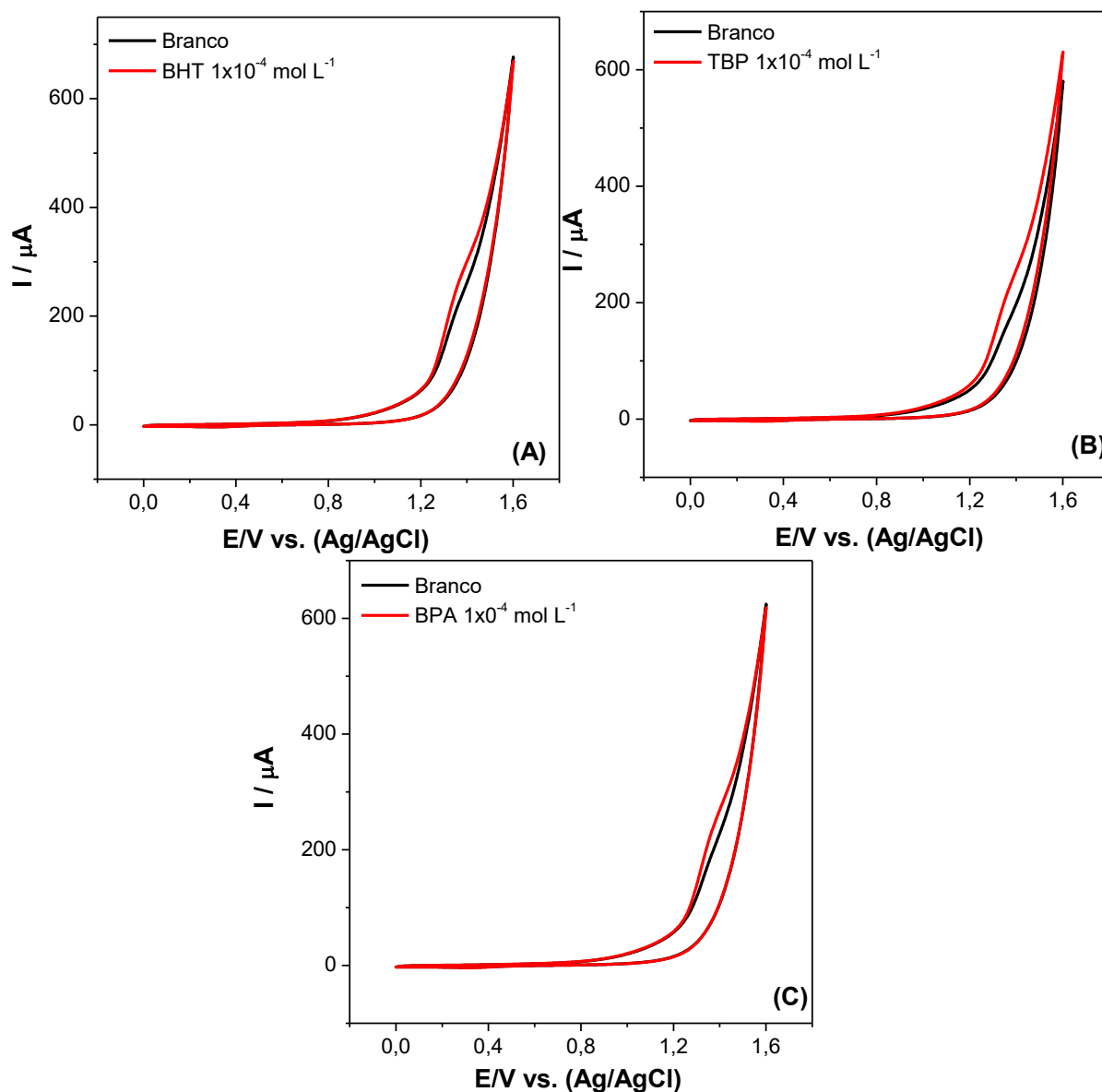


Figura 4 - Voltamogramas cíclicos do GCE na presença e na ausência de (A) BHT, (B) TBP e (C) BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

O GCE foi modificado pela deposição de $10 \mu\text{L}$ de GO ($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ em água deionizada), e seco a temperatura ambiente, em seguida, as medidas voltamétricas foram realizadas a 50 mV s^{-1} . O primeiro voltamograma obtido apresenta um pico catódico em $-1,5 \text{ V}$, que pode ser atribuído à redução dos grupos funcionais presentes nas folhas de grafeno [84,143]. A partir do segundo ciclo voltamétrico o pico catódico da redução do GO diminui consideravelmente e desaparece após vários ciclos voltamétricos, indicando, portanto, que o GO foi reduzido de forma irreversível

na superfície do GCE (Figura 5). Um mecanismo geral para a redução eletroquímica do GO foi proposto por Raj e John, de acordo com a Equação 1 [144]:

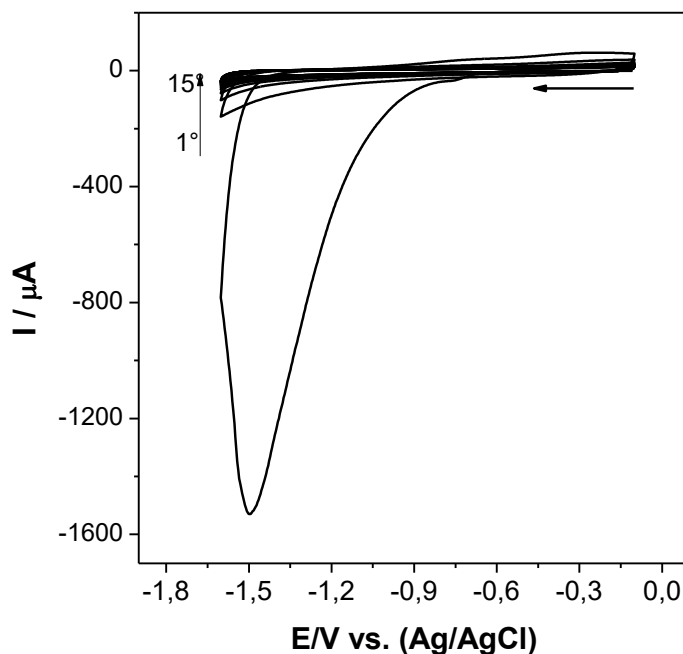


Figura 5: Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO 1,0 mg mL⁻¹ em Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. 1º ciclo ao 15º ciclo. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

A eletro-oxidação dos antioxidantes BHT, TBP e BPA foi investigada por voltametria cíclica, empregando o GCE modificado com óxido de grafeno reduzido (GCE/rGO) em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Os resultados obtidos mostram que os antioxidantes não apresentaram picos de oxidação significativos, no intervalo de potencial estudado sobre a superfície do GCE/rGO em meio alcalino (Figura 6). Esses resultados sugerem a necessidade de modificação do GCE/rGO com nanopartículas metálicas, que promovam a eletrooxidação desses compostos.

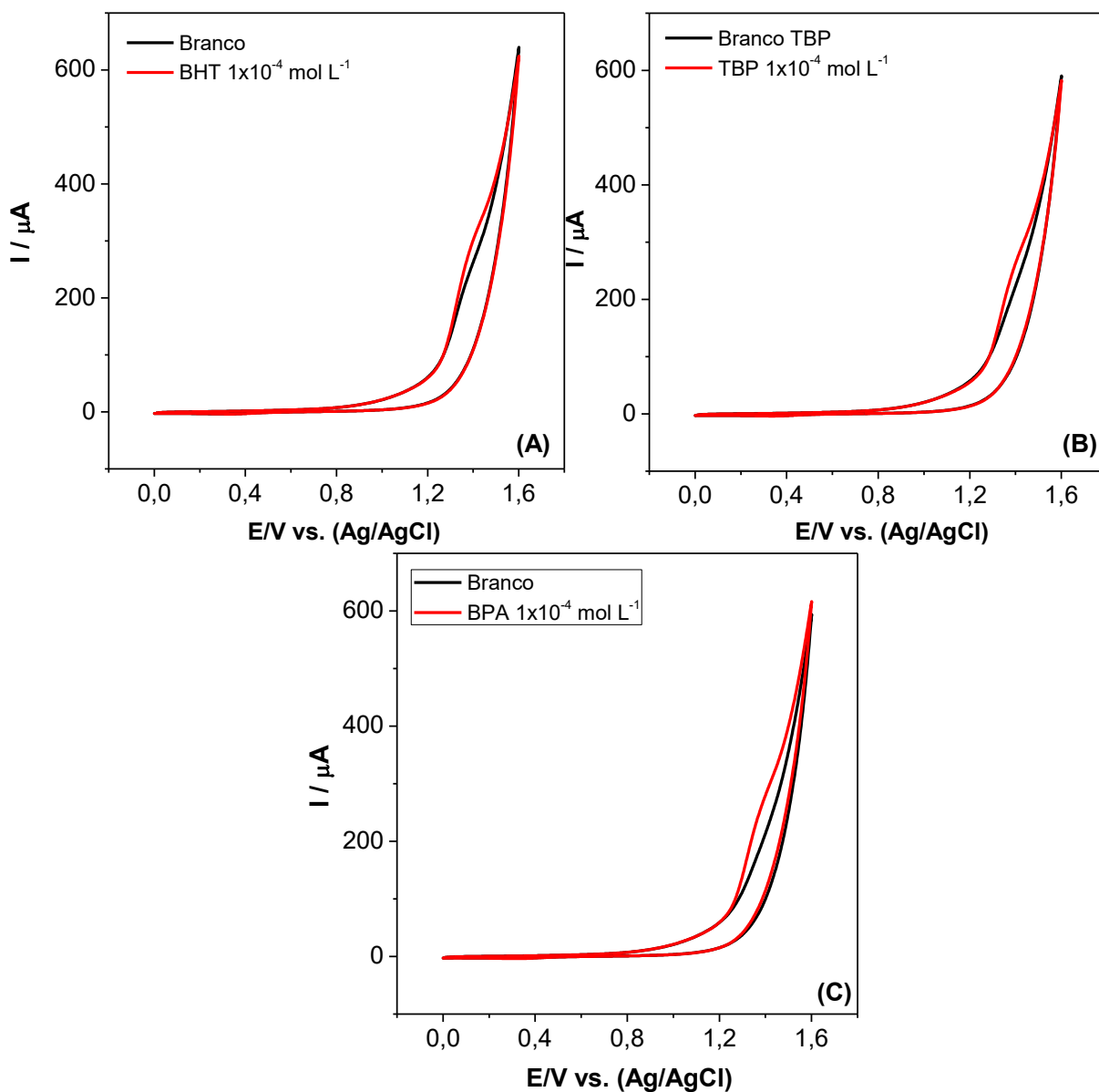


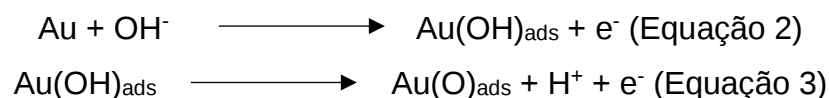
Figura 6 - Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO na presença e na ausência de BHT, TBP e BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

5.1.2. Comportamento eletroquímico do eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro (GCE/rGO-AuNPs)

Apesar das propriedades atrativas do grafeno, modificações químicas e/ou funcionalizações têm sido frequentemente utilizadas para melhorar suas propriedades estruturais, físico-químicas e de condução [97-99]. Nesse sentido, nanopartículas de metais nobres como Pt, Au e Ag têm recebido muita atenção em catálise devido às suas propriedades físicas e químicas. As nanopartículas de ouro (AuNPs) têm sido amplamente utilizadas em diversas aplicações devido à excelente condutividade, e

grande área superficial [39,40,97,145]. Assim, foi realizado a eletrodeposição de nanopartículas de ouro sobre a superfície do GCE/rGO, a fim de promover a eletrooxidação dos antioxidantes BHT, TBP e BPA.

Após a modificação do GCE com rGO, as nanopartículas de Au foram eletrodepositadas na superfície do GCE/rGO, utilizando a técnica de cronoamperometria a potencial constante de 0,4 V, por 90s. Após a formação das nanopartículas na superfície do GCE/rGO, o eletrodo foi imerso em solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹ para formar os óxidos e hidróxido de ouro. Este passo foi realizado por voltametria cíclica no intervalo de potencial de - 0,30 a 0,7 V durante 30 ciclos. A formação de AuOH é mostrada no voltamograma da Figura 7. O voltamograma apresenta cinco picos: (I) um pico a -0,05 V, correspondente à adsorção de íons hidroxila na superfície das nanopartículas de ouro (Equação 2); picos (II) e (III) a 0,33 V e 0,44 V, correspondendo à região de formação de óxidos de ouro (óxidos de ouro de baixa valência a 0,33 V, e óxidos de ouro de alta valência a 0,44 V) - Equação 3; e os dois picos em (IV) 0,13 V e (V) -0,16 V que aparecem durante a varredura catódica, correspondem à redução de AuO e dessorção de OH⁻, respectivamente [145-149].



A formação de nanopartículas na superfície do eletrodo é influenciada diretamente por fatores como: potencial aplicado, tempo de deposição e concentração de HAuCl₄. Estudos anteriores têm relatado a influência desses fatores na forma, tamanho e quantidade de nanopartículas que recobrem a superfície do eletrodo [37,97,98,99, 145]. Esses estudos descrevem a obtenção de partículas de ouro uniformemente distribuídas sobre as folhas de rGO com tamanhos menores que 100 nm sob condições de potencial próximo de +0,4 V e tempos de deposição de até 200 s. Com base nisso, todos esses parâmetros foram otimizados (Figura 8). Para analisar as melhores condições na formação das AuNPs, os estudos foram avaliados em termos de oxidação de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ de BHT por voltametria cíclica em NaOH 0,10 mol L⁻¹. As nanopartículas de ouro foram eletrodepositadas no GCE/rGO usando 6,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ de HAuCl₄ e aplicando um potencial constante de +0,4 V por 120 s.

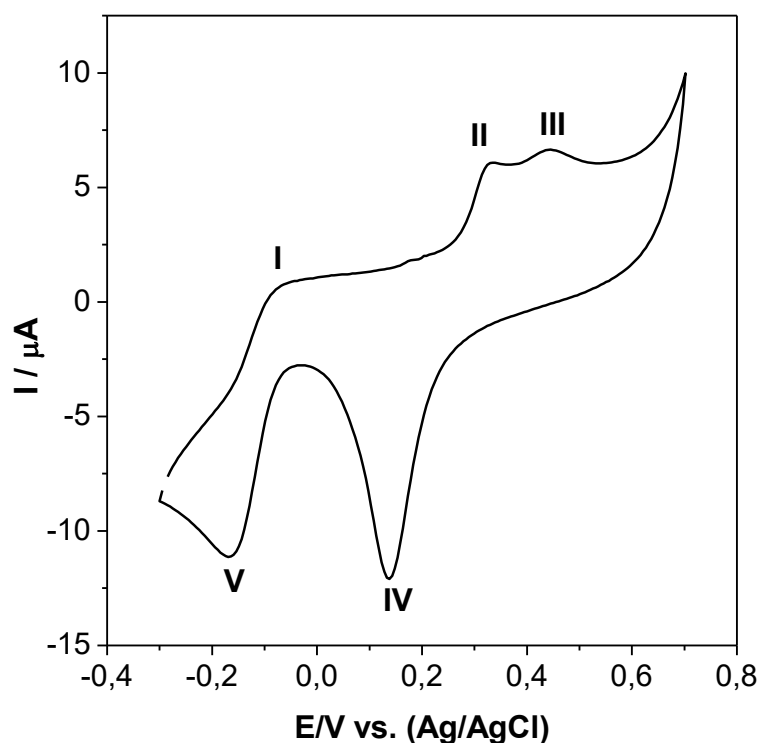


Figura 7 - Voltamograma cíclico do GCE/rGO-AuNPs em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH, após 30 ciclos. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

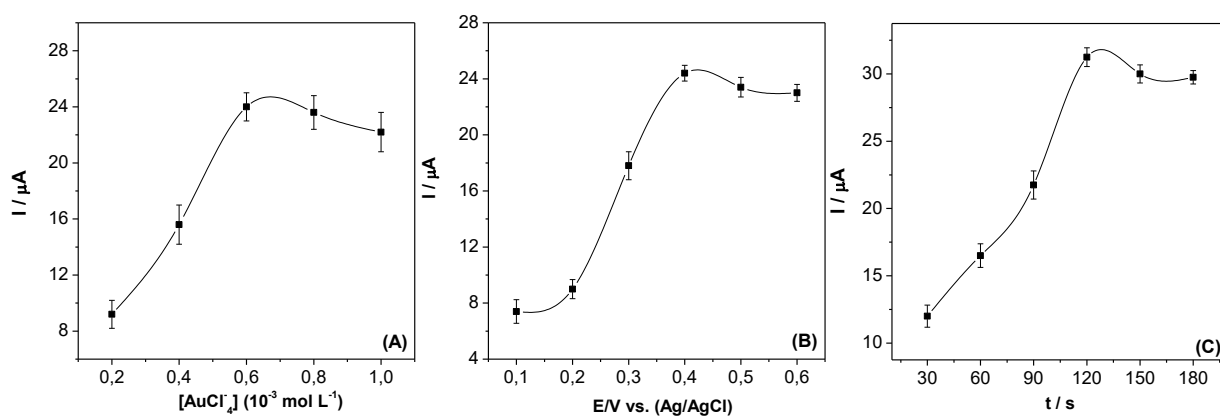


Figura 8 - Parâmetros da formação de nanopartículas de ouro: (A) Estudo da concentração de $\text{H[AuCl}_4^-]$; (B) Estudo do potencial e (C) Estudo do tempo de eletrodeposição. Corrente de pico anódica de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ BHT, 50 mV s^{-1} . $n = 3$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

A Figura 9 apresenta voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-AuNPs em solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, no intervalo de velocidade de varredura de 10 a 750 mV s^{-1} . Os picos catódicos e anódicos responderam linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando que o processo de eletro-oxidação é controlado

por difusão [150]. Na Tabela 3, são apresentados os parâmetros obtidos das correntes de picos anódicos e catódicos com a raiz quadrada das velocidades de varredura.

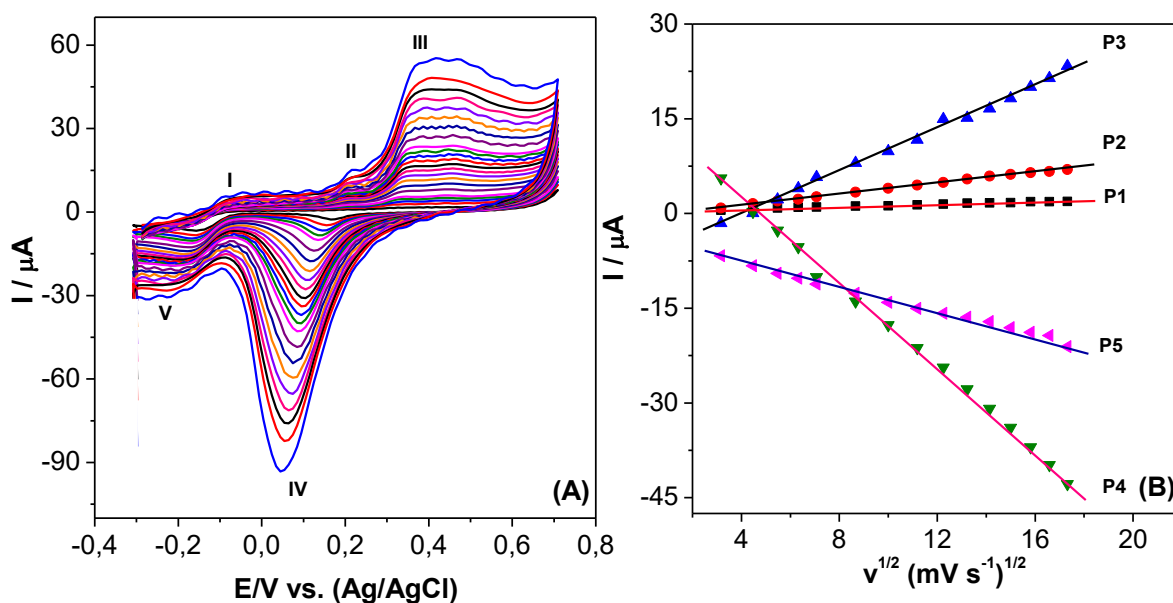


Figura 9 - (A) Voltamogramas cíclicos do estudo de velocidade: 10 a 750 mV s^{-1} , GCE/rGO-AuNPs em solução de NaOH 0,10 mol L^{-1} . (B) Correlações lineares de I_{pa} versus $(v)^{1/2}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 3: Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares da Figura 9. $n = 3$

Pico	Faixa Linear ($\text{mV s}^{-1})^{1/2}$	Equação da Regressão Linear	Coef. de Correlação
P1		$y = -3,2 \times 10^{-7} + 1,9 \times 10^{-7}x$	0,993
P2		$y = -1,0 \times 10^{-6} + 4,9 \times 10^{-7}x$	0,992
P3	3,2 – 17,4	$y = -1,2 \times 10^{-5} + 2,2 \times 10^{-5}x$	0,989
P4		$y = -1,9 \times 10^{-5} - 3,8 \times 10^{-6}x$	0,991
P5		$y = -4,4 \times 10^{-6} - 9,1 \times 10^{-7}x$	0,995

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

5.1.3. Caracterização morfológica e eletroquímica do eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro

As morfologias do GCE/rGO e GCE/rGO-AuNPs foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM). A Figura 10 mostra as imagens MEV dos eletrodos não modificados e modificados com rGO e AuNPs. A figura 10-A apresenta uma superfície rugosa tridimensional; que confirma a modificação do GCE com rGO. Na Figura 10-B, observa-se a modificação de GCE/rGO com AuNPs, que possuem formato esférico, dispersas na superfície do rGO. A Figura 10-C mostra os espectros de EDX, que apresenta picos de carbono (C), oxigênio (O) e ouro (Au), confirmando a presença de nanopartículas de ouro na superfície da rGO. O histograma apresentado na Figura 10-D mostra um diâmetro médio de 58 ± 10 nm. Estudos anteriores mostraram que partículas pequenas tendem a aumentar o efeito catalítico, expresso como correntes de oxidação maiores e um deslocamento negativo de valores potenciais [99,145]. Isso pode ser atribuído à melhor dispersão de nanopartículas menores na superfície dos eletrodos [151].

A análise morfológica por AFM 3D também foi realizada, e permitiu analisar fatores relacionados a espessura e rugosidade da modificação. Na Figura 11-A, pode-se observar que o eletrodo foi homogeneamente modificado por rGO, a espessura do filme foi de 19,2 nm e rugosidade de 3,06 nm. Alterações na espessura e rugosidade foram observadas quando o eletrodo foi modificado com AuNPs, os valores obtidos foram de 76,8 nm e 6,89 nm, respectivamente. Estas diferenças mostram que a eletrodeposição de AuNPs sobre GCE/rGO foi realizada com sucesso, confirmando que a modificação obtida foi uniforme e compacta.

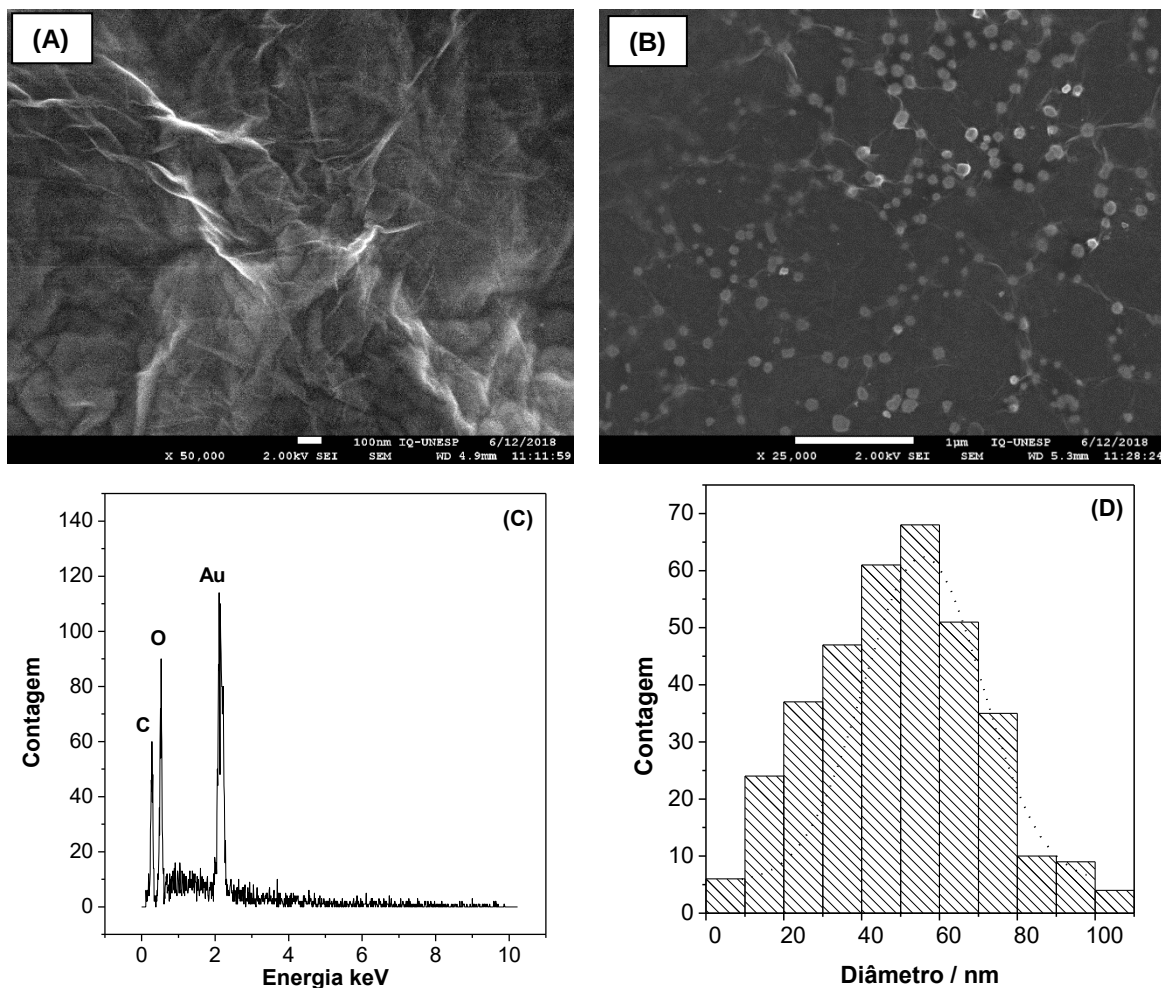


Figura 10 - Imagens MEV de: GCE/rGO (A), GCE/rGO-AuNPs (B), Análise EDX da superfície de GCE/rGO-AuNPs (C). Histograma do diâmetro das nanopartículas (D). Fonte: elaborado pelo autor, 2019

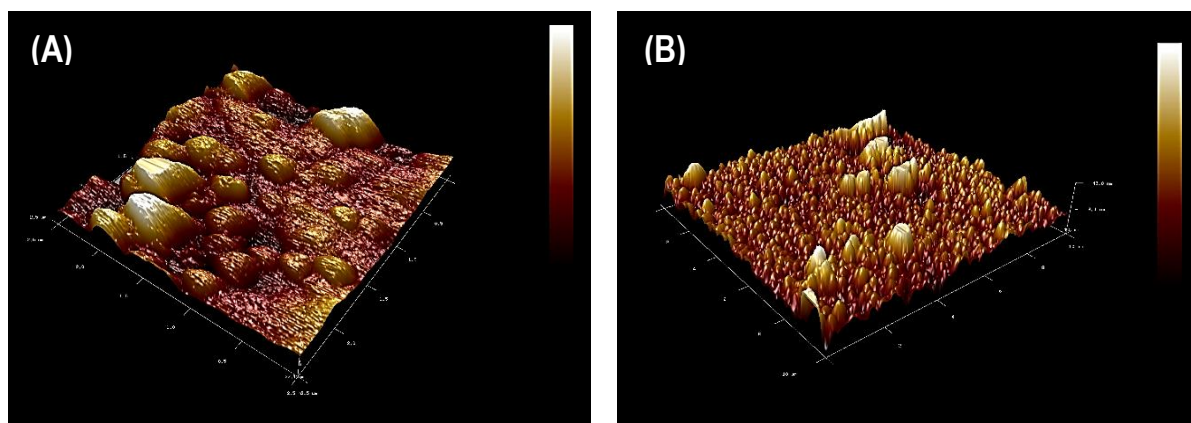


Figura 11 - Imagens de AFM: eletrodo modificado com rGO; (A) eletrodo modificado com rGO-AuNPs (B). Fonte: elaborado pelo autor, 2019

A modificação do eletrodo também foi estudada por voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica. A caracterização foi realizada utilizando uma solução de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Na Figura 12-A, um aumento significativo é observado nas correntes de pico anódica e catódica, após a modificação do GCE com rGO (curva b) e rGO/AuNPs (curva c). Esse comportamento pode ser atribuído ao aumento da área superficial causado pelos nanomateriais no eletrodo, que facilitam a transferência de elétrons. A Figura 12-B mostra os diagramas de Nyquist, onde GCE/rGO (curva b) e GCE/rGO-AuNPs (curva c) são caracterizados por um arco capacitivo, seguido por um segundo comportamento em baixa frequência (0,10 Hz a 100 kHz), que é atribuído a fenômenos difusionais [152]. O circuito elétrico equivalente proposto (Inserção na Fig. 12-B) é baseado nas características dos espectros de impedância, onde R_s corresponde à resistência da solução, Q é a capacitância de dupla camada elétrica, R_{ct} é a resistência de transferência de carga, e W é a impedância de Warburg [150,152].

Os resultados de EIS foram avaliados em termos de R_{ct} , que corresponde ao segundo intercepto do semicírculo na Figura 12-B. Os valores de R_{ct} obtidos foram progressivamente menores para eletrodos de GCE ($0,82 \text{ K}\Omega$), GCE/rGO ($0,65 \text{ K}\Omega$) e GCE/rGO-AuNPs ($0,40 \text{ K}\Omega$). Estes resultados confirmam o sucesso da metodologia envolvendo a modificação do eletrodo com rGO e AuNPs, o que contribuiu para melhorias significativas na transferência de elétrons e condutividade.

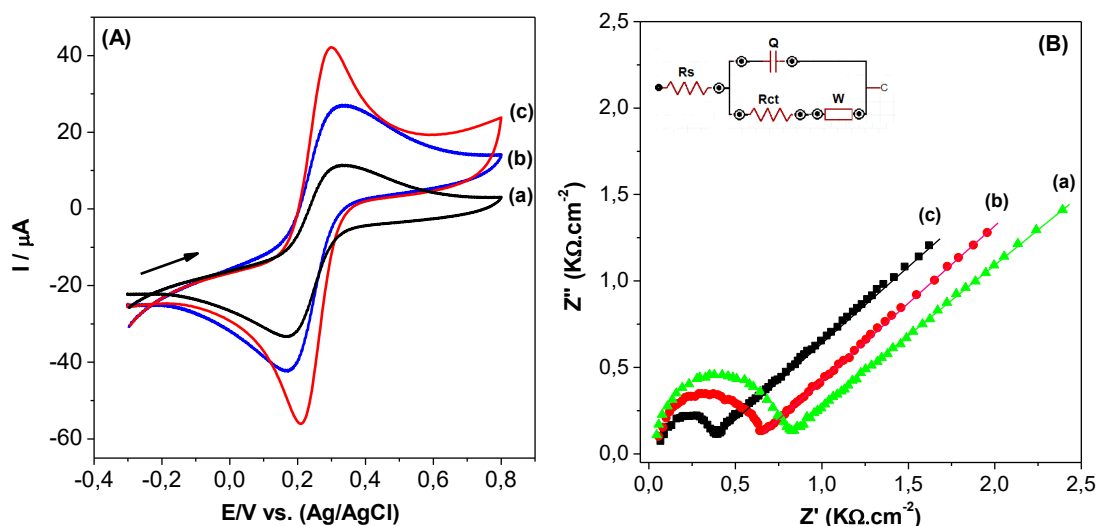
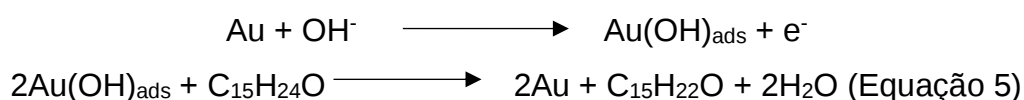


Figura 12 - Voltamogramas cíclicos (A); Diagramas de Nyquist (B), em potencial de circuito aberto (OCP): GCE (a), GCE/rGO (b), GCE/rGO-AuNPs (c), em $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe}[(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ e $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $v=50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

5.1.4. Comportamento eletroquímico dos antioxidantes

O comportamento eletroquímico dos antioxidantes BHT, TBP e BPA em diferentes eletrodos foi estudado por voltametria cíclica. A Figura 13 mostra os voltamogramas cíclicos para o GCE modificado com óxido de grafeno reduzido (GCE/rGO), e GCE modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de óxido de ouro (GCE/rGO-AuNPs), na ausência e presença dos antioxidantes em NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Os resultados da Figura 13 mostram que os analitos não apresentaram picos de oxidação no intervalo de -0,3 a 0,7 V nas superfícies do GCE/rGO. Todavia, sobre a superfície GCE/rGO-AuNPs, os antioxidantes BHT, TBP e BPA apresentaram picos de oxidação bem definidos em 0,24 V (Fig. 13-A), 0,26 V (Fig. 13-B) e 0,27 V (Fig. 13-C) vs Ag/AgCl, respectivamente. O elevado ganho de corrente observado, pode ser atribuído as nanopartículas de ouro, que em meio alcalino geram as espécies Au(OH)_{ads} (Equação 3), que apresentam uma elevada atividade eletrocatalítica [146-148]. A oxidação de BHT em GCE/rGO-AuNPs, em meio alcalino, pode estar associada à interação entre a molécula do antioxidante e as espécies OH⁻ adsorvidas, conforme Equação 5. Os outros antioxidantes apresentam comportamentos semelhantes.



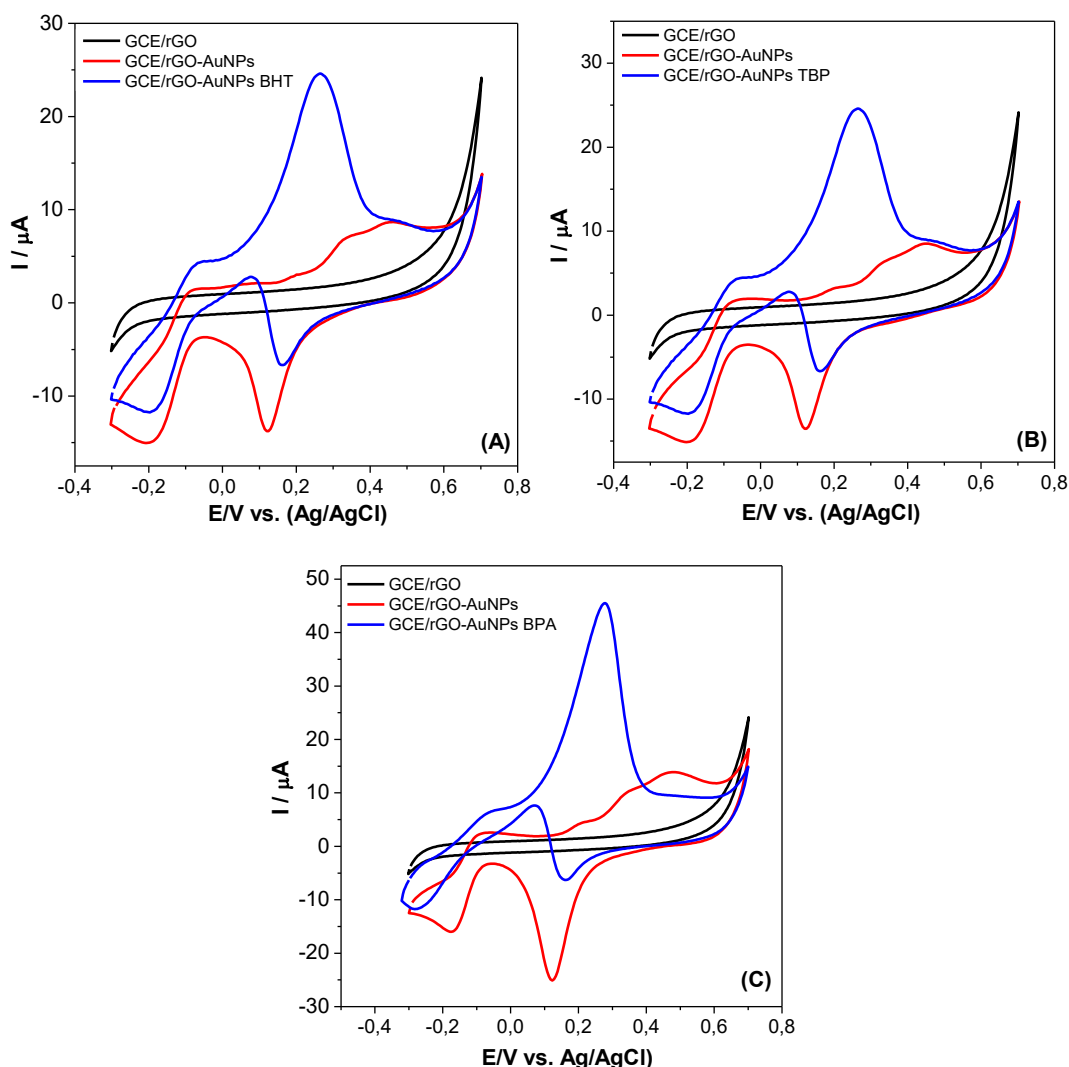


Figura 13 - Voltamogramas cíclicos para GCE/rGO e GCE/rGO-AuNPs na ausência e presença de BHT, TBP e BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Estudos de velocidade de varredura foram realizados do GCE/rGO-AuNPs em meio alcalino na presença de cada um dos antioxidantes. A Figura 14 apresenta os voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-AuNPs em NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ no intervalo de velocidade de varredura de 10 a 750 mV s^{-1} , na presença de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de BHT (Fig. 14-A), TBP (Fig. 14-B) e BPA (Fig. 14-C). Os picos anódicos, referente à oxidação dos analitos, responderam linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura no intervalo de 10 a 750 mV s^{-1} . Na Figura 14-D são apresentadas as relações lineares das correntes de pico anódicas com a raiz quadrada da velocidade, os parâmetros obtidos a partir das correlações lineares estão apresentados na Tabela 4. Esses resultados indicam que as reações de transferência de elétrons dos antioxidantes BHT, TBP e BPA são controladas por difusão [150].

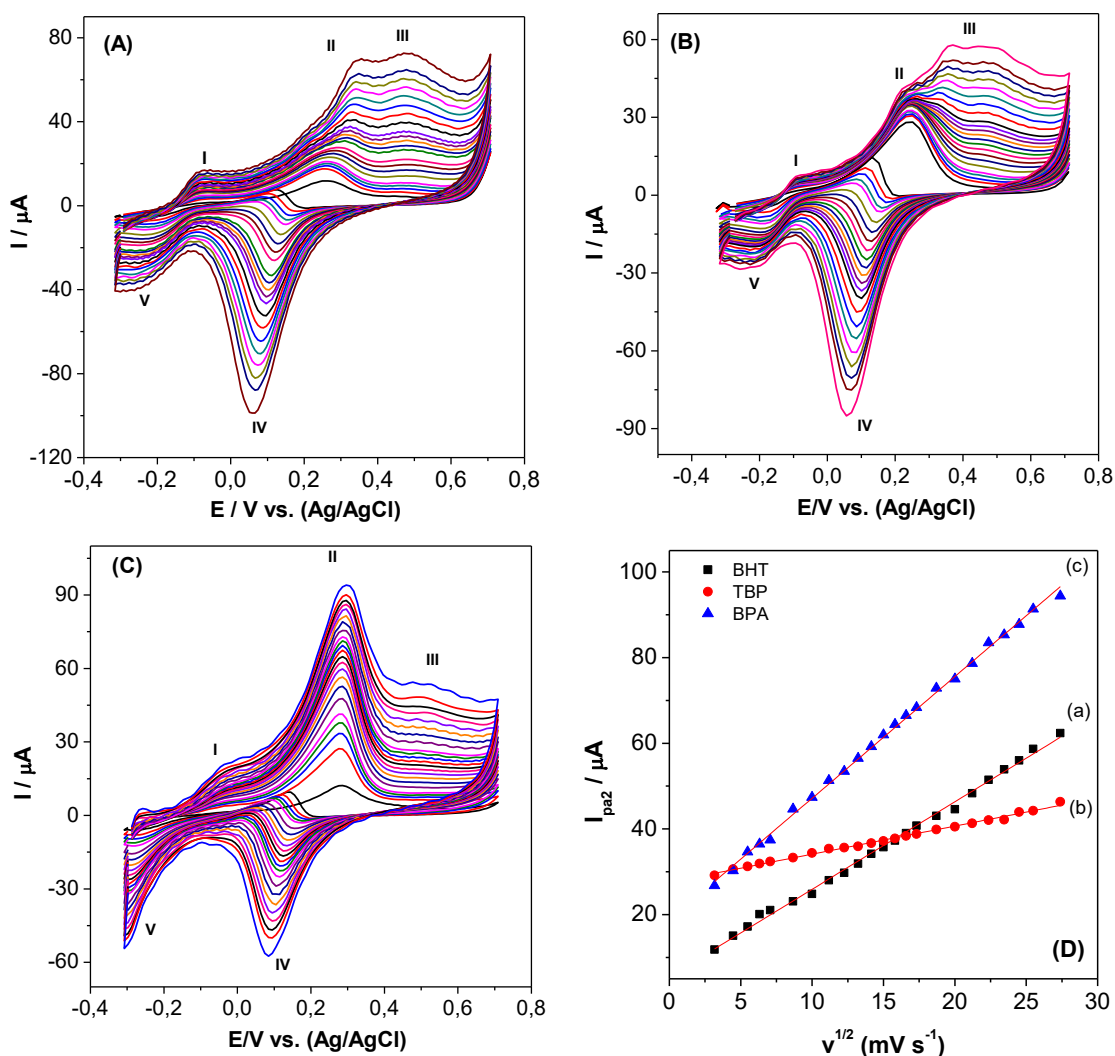


Figura 14 - Estudos de velocidade de varredura para (A) BHT (B) TBP e (C) BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre GCE/rGO-AuNPs. (D) Dependência de I_{pa2} com $v^{1/2}$ para a oxidação de (a) BHT (b) TBP e (c) BPA $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre o GCE/rGO-AuNPs. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 4 - Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares da Figura 14-D. $n = 3$

Pico	Faixa Linear ($mV s^{-1}$) ^{0,5}	Equação da Regressão Linear	Coef. de Correlação	RSD (%)
BHT		$y = 5,5 \times 10^{-6} + 2,0 \times 10^{-6}x$	0,997	2,9
TBP	3,2 – 27,4	$y = 2,8 \times 10^{-5} + 6,6 \times 10^{-7}x$	0,995	3,1
BPA		$y = 1,6 \times 10^{-5} + 2,9 \times 10^{-6}x$	0,991	2,4

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

5.1.5. Estudo da concentração dos antioxidantes

No intuito de avaliar a viabilidade do método proposto, adições sucessivas dos antioxidantes em meio alcalino foram realizadas no intervalo de concentração de $7,5 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. A partir dos estudos de voltametria cíclica curvas analíticas que relacionam a corrente de pico com concentração foram construídas, Figura 15-inseridas. A Figura 15 apresenta os voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-AuNPs na ausência e após adições sucessivas de BHT, TBP e BPA em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Na ausência dos analitos, picos redox bem definidos foram obtidos com o GCE/rGO-AuNPs, característicos da modificação. Após as adições de BHT (Figura 15-A), TBP (Figura 15-B) e BPA (Figura 15-C), observa-se um aumento proporcional da corrente de pico anódica (I_{pa}), enquanto a corrente de pico catódica (I_{pc}) diminuiu. Esse comportamento, indica a oxidação eletrocatalítica dos antioxidantes pelas AuNPs, em que as correntes de pico anódicas dos antioxidantes aumentaram linearmente com a concentração. Esses resultados demonstram, portanto, a viabilidade do GCE/rGO-AuNPs para determinação dos antioxidantes.

A Tabela 5, apresenta os parâmetros analíticos para os três antioxidantes. Foi observado um comportamento linear: na faixa de concentração de $5,0 \times 10^{-5}$ a $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ para BHT segundo a equação $I_{pa} = 7,7 + 2,7 \times 10^4 x$, e coeficiente de correlação de 0,996; na faixa de concentração $7,5 \times 10^{-5}$ a $8,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ para TBP, segundo a equação $I_{pa} = 6,8 + 2,5 \times 10^4 x$, correlação 0,995; e na faixa de concentração de $5,0 \times 10^{-5}$ a $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ para BPA, segundo a equação $I_{pa} = 6,1 + 2,9 \times 10^4 x$ mol L⁻¹, coeficiente de correlação 0,997.

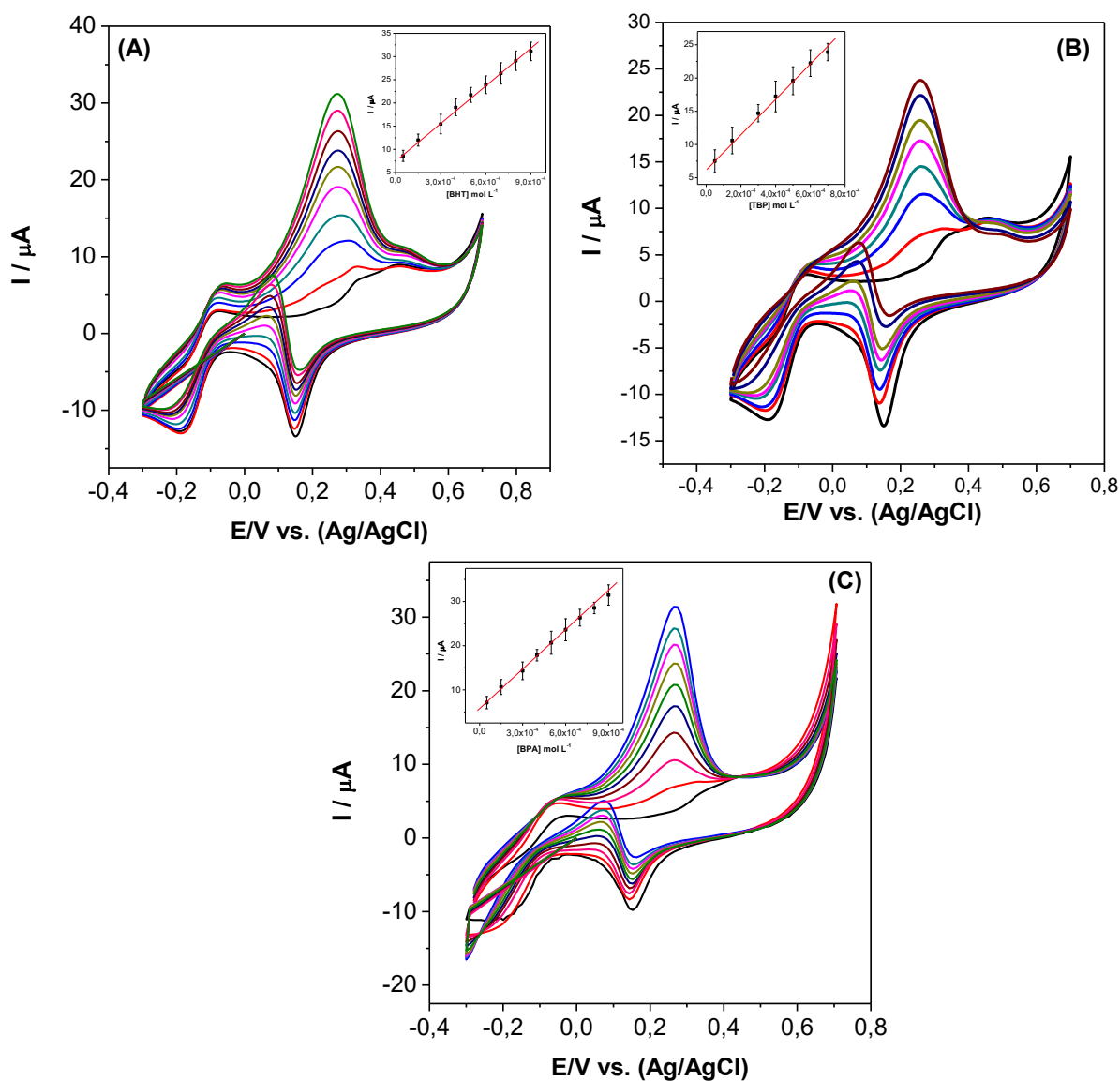


Figura 15 - Estudos de concentração dos antioxidantes no GCE/rGO-AuNPs. Curvas analíticas (inseridas) obtidas a partir da relação de I_{pa} versus a concentração de: (A) BHT; (B) TBP e (C) BPA em NaOH 0,1 mol L⁻¹. $v = 50\text{mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 5: Parâmetros analíticos para os antioxidantes BHT, TBP e BPA no GCE/rGO-AuNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹. $n = 3$

Antioxidantes	Intervalo linear (mol L ⁻¹)	LD (mol L ⁻¹)	r^2	RSD
BHT	$5,0 \times 10^{-5}$ a $9,0 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-5}$	0,996	1,2
TBP	$7,5 \times 10^{-5}$ a $8,0 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-5}$	0,995	1,9
BPA	$5,0 \times 10^{-5}$ a $9,0 \times 10^{-4}$	$3,7 \times 10^{-5}$	0,997	3,5

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

5.1.6. Comportamento cromatográfico

Visando o desenvolvimento de um novo método cromatográfico com detecção eletroquímica, os principais parâmetros foram estudados. Cromatografia líquida de fase reversa (RP-HPLC) foi escolhida para a análise dos antioxidantes devido à sua precisão, versatilidade e sensibilidade [48,153]. Os estudos foram conduzidos com uma coluna C18 que permitiu a separação adequada dos três antioxidantes (BPA, TBP e BHT). Estudos envolvendo a fase móvel foram realizados, empregando metanol, acetonitrila e isopropanol em misturas com água ultrapura. Os melhores resultados foram obtidos na mistura composta por acetonitrila e água ultrapura. Uma bomba pós-coluna foi usada com hidróxido de sódio (pós-coluna), para manter a força iônica no detector constante durante a análise. As condições de separação, incluindo a força de eluição do solvente e taxa de fluxo foram investigados no modo isocrático. Adição de ácido acético foi investigada visando melhorar a simetria dos picos dos antioxidantes durante a separação.

Por meio da técnica de amperometria pulsada (PAD), a aplicação de uma sequência de pulsos, evita a adsorção de produtos oriundos de reações de oxidação, sem prejudicar a análise [154]. Portanto, a detecção amperométrica, empregando o GCE/rGO-AuNPs, foi estudada. Estudos anteriores empregando essa estratégia têm demonstrado uma estabilidade superior, por longos períodos, o que a torna o método bastante adequado para determinações rotineiras [137-140].

No método proposto, foi utilizado uma sequência de três potenciais. O primeiro pulso de potencial ($E_1 = 0,35$ V por 400 ms) foi utilizado para condicionar o GCE/rGO-AuNPs e medir a oxidação dos antioxidantes. O segundo pulso de potencial ($E_2 = 0,75$ V por 150ms) é empregado para oxidar as espécies presentes na superfície do eletrodo modificado e impedir que sejam adsorvidas. O terceiro pulso de potencial ($E_3 = -0,10$ V por 275ms) foi aplicado para reduzir a superfície oxidada do eletrodo, e restabelecer o sinal eletroquímico (Figura 16).

As condições de separação cromatográfica com eluição isocrática foram otimizadas levando-se em consideração: resolução, simetria de pico, sensibilidade e tempo de retenção. Primeiramente, foi avaliada a composição da fase móvel, com acetonitrila (ACN) e água. Esses resultados indicaram que uma fase móvel constituída de 100% de acetonitrila não possibilita a separação dos antioxidantes, onde os três analitos foram eluídos muito rápido, e no mesmo tempo de retenção (Figura 17-A). No

entanto, a medida que diminuiu-se a força eluente, com adição de 5% de água ultrapura, houve uma separação parcial dos dois primeiros picos, referentes aos antioxidantes BPA e TBP, enquanto o terceiro foi separado adequadamente, porém com assimetria. Um aumento no teor de água na fase móvel para 10% embora tenha aumentado o tempo de análise, possibilitou uma boa separação dos três antioxidantes e valores de área de pico maiores (Figura 17-B). Quantidades de água mais elevadas resultaram em picos bastante distorcidos, portanto, a proporção de 90% ACN e 10% de H₂O foi definida como a mais adequada, em termos de área, definição de picos e tempo de retenção dos analitos.

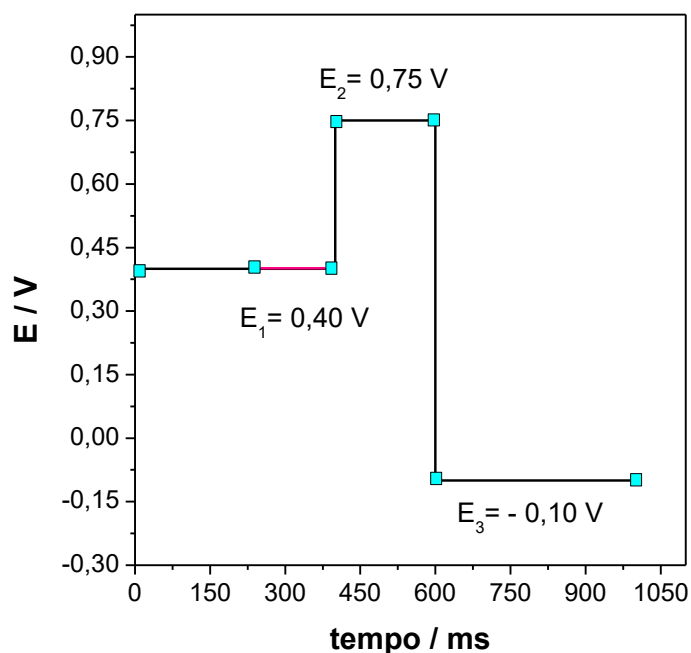


Figura 16 - Sequência de pulsos aplicada na detecção amperométrica dos antioxidantes. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Estudos anteriores têm relatado a adição de ácido acético na fase móvel, visando melhorar a separação cromatográfica [45-47]. Nesse sentido, foram realizados estudos com a adição de ácido acético em até 1,5% na fase móvel (Figura 18-A). Esses resultados demonstraram que baixos teores de ácido acético na fase móvel têm pouca influência na resolução dos dois primeiros picos. Todavia, 1,0% de ácido acético na fase móvel promoveu melhor separação dos antioxidantes, principalmente no que se refere a simetria do pico referente ao BHT. Valores acima

de 1,0% ocasionam uma diminuição da área, e distorção dos picos. Optando-se, portanto, por acidificar a água da fase móvel com 1,0% de ácido acético, Figura 18-B.

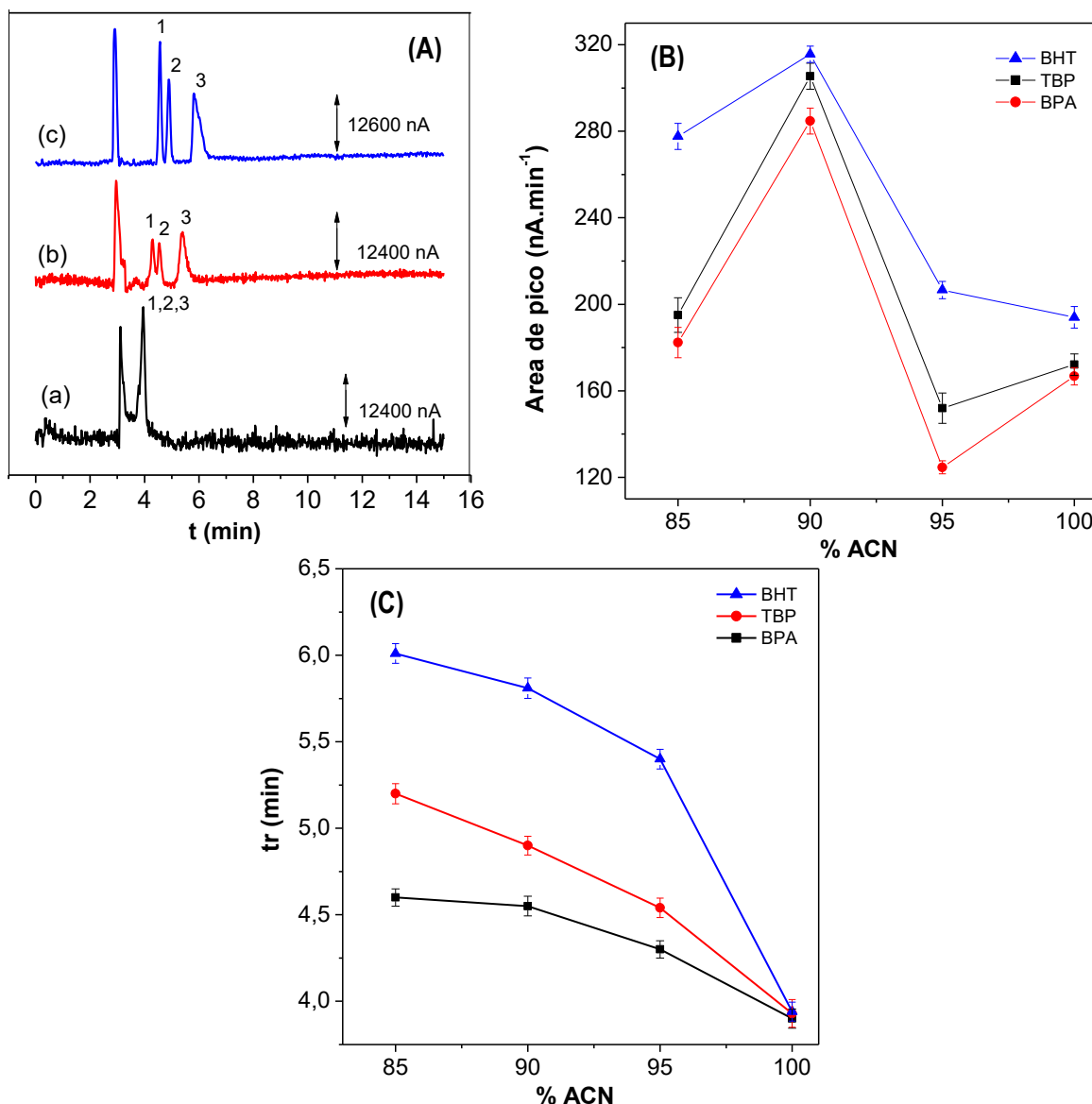


Figura 17 - (A) Cromatogramas da otimização da fase móvel (ACN), variado de 100 a 85%. (B) influência da acetonitrila na área dos picos e (C) no tempo de retenção. Condições experimentais: Coluna C18, fase móvel: ACN:H₂O, e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós-coluna), potencial de detecção 0,35 V versus Pd, fluxo 0,5 mL min⁻¹. Picos: (1) BPA (2) TBP (3) BHT 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Estudos do fluxo da fase móvel foram realizados, a fim de verificar esse efeito sobre os tempos de retenções dos antioxidantes. Os cromatogramas da Figura 19-A demonstram que valores de fluxo muito pequenos resultam em uma separação muito lenta, indicando que os compostos estão mais retidos na coluna. Com o fluxo de 0,1 mL min⁻¹ o tempo de separação foi superior a 20 minutos, enquanto que com

0,3 mL min⁻¹ a separação foi completa no tempo de 13 minutos, Figura 19-B. Todavia, fluxos mais elevados (0,5 e 0,75 mL min⁻¹) prejudicaram a separação, em que todos os compostos foram eluídos em tempos muito próximos (Figura 19-A). Portanto, o fluxo mais adequado foi 0,3 mL min⁻¹. A eluição dos compostos ocorreu sob condições otimizadas de temperatura: 30 °C (coluna) e 35 °C (detector).

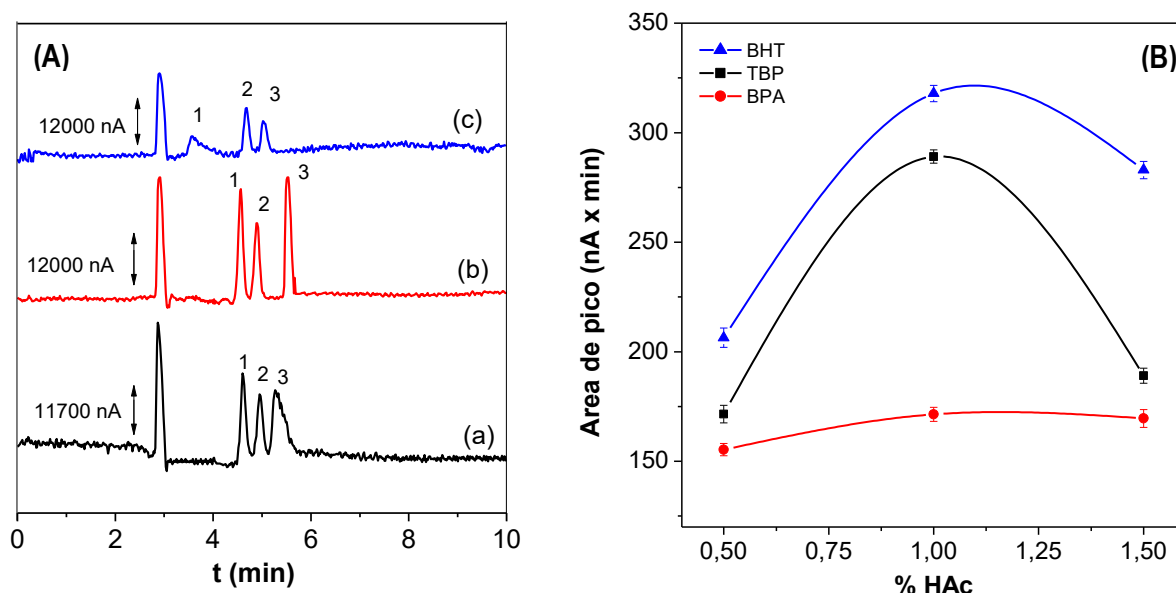


Figura 18 - (A) Cromatogramas da otimização do teor de ácido acético na água que constitui a fase móvel, variando de (a) 0,5 a (c) 1,5%. Coluna C18, fase móvel : ACN:H₂O, e NaOH 0,3 mol L⁻¹, potencial de detecção 0,35 V versus Pd, fluxo 0,5 mL min⁻¹. Picos: (1) BPA (2) TBP (3) BHT 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹. (B) Influência do ácido acético na área dos picos. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

O potencial ótimo para determinação amperométrica dos antioxidantes foi avaliado sob condições hidrodinâmicas, Figura 20-A. As soluções padrão dos antioxidantes foram injetada no HPLC, e as medições foram feitas com diferentes potenciais (0,25 a 0,50 V). As áreas de pico obtidas (nA min⁻¹) foram relacionadas com os potenciais de detecção, e os voltamogramas hidrodinâmicos foram construídos (Figura 20-B). Os resultados mostram que o potencial aplicado desempenha um papel fundamental na oxidação dos antioxidantes. Estes resultados mostraram, ainda que, valores de potenciais muito baixos (até 0,35 V) foram incapazes de oxidar totalmente os analitos. No entanto, potenciais acima de 0,45 V levaram a uma estabilização nos valores de corrente. Com base nesses resultados, 0,40 V foi selecionado como o potencial de trabalho. A separação cromatográfica isocrática dos antioxidantes BPA, TBP e BHT foi completada em 10 minutos.

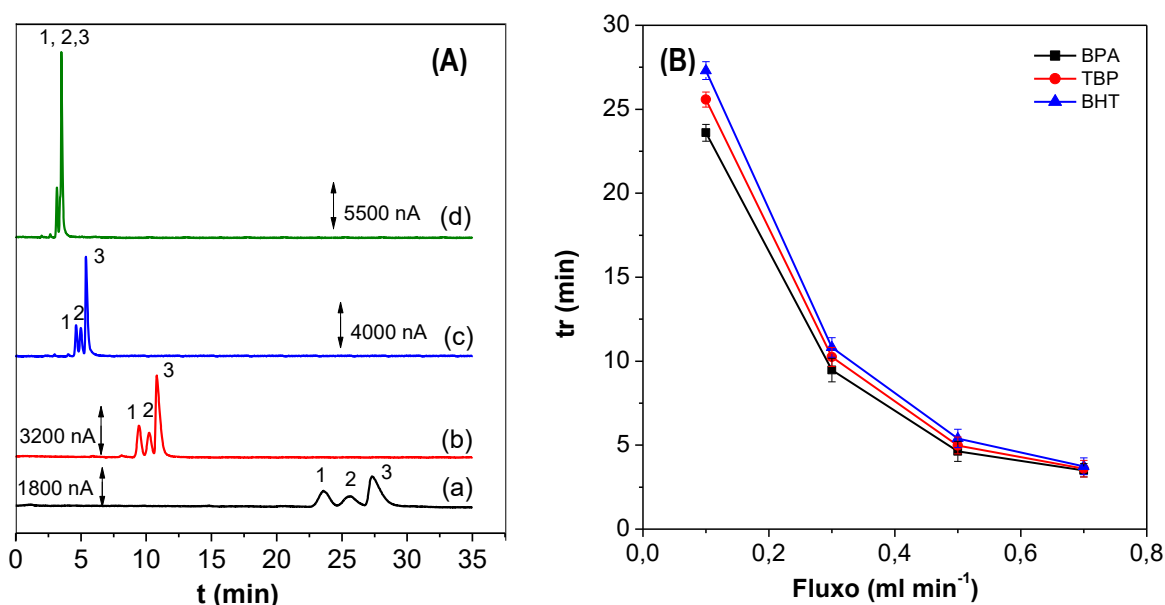


Figura 19: (A) Estudos da velocidade da fase móvel, variando de (a) 0,1 a (d) 0,7 mL min⁻¹. (B) Influência da taxa de fluxo no tempo de retenção (tr) dos picos. Condições experimentais: fase móvel: ACN:H₂O acidificada (90:10%) e NaOH 0,3 mol L⁻¹, potencial de detecção de 0,35 V versus Pd. Picos: (1) BPA, (2) TBP e (3) BHT 1,0×10⁻⁵ mol L⁻¹. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

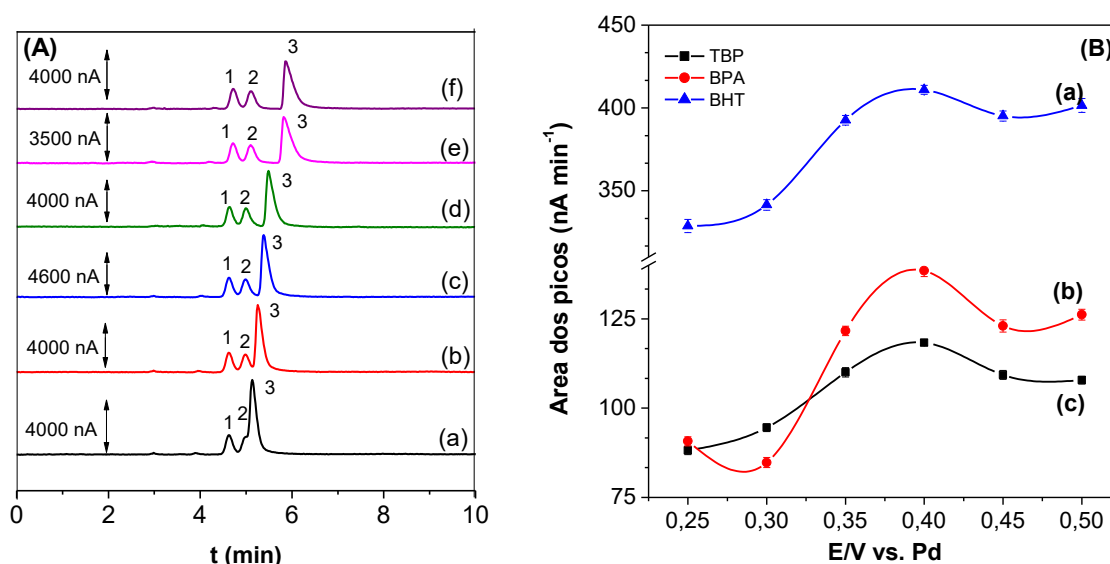


Figura 20 - (A) Cromatogramas do estudo de potencial aplicado na resposta amperométrica dos antioxidantes (1) BPA, (2) TBP e (3) BHT 1,0×10⁻⁵ mol L⁻¹, variando de (a) 0,25 a (f) 0,50 V vs. Pd. (B) Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para (a) BHT, (b) BPA e (c) TBP usando GCE/rGO-AuNPs. Condições experimentais: Fase móvel: ACN:H₂O (90:10%) e NaOH 0,3 mol L⁻¹, HAc 1%; fluxo 0,3 mL min⁻¹. Temperatura da coluna e do detector: 30 °C e 35 °C, respectivamente. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Um cromatograma típico de uma mistura dos três antioxidantes detectados no eletrodo de GCE/rGO-AuNPs é mostrado na Figura 21. Os resultados mostram

que o eletrodo GCE/rGO-AuNPs exibiu uma resposta eletrocatalítica relativamente maior em meio alcalino, comparado ao eletrodo de ouro não modificado.

Parâmetros cromatográficos como: tempo morto, tempo de retenção, tempo de retenção ajustado, resolução, fator de retenção (k) e fator de separação (α) apresentaram resultados dentro do esperado para um bom desempenho cromatográfico, os dados podem ser vistos na Tabela 6. Em HPLC obter uma resolução (R_s) ótima, em tempo mínimo, é muito importante, os resultados obtidos demonstram valores entre 1,2 e 1,4, estes resultados são satisfatórios, considerando que a faixa de 1,0 a 2,0 representa as condições de separação para a maioria dos sistemas cromatográficos, onde 1,5 é considerado o valor ideal de R_s [155]. A retenção da amostra na eluição isocrática é controlada pela composição da fase móvel, portanto os valores de k não devem ser muito pequenos ou muito grandes, podendo variar entre 1 e 10 [156]. A resolução dos picos depende do fator de separação, fator de retenção e número de pratos teóricos (N), este último caracteriza a eficiência da coluna, esta eficiência é otimizada quando N é maximizado [155,156]. Com base nesses parâmetros, os resultados obtidos estão dentro do esperado para um bom desempenho cromatográfico para todos os antioxidantes.

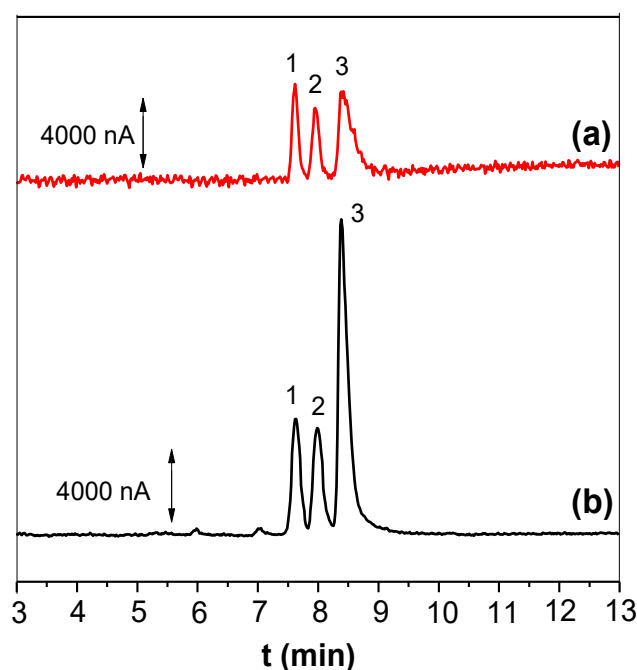


Figura 21 – Cromatogramas de uma mistura de três antioxidantes, picos: (1) BPA, (2) TBP e (3) BHT $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} . (a) Eletrodo Au não modificado e (b) GCE/rGO-AuNPs. Condições experimentais: fase móvel: ACN:H₂O acidificada (90:10%) e NaOH 0,3 mol L^{-1} , Eletrododo de ouro (■) e GCE/rGO-AuNPs (■). $E = 0,4$ V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 6: Parâmetros cromatográficos para a separação de BPA, TBP e BHT.

Parâmetro	BPA	TBP	BHT
Tempo de retenção (min)	7,6	8,0	8,4
Tempo de retenção ajustado (min)	4,6	5,0	5,4
Resolução	1,3	1,4	1,2
Número de pratos teóricos (N)	4446	4408	5016
Fator de retenção (k)	1,53	1,66	1,8
Fator de separação (α)	1,17	1,08	1,0

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

5.1.7. Curvas analíticas

O desempenho analítico do GCE/rGO-AuNPs, usado como detector amperométrico, foi avaliado com base nas condições cromatográficas otimizadas. Soluções padrão foram preparadas com concentrações variando de $5,0 \times 10^{-7}$ a $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. As áreas dos picos variaram linearmente com a concentração (mol L⁻¹) dos antioxidantes investigados, Figura 22. Curvas analíticas foram construídas relacionando as concentrações das soluções dos padrões com as respectivas áreas de pico (nA x min⁻¹): BPA (Equação: $y = 13,2 + 1,5 \times 10^6 x$, r: 0,999), TBP (Equação: $y = 13,1 + 1,3 \times 10^6 x$, r: 0,998) e BHT (Equação: $y = 15,1 + 3,4 \times 10^6 x$, r: 0,999). Os parâmetros analíticos, incluindo a faixa linear, limite de detecção, sensibilidade amperométrica e desvio padrão relativo, são mostrados na Tabela 7. Os limites de detecção obtidos foram: $2,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para BHT; $2,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para TBP e $2,2 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para BPA.

A repetibilidade do método foi analisada por meio de injeções (dez vezes) de uma mistura de $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ dos três antioxidantes nas mesmas condições experimentais. Os desvios padrão relativos das áreas de pico foram de 2,7, 1,8 e 2,9% para TBP, BHT e BPA, respectivamente. Os desvios padrão relativos dos tempos de retenção para os três antioxidantes foram inferiores a 1,0%.

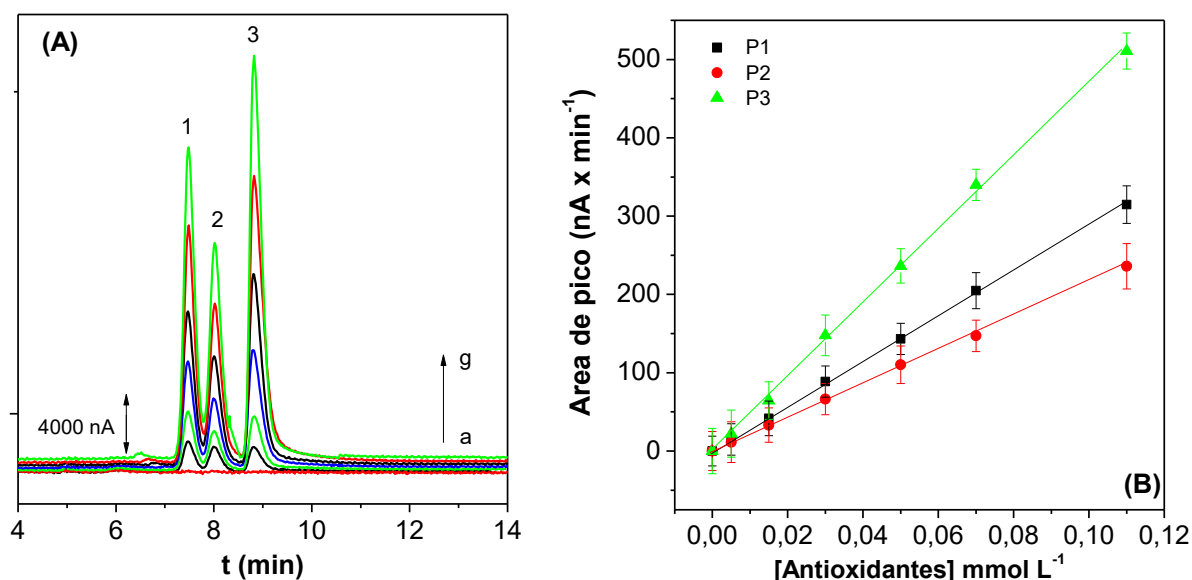


Figura 22 - (A) Cromatogramas obtidos para diferentes concentrações dos antioxidantes. (B) Curvas analíticas relacionando área de pico versus concentração. Detector amperométrico GCE/rGO-AuNPs. Fase móvel: ACN:H₂O acidificada (90:10%) e NaOH 0,3 mol L⁻¹; fluxo 0,3 ml min⁻¹. Potencial de detecção 0,40 V. Picos: (1) BPA, (2) TBP e (3) BHT. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 7 – Desempenho analítico do GCE/rGO-AuNPs como detector amperométrico para antioxidantes ($n=3$)

Analito	Faixa linear (mol L ⁻¹)	Eq. da regressão	LD (mol L ⁻¹)	SA (nA mol ⁻¹)	r ²	RSD (%)
BPA	5,0x10 ⁻⁶ a 1,1x10 ⁻⁴	y = 0,51 + 28,9x10 ⁶ x	2,4x10 ⁻⁷	2,9x10 ⁷	0,998	2,1
TBP	5,0x10 ⁻⁶ a 1,1x10 ⁻⁴	y = 0,98 + 21,3x10 ⁶ x	2,5x10 ⁻⁷	2,1x10 ⁷	0,999	1,6
BHT	5,0x10 ⁻⁶ a 1,1x10 ⁻⁴	y = 0,63 + 47,0x10 ⁶ x	2,2x10 ⁻⁷	4,7x10 ⁷	0,998	3,2

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

5.1.8. Determinação de antioxidantes em bioquerosene por RP-HPLC-PAD

O método desenvolvido foi aplicado para a determinação simultânea de BHT, TBP e BPA em amostras de bioquerosene. A identificação dos picos foi baseada no tempo de retenção dos antioxidantes, sendo confirmada pela adição de padrões dos analitos nas amostras diluídas. A Figura 23 mostra os cromatogramas representativos da amostra de bioquerosene, antes e depois da adição de soluções padrão dos analitos. Dois conjuntos de picos foram observados no cromatograma; um desses conjuntos de picos foi identificado, mas o outro conjunto não foi identificado. Os picos identificados estão relacionados ao TBP e BHT. A presença de picos não

identificados no cromatograma implica existência de alguns compostos desconhecidos na amostra de bioquerosene. No entanto, estes picos não exerceram qualquer influência significativa sobre a determinação dos antioxidantes, uma vez que o método de separação por HPLC produziu eficientes resultados.

Os antioxidantes foram quantificados na amostra usando o método de adição de padrão, com adição de quatro níveis de concentração de cada analito. As equações de regressão para as curvas de adição padrão de TBP, BHT e BPA foram $y = 86,7 + 2,7 \times 10^6 x$ ($r = 0,999$); $y = 132,6 + 2,7 \times 10^6 x$ ($r = 0,998$); e $y = 6,8 + 4,9 \times 10^6 x$ ($r = 0,998$), respectivamente. A análise foi realizada em triplicata; as concentrações obtidas para TBP e BHT foram $3,1(\pm 0,6) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,3(\pm 0,3) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente (equivalente a $6,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $6,8 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente). Não foi possível a quantificação de BPA; isto mostra que o analito não estava presente na amostra.

Vale ressaltar que, embora o fabricante tenha declarado a presença de antioxidantes sintéticos na amostra analisada, nenhuma informação foi fornecida quanto ao tipo de antioxidante e seu nível de concentração. Os resultados indicam que as concentrações de BHT e TBP estão de acordo com os níveis de concentração esperados neste tipo de amostra [6].

As recuperações médias obtidas para as quatro injeções cromatográficas de cada amostra enriquecida variaram entre 97,3% para TBP e 101,5% para BHT; isto confirma a precisão do método proposto. A precisão do método foi estimada com base no desvio padrão relativo (RSD); os valores obtidos variaram entre 1,5 e 2,1% para todos os compostos (Tabela 8).

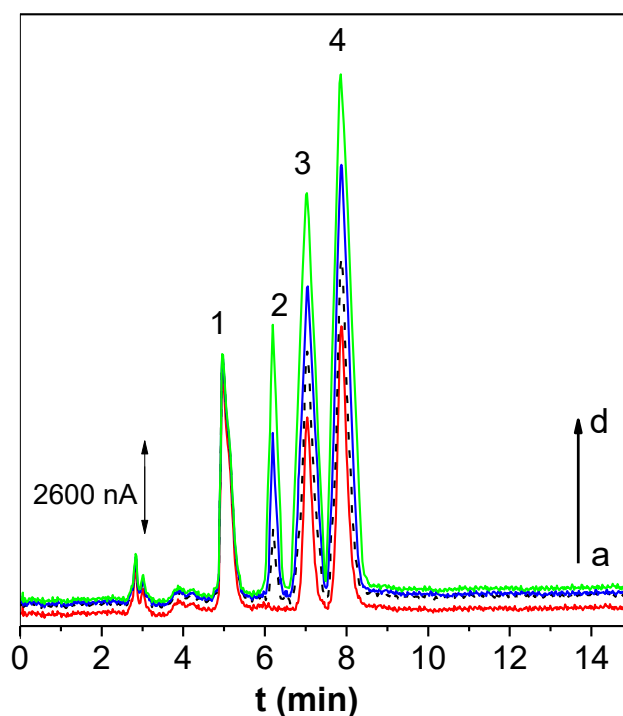


Figura 23 - Separação cromatográfica da amostra de bioquerosene diluída 1:100 com ACN. Picos: 1- espécies não identificadas, 2- BPA, 3- TBP e 3- BHT. Condições: eluição isocrática com ACN:H₂O 90/10% (v/v), com 1,0% de HAc, e NaOH 0,3 mol L⁻¹, potencial de detecção de 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 8 - Valores de recuperação obtidos para o método empregado na quantificação de antioxidantes na amostra de bioquerosene por RP-HPLC-PAD. n=3

Parâmetros	BPA	TBP	BHT
Conc. determinada (mol L ⁻¹)	-	$3,1 \times 10^{-5} \pm 5,5 \times 10^{-6}$	$3,3 \times 10^{-5} \pm 2,9 \times 10^{-6}$
Quant. adicionada (mol L ⁻¹)	$7,5 \times 10^{-6}$	$1,5 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-5}$
Recuperação (%)	98,4	97,3	101,5
RSD (n=3) (%)	1,7	1,5	2,1

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

5.2. CONCLUSÕES PARCIAIS:

O presente trabalho relatou o desenvolvimento de um detector para a análise de antioxidantes em amostras de bioquerosene, baseado na técnica de RP-HPLC-PAD, utilizando GCE/rGO-AuNPs como detector. A separação dos antioxidantes, realizada no modo isocrático, durou menos de 10 minutos e contribuiu para a obtenção de uma boa resolução dos picos. O método apresentou baixos limites de detecção: $2,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (BHT), $2,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (TBP) e $2,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (BPA), com seletividade e precisão adequadas. O detector foi aplicado com sucesso na determinação de antioxidantes na amostra de bioquerosene, obtendo: $3,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (TBP) e $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (BHT), o antioxidante BPA não foi detectado na amostra. O detector desenvolvido neste estudo mostrou-se uma excelente alternativa para a determinação rotineira de antioxidantes em matrizes complexas, como os biocombustíveis de aviação, com uma simples diluição da amostra.

CAPÍTULO VI: DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE ANTIOXIDANTES EM BIOQUEROSENE DE AVIAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE FASE REVERSA, UTILIZANDO ELETRODOS MODIFICADOS COM ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO E NANOPARTÍCULAS DE NÍQUEL

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1.1. Estudos de otimização do eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido (GCE/rGO) e nanopartículas de níquel (GCE/rGO-NiNPs)

Os parâmetros que influenciam na resposta eletroquímica do eletrodo modificado foram estudados, tais como: concentração da suspensão de GO, concentração de Na_2SO_4 , potencial e tempo de deposição do GO.

O estudo de concentração do GO na superfície do GCE foi realizado com diferentes concentrações (0,1 a 1,0 mg mL^{-1} , preparadas em solução Na_2SO_4 0,10 mol L^{-1}). A eletrodeposição do GO na superfície do eletrodo foi realizada a um potencial constante de -1,5 V (vs. Ag/AgCl) por 500 s.

Os eletrodos GCE e GCE/rGO foram caracterizados por voltametria cíclica, em $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl 0,10 mol L^{-1} e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} (Figura 24-A). Observou-se um aumento significativo nas correntes de pico anódicas (I_{pa}), esse aumento foi verificado até o valor de concentração 0,5 mg mL^{-1} de GO em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , concentrações maiores apresentaram uma diminuição nas I_{pa} , seguida de uma estabilização na resposta, Figura 24-B. Esse comportamento pode estar associado a fatores como aumento da área eletroativa do eletrodo, e aumento da condutividade elétrica do GCE modificado com rGO, ocorrido pela restauração das ligações sp^2 do grafite. No entanto, suspensões mais concentradas de GO podem ter produzidos filmes de espessura maior, dificultando a transferência de elétrons. As áreas superficiais efetivas dos eletrodos (A_e) foram calculadas em termos de corrente de pico (I_p) e velocidade de varredura (v) a partir da equação de Randle-Sevcik (Equação 5) [150]:

$$I_p = 2,69 \times 10^5 A_e D^{1/2} n^{3/2} \nu^{1/2} C \text{ (Equação 5)}$$

Onde: I_p = corrente de pico (μA); n = nº de elétrons, A_e = área eletroativa do eletrodo (cm^2), D = coeficiente de difusão; C = concentração da espécie eletroativa (mol L^{-1}); e

ν velocidade de varredura (mV s^{-1}). Os parâmetros conhecidos para o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ são: $n = 1$; $D = 7,1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e $C = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Os valores de A_e encontrados foram: $1,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$ e $4,2 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$ para GCE e GCE/rGO, respectivamente. O valor de A_e para GCE/rGO foi 2,7 vezes maior do que para GCE, indicando desempenho eletroquímico superior em razão da maior quantidade de sítios ativos disponíveis para o par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$, Tabela 9.

Tabela 9 - Parâmetros voltamétricos para GCE e rGO-GCE. Diferentes concentrações de GO

Eletrodo/[GO]	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)	I_{pa} (μA)	I_{pc} (μA)	$I_{pa}/I_{pc}(\mu\text{A})$	A_e (cm^2)
GCE	0,52	0,39	80,56	65,85	1,22	$1,58 \times 10^{-4}$
GCE/rGO (0,5 mg ml^{-1})	0,51	0,38	214,78	168,52	1,27	$4,24 \times 10^{-4}$
GCE/rGO (1,0 mg ml^{-1})	0,53	0,38	174,45	123,68	1,41	$3,84 \times 10^{-4}$

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

O efeito da concentração de Na_2SO_4 (Figura 24-C), do potencial aplicado (Figura 24-D), e do tempo de eletrodeposição do GO (Figura 24-E), também foram investigados.

Concentrações de Na_2SO_4 muito baixas produziram baixos valores de corrente de pico, indicando que o eletrólito suporte influencia na eletrodeposição do GO. Um aumento da concentração até $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ produziu um ganho significativo de corrente anódica, e soluções mais concentradas apresentaram tendência de estabilização nos valores de corrente (I_{pa}), indicando, portanto, que concentrações muito baixas podem desestabilizar a suspensão.

Os potenciais de eletrodeposição estudados variaram de -1,3 a -1,7 V, Figura 24-D. Pode ser observado um aumento da corrente (I_{pa}) em função do potencial de deposição, obtendo-se um valor de corrente ótimo com potencial de -1,5 V, valores superiores apresentaram uma estabilização na I_{pa} . Esse comportamento pode estar associado com a espessura do filme de GO depositado na superfície do eletrodo, em que a partir de -1,5 ocorre saturação da resposta do eletrodo.

O tempo de eletrodeposição afetou significativamente a corrente de pico anódica. Observa-se na Figura 24-E um aumento progressivo nos valores de corrente (I_{pa}), até o tempo de 500 s, tempos superiores apresentaram um decaimento dos valores de corrente, indicando saturação da superfície do eletrodo, que pode estar associada a formação de um filme mais espesso.

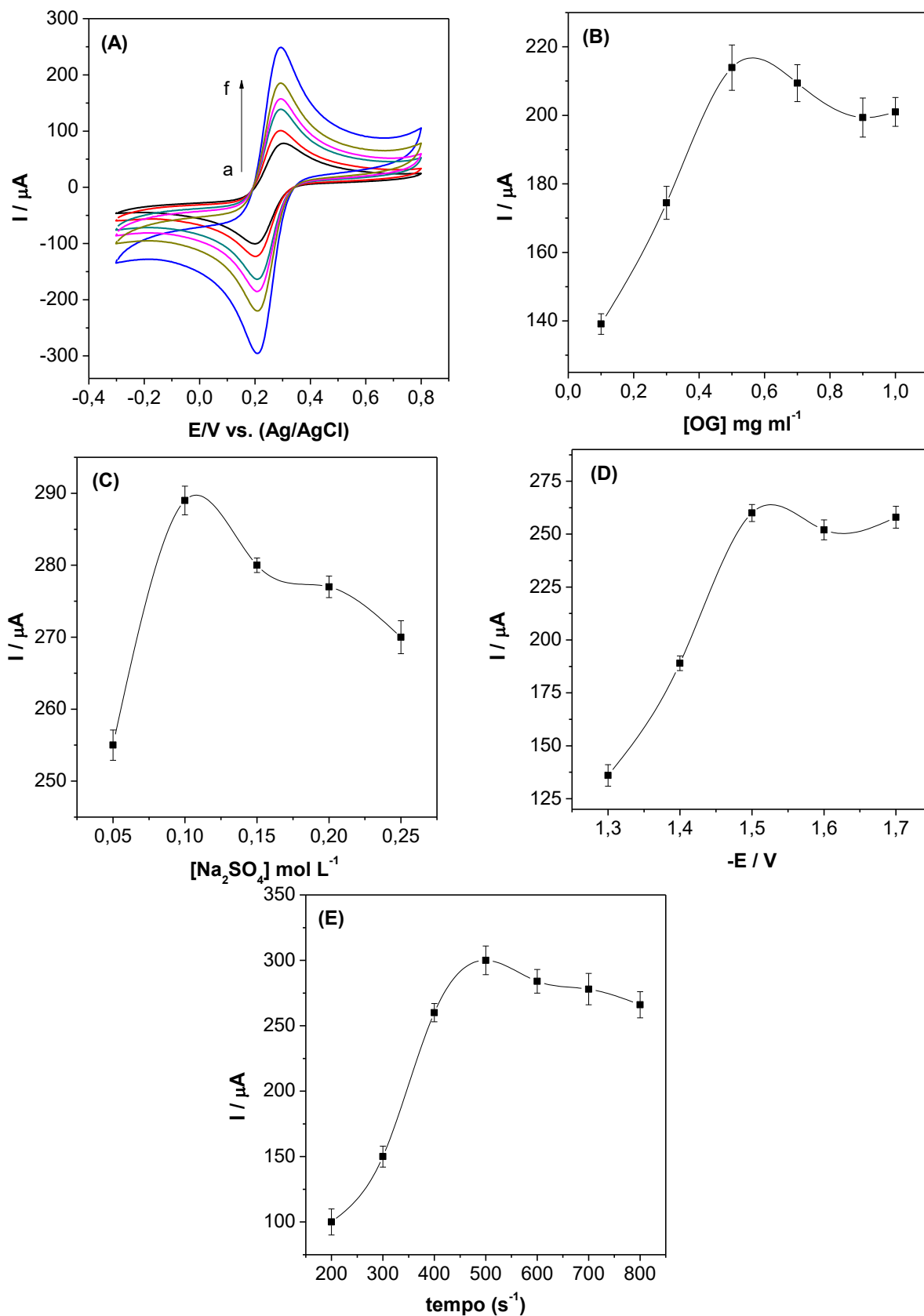


Figura 24 - (A) Voltamogramas cíclicos do estudo de concentração de GO, variado de (a) 0,1 a (f) 1,0 $mg\ mL^{-1}$. (B) Concentração de GO versus I_{pa} ; (C) Concentração de Na_2SO_4 versus I_{pa} . (D) Potencial de eletrodeposição versus I_{pa} . (E) Tempo de eletrodeposição vs I_{pa} . Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Os fatores que influenciam na formação das nanopartículas de níquel foram estudados, tais como: concentração de NiSO_4 ; potencial e tempo de eletrodeposição.

Os estudos de concentração do sulfato de níquel demonstraram que há um ganho significativo de corrente de pico anódica à medida que a concentração é aumentada, porém a partir de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a corrente de pico anódica (I_{pa}) estabiliza, Figura 25-A. Foi também observado que conforme as concentrações são aumentadas os potenciais deslocam significativamente para valores mais positivos, tendendo a estabilizar a partir de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, Figura 25-B. os resultados indicam que $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ é a concentração mais adequada para a formação das nanopartículas, em termos de ganho de corrente (I_{pa}). Esse comportamento pode estar associado a distribuição das nanopartículas na superfície do eletrodo, em que concentrações menores propiciam uma melhor distribuição, e concentrações maiores levam a formação de aglomerados na superfície do eletrodo.

Quanto ao potencial de eletrodeposição, foram realizados estudos entre -0,9 e -1,4 V. Observou-se que os valores de corrente de pico anódica diminuem progressivamente, a partir de -1,0 V, indicando que o potencial influencia significativamente na atividade eletrocatalítica. O valor de -1,0 V foi escolhido para os estudos posteriores por proporcionar maior valor de corrente (I_{pa}) (Figura 25-C).

Além da concentração do sulfato de níquel e potencial, o tempo de eletrodeposição influencia na cobertura do eletrodo. Os resultados mostram que a corrente de pico anódica aumenta significativamente até 90 s, em tempos maiores, houve diminuição da corrente, possivelmente em razão da formação de aglomerados na superfície do eletrodo, ocasionando a perda das características de nanomateriais (Figura 25-D).

As melhores condições de modificação para preparação do GCE/rGO-NiNPs foram: concentração da suspensão de GO $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ eletrodepositada a -1,5 V por 500s; NiSO_4 $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ eletrodepositada a -1,0 V e 90 s.

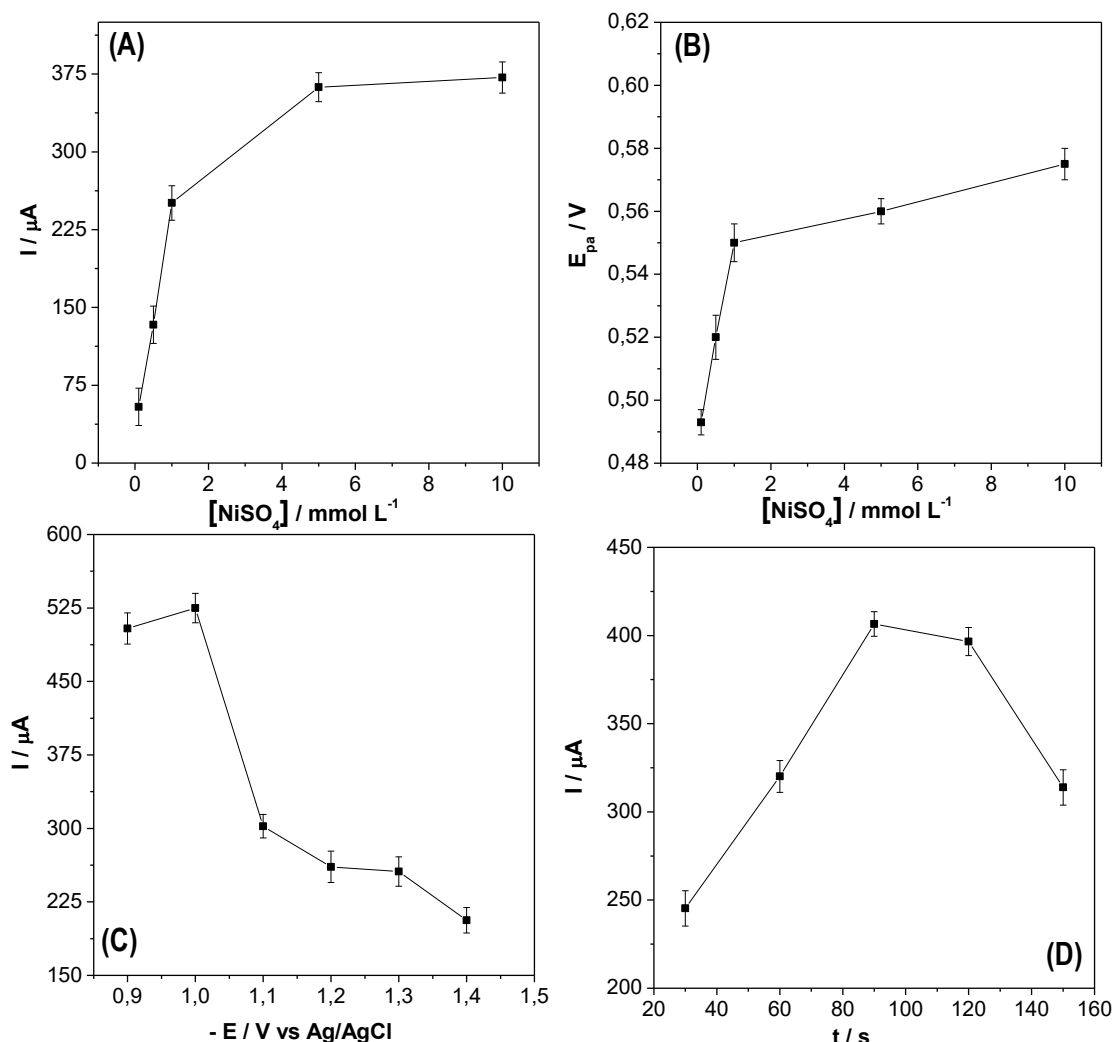
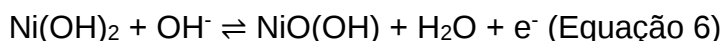


Figura 25 - Estudo dos fatores que influenciam na formação das nanopartículas de níquel: concentração de $NiSO_4$ versus I_{pa} ; (B) concentração de $NiSO_4$ versus E_{pa} ; (C) $E_{\text{eletrodeposição}}$ versus I_{pa} ; (D) $t_{\text{eletrodeposição}}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.2. Comportamento eletroquímico do eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de níquel

O eletrodo de carbono vítreo foi modificado com rGO, nas condições otimizadas de potencial, tempo de eletrodeposição e concentração de GO. Em seguida, foi utilizada uma solução de $NiSO_4$ $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para modificação do GCE/rGO, utilizando a técnica de cronoamperometria, a potencial constante de $-1,0 \text{ V}$ durante 90 s. A modificação do eletrodo foi estudada por voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). O comportamento eletroquímico do eletrodo, modificado e não modificado com rGO e NiNPs, foi investigado em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 26-A). Os voltamogramas mostram dois picos de corrente, correspondentes ao par redox $Ni(II)/Ni(III)$, esse processo redox é representado pela

Equação 6 [157-159]. O pico observado em 0,56 V é atribuído à oxidação de Ni(II) a Ni(III), e em 0,26 V atribuído à redução de Ni(III) a Ni(II).



Os valores de ΔE_p foram calculados para GCE/NiNPs e GCE/rGO-NiNPs, obtendo-se 0,27 V e 0,30 V, respectivamente. Apesar dos ΔE_p apresentarem valores próximos, verifica-se que a corrente de pico anódica do GCE/rGO-NiNPs é aproximadamente 2,5 vezes maior. Esse ganho de corrente é atribuído ao aumento de área superficial proporcionado pelo óxido de grafeno reduzido.

Estudos de impedância eletroquímica (EIS) foram realizados, do GCE/rGO-NiNPs em solução de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe(CN)}_6]$ em KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 26-B apresenta os espectros de impedância (diagramas de Nyquist) caracterizados por um arco capacitivo em altas frequências, que corresponde ao processo de transferência de carga; um segundo comportamento em baixa frequência é observado (0,10 Hz a 100 kHz), essa região linear é atribuída a controle difusional [150,160]. O circuito elétrico equivalente proposto (Inserção na Fig. 26-B) é baseado nas características dos espectros de impedância, onde R_s corresponde à resistência da solução, Q é a capacitância elétrica da dupla camada, R_{ct} é a resistência de transferência de carga, e W é a impedância de Warburg [150,152].

Os resultados de EIS foram avaliados em termos de R_{ct} , que correspondem ao segundo intercepto do semicírculo na Figura 26-B. Os valores de R_{ct} obtidos foram significativamente menores, após as modificações: GCE (1221 Ω), GCE-rGO (678 Ω) e GCE/rGO-NiNPs (317 Ω). Os resultados confirmam a modificação do eletrodo com rGO e NiNPs, em que as modificações proporcionaram significativa diminuição na resistência a transferência de carga e aumento da condutividade.

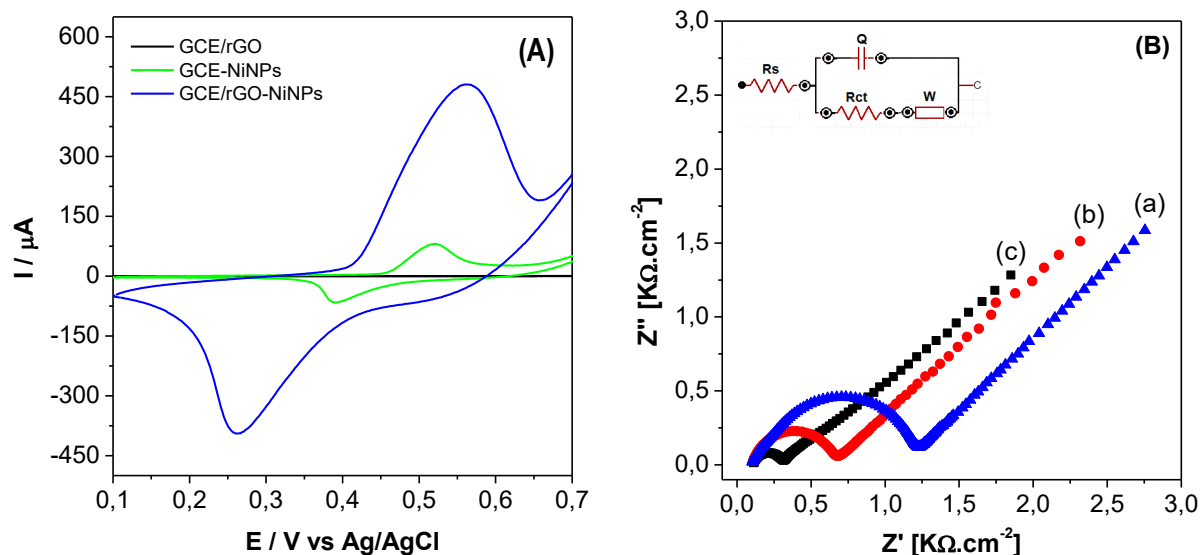


Figura 26 - (A) Voltamogramas cíclicos de GCE/rGO; GCE/NiNPs e GCE/rGO-NiNPs. $v = 50 mV s^{-1}$. (B) Diagramas de Nyquist do GCE não modificado (a); GCE/rGO (b) e GCE/rGO-NiNPs, potencial de circuito aberto (OCP). Circuito elétrico equivalente inserido. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

A Figura 27-A apresenta os voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-NiNPs em solução de NaOH $0,10 mol L^{-1}$, no intervalo de velocidade de varredura de 10 a $750 mV s^{-1}$. Os resultados demonstram um aumento nas correntes de pico anódicas (I_{pa}) e catódicas (I_{pc}), e um aumento na separação dos potenciais de pico à medida que a velocidade de varredura aumenta, essa característica pode estar associada a limitações na cinética de transferência de carga, decorrente de interações químicas entre os íons do eletrólito e a modificação, e predominância de fatores eletrostáticos [150]. A Figura 27-B mostra que I_{pa} e I_{pc} são proporcionais a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando um processo de eletro-oxidação controlado por difusão [150].

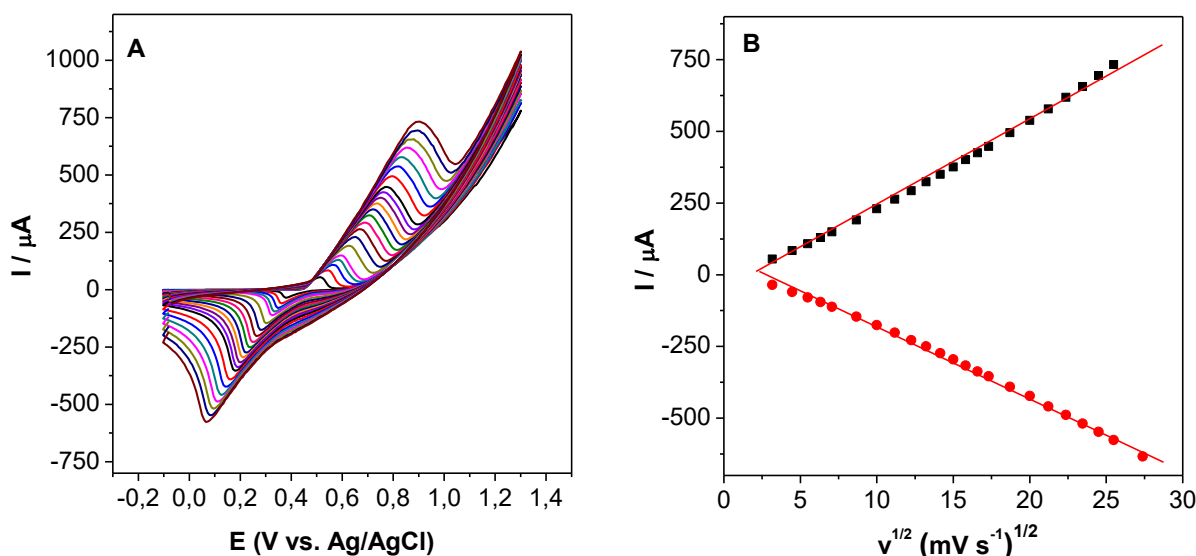


Figura 27 - (A) Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Velocidades de varredura: 10 a 750 mV s⁻¹. (B) I_{pa} e I_{pc} versus $v^{1/2}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.3. Caracterização morfológica do eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de níquel

As morfologias do GCE/rGO e GCE/rGO-NiNPs foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM). A Figura 28 mostra as imagens MEV dos eletrodos não modificados e modificados com rGO e NiNPs. A figura 28-A apresenta uma superfície rugosa tridimensional; confirmando a modificação do GCE com rGO. A Figura 28-B, apresenta a imagem de MEV após modificação com NiNPs, podem ser vistas nanopartículas de formato esférico dispersas na superfície do GCE/rGO. A Figura 28-C mostra os espectros de EDX confirmando a presença de nanopartículas de níquel na superfície do GCE/rGO, em que picos de carbono (C), oxigênio (O) e níquel (Ni) podem ser observados. O histograma apresentado na Figura 28-D mostra que o diâmetro médio das nanopartículas foi de 60 ± 18 nm.

A análise morfológica realizada por AFM permitiu analisar fatores relacionados a espessura e rugosidade da modificação. Na Figura 29-A, observa-se que o eletrodo foi homogeneamente modificado por rGO, obtendo-se uma espessura de 12,9 nm e rugosidade de 2,5 nm. Após a modificação com NiNPs, observa-se alterações nas características da modificação, os valores de espessura e rugosidade obtidos foram 80,3 nm e 13,0 nm, respectivamente (Figura 29-B). Estes resultados

mostram que a eletrodeposição de NiNPs sobre GCE/rGO foi realizada com sucesso, e que a modificação obtida foi fina e compacta.

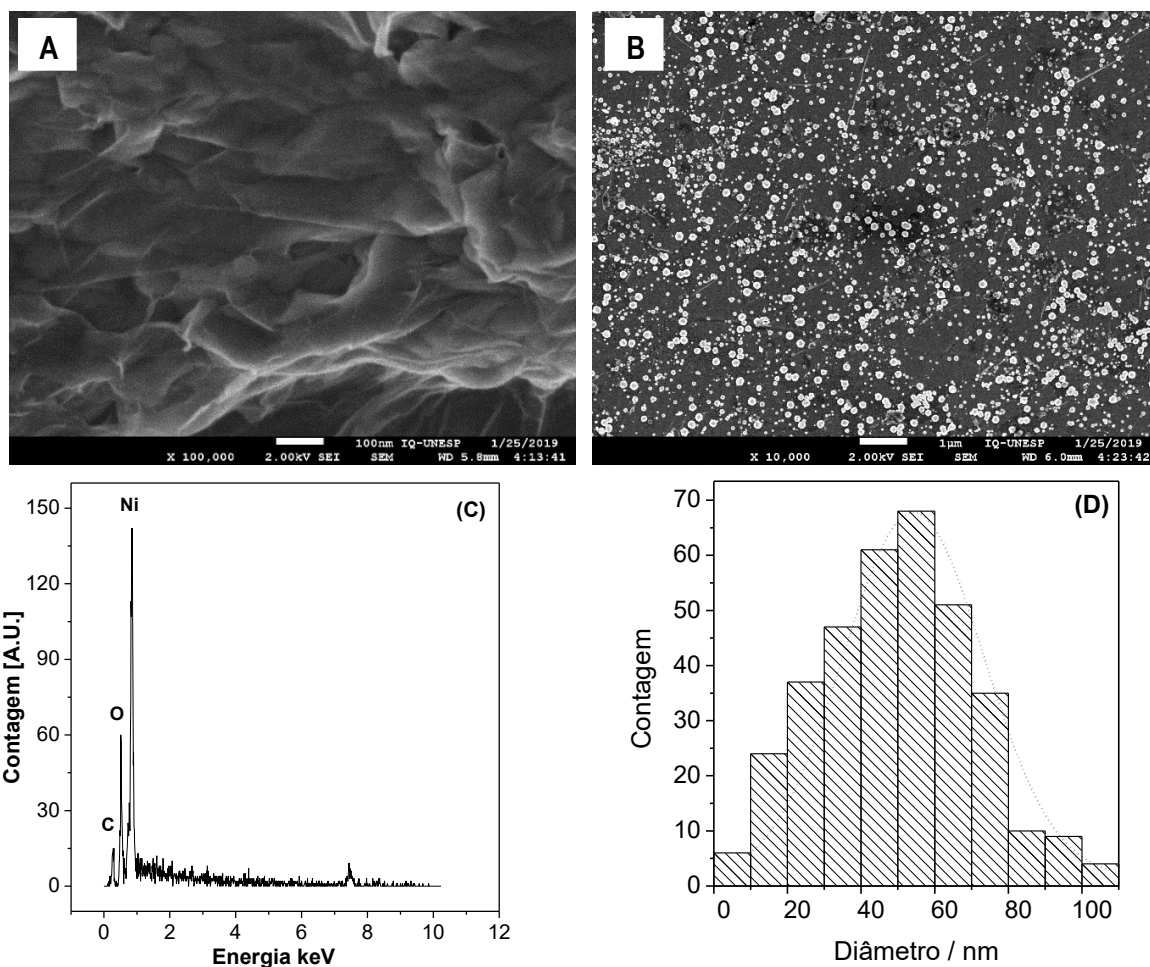


Figura 28 - Imagens MEV de: (A) GCE/rGO, (B) GCE/rGO-NiNPs, (C) Análise EDX da superfície de GCE/rGO-NiNPs. (D) Histograma do diâmetro das nanopartículas. Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

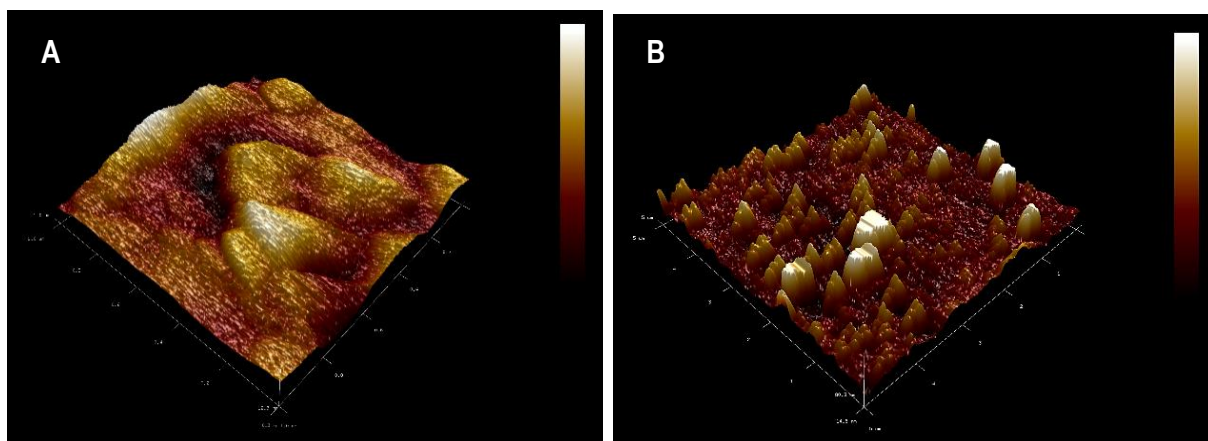


Figura 29 - Imagens de AFM: (A) eletrodo modificado com rGO, (B) eletrodo modificado com NiNPs/rGO. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.4. Comportamento eletroquímico dos antioxidantes

A eletrooxidação dos antioxidantes utilizando GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹ foi estudada por voltametria cíclica. Voltamogramas cíclicos foram registrados na ausência e na presença de 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ dos antioxidantes BHT, BPA, BPH e BMP, observa-se um ganho significativo na corrente de pico anódica, em potenciais 0,77; 0,82; 0,75 e 0,80 V vs Ag/AgCl, respectivamente (Figura 30). Na varredura reversa, uma corrente de oxidação nas mesmas regiões de potencial pode ser observada, que podem ser atribuídas a oxidação de espécies adsorvidas na superfície do eletrodo.

Os voltamogramas do GCE/rGO-NiNPs na presença dos antioxidantes são caracterizados por um aumento nas correntes de pico anódicas, atribuído à oxidação dos antioxidantes, e diminuição das correntes de pico catódicas, atribuída ao consumo das espécies NiOOH, Figura 30. Esse comportamento pode estar associado às NiNPs, que em meio alcalino geram espécies NiOOH, que possuem elevada atividade eletrocatalítica. O mecanismo de oxidação dos antioxidantes por GCE/rGO-NiNPs, pode estar associada à uma etapa eletroquímica, por meio da eletrooxidação das espécies Ni²⁺ a Ni³⁺ (Equação 7), e uma etapa química de reação das espécies Ni³⁺ com os antioxidantes (Equação 8, para o BHT). Os demais compostos apresentam comportamento semelhante.



Estudos de velocidade de varredura foram realizados com o GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹, na presença dos antioxidantes, no intervalo de velocidade de 10 a 750 mV s⁻¹ (Figura 31). Observou-se que os aumentos das velocidades de varreduras são seguidos por um aumento nas correntes I_{pa} e I_{pc} . Também foram observados deslocamentos dos E_{pa} para mais positivo e E_{pc} para mais negativo, que podem estar associados a limitações devido à cinética de transferência de carga [150]. As correntes de pico anódicos responderam linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando um processo eletródico controlado

por difusão [150]. Os parâmetros obtidos a partir das correlações lineares estão apresentados nas Tabela 10.

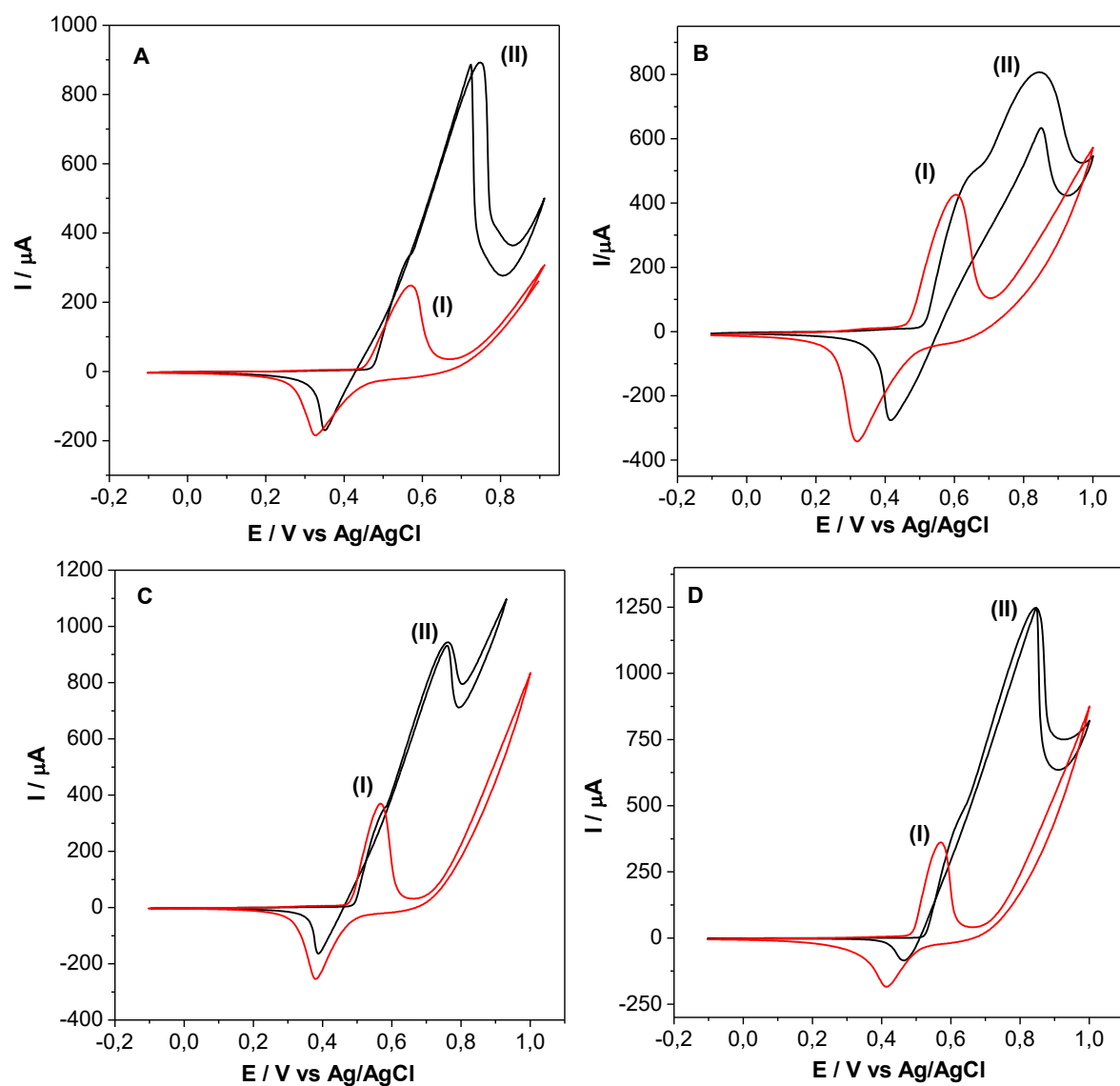


Figura 30 - Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-NiNPs na (I) ausência e (II) presença de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de: BHT (A); BPA (B); TBP (C) e BMP (D), em NaOH 0,1 mol L⁻¹; 50 mV s⁻¹. Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

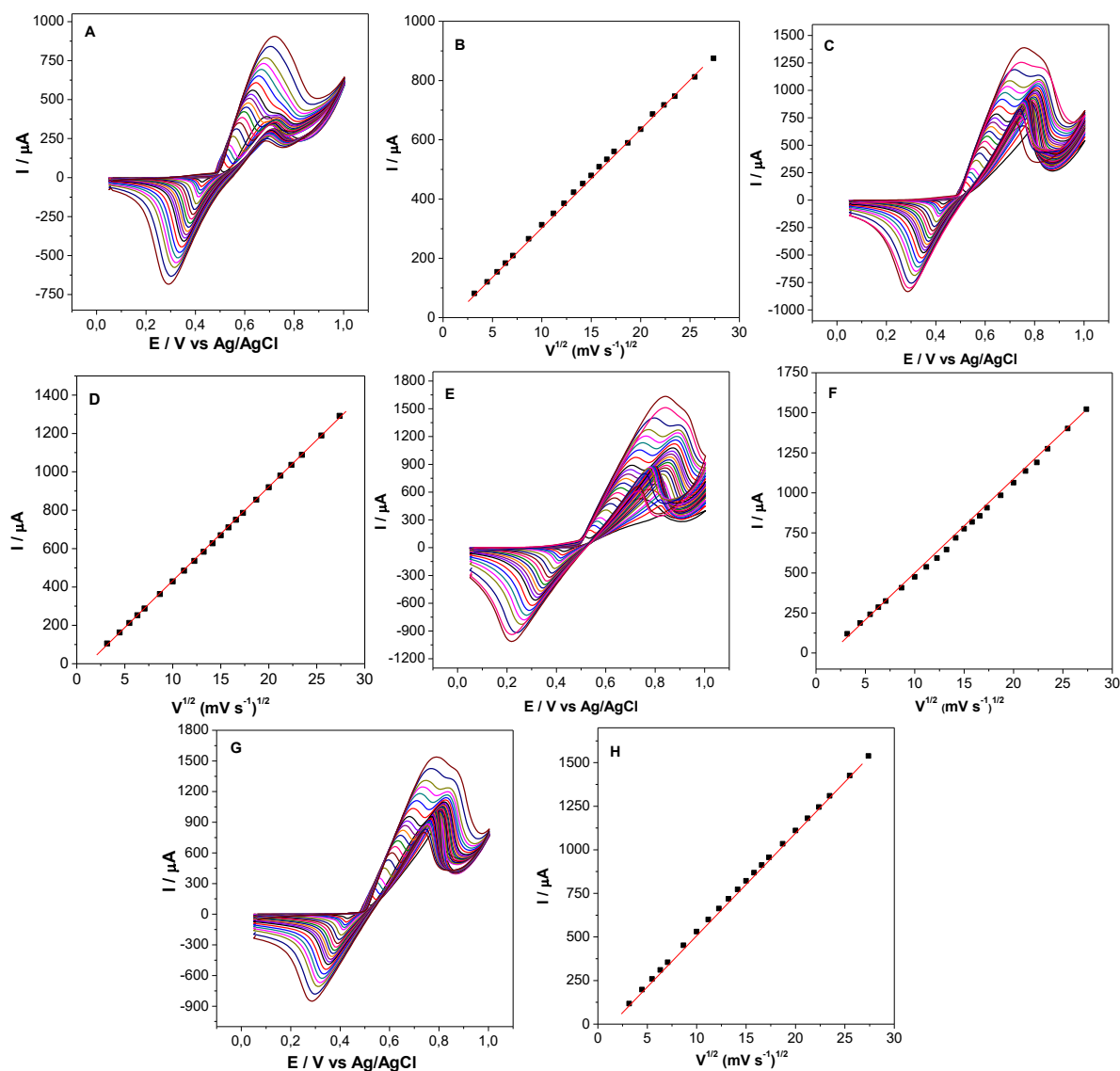


Figura 31 - Voltamogramas do estudo da velocidade de varredura: (A) BHT; (C) TBP; (E) BMP e (G) BPA. Efeito da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) nas correntes de picos anódicos do GCE/rGO-NiNPs em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, antioxidantes $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 10: Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares de corrente de pico anódica e raiz quadrada da velocidade, para os antioxidantes BHT, TBP, BMP e BPA, obtidas a partir da Figura 31.

Antioxidante	Faixa linear (mV s^{-1}) ^{1/2}	Eq. da regressão linear	Coef. de correlação
BHT	3,2 a 27,4	$y = 2,9 \times 10^{-4}x + 7,2 \times 10^{-6}$	0,999
TBP		$y = 6,9 \times 10^{-4}x + 1,8 \times 10^{-5}$	0,998
BMP		$y = 8,5 \times 10^{-4}x + 1,5 \times 10^{-5}$	0,994
BPA		$y = 5,0 \times 10^{-4}x + 3,2 \times 10^{-5}$	0,995

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.5. Estudos da concentração de antioxidantes

Foram realizados estudos de variação da concentração dos antioxidantes no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-5}$ a $8,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ por voltametria cíclica, utilizando GCE/rGO-NiNPs em 0,1 mol L⁻¹ de NaOH, a 50 mV s⁻¹. A Figura 32-A apresenta os voltamogramas do estudo de concentração do BHT, observou-se um comportamento linear no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ a $1,6 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, segundo a equação da regressão $I_{pa} = 6,1 \times 10^{-4}x + 3,1 \times 10^{-5}$, com coeficiente de correlação 0,999 (Figura 32-B).

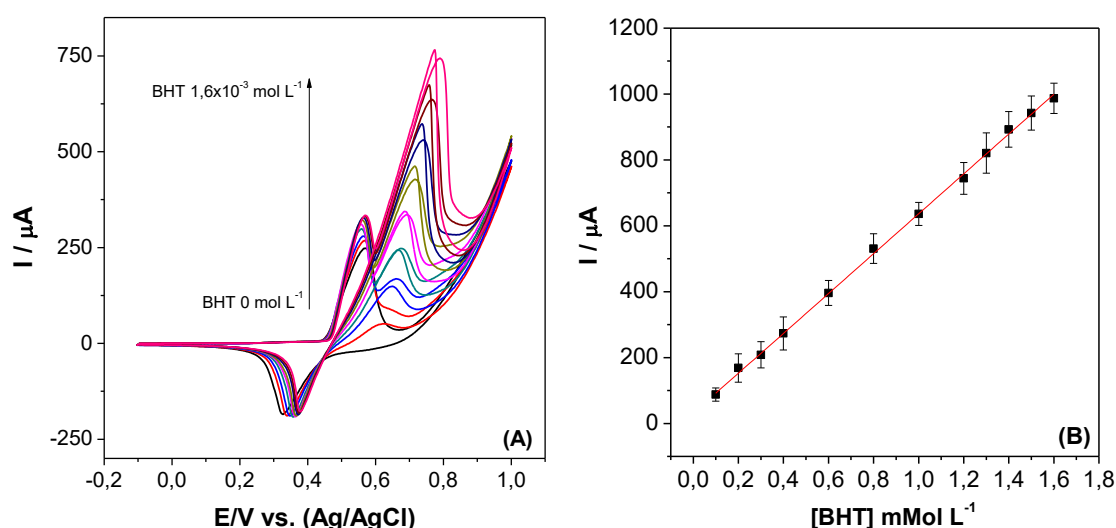


Figura 32 - (A) Voltamogramas cíclicos dos estudos de concentração de BHT sobre o GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹, velocidade 50mV s⁻¹. (B) Curva analítica para BHT, n=3. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

A Figura 33-A apresenta os voltamogramas da variação da concentração de TBP em NaOH 0,1 mol L⁻¹, utilizando o GCE/rGO-NiNPs. Os resultados mostram que o comportamento é linear no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ a $1,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, segundo a equação da regressão $I_{pa} = 6,4 \times 10^{-4}x + 6,5 \times 10^{-5}$, por meio da qual se obteve coeficiente de correlação 0,997 (Figura 33-B).

Os voltamogramas da Figura 34-A demonstram que a variação da concentração de BPA em NaOH 0,1 mol L⁻¹, utilizando o GCE/rGO-NiNPs, também apresenta comportamento linear. O intervalo de concentração foi de $1,0 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, segundo a equação da regressão $I_{pa} = 8,7 \times 10^{-4}x + 4,9 \times 10^{-6}$, de coeficiente de correlação 0,998 (Figura 34-B). Concentrações acima desses valores

apresentaram desvio da linearidade, provavelmente em razão de processos de adsorção de produtos de oxidação.

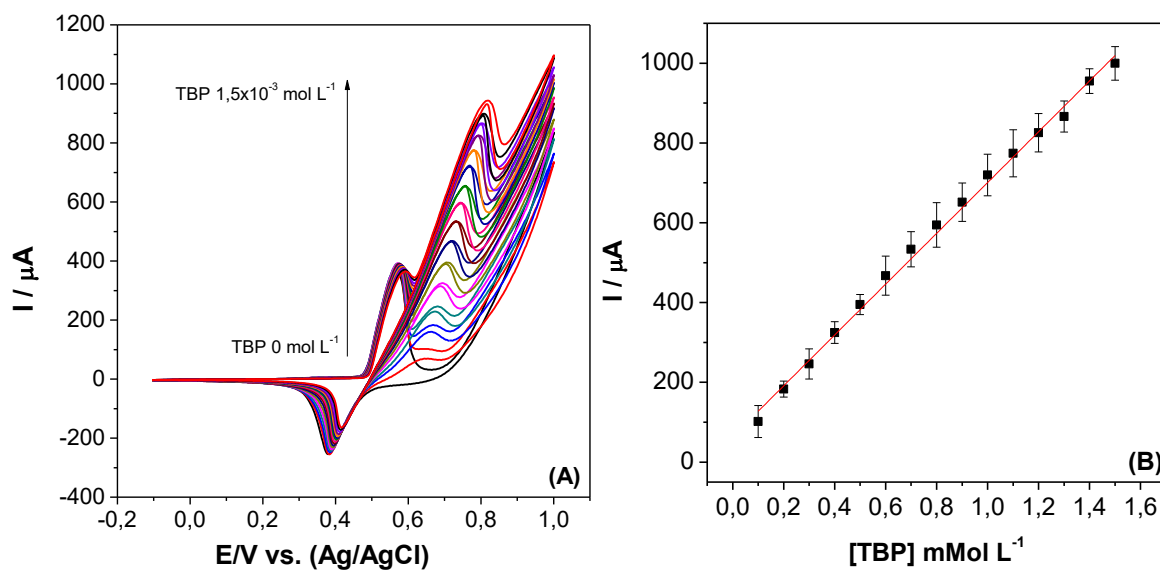


Figura 33 - (A) Voltamogramas cíclicos dos estudos de concentração de TBP sobre o GCE/rGO-NiNPs em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade 50 mV s^{-1} . (B) Curva analítica para TBP, $n=3$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

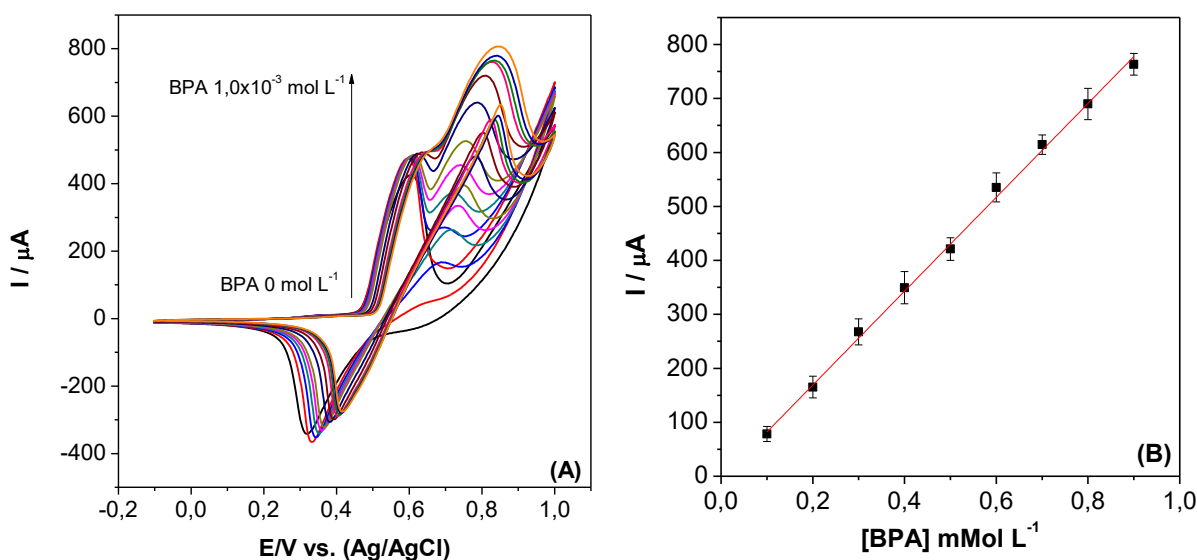


Figura 34 - (A) Voltamogramas cíclicos dos estudos de concentração de BPA sobre o GCE/rGO-NiNPs em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade 50 mV s^{-1} . (B) Curva analítica para BPA, $n = 3$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Um estudo da concentração de BMP em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ também foi realizado, utilizando GCE/rGO-NiNPs. A Figura 35-A apresenta os voltamogramas, após sucessivas adições do antioxidante, observa-se um comportamento linear no

intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ a $1,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, segundo a equação da regressão $I_{pa} = 6,3 \times 10^{-4}x + 1,8 \times 10^{-6}$, e coeficiente de correlação 0,997 (Figura 35-B).

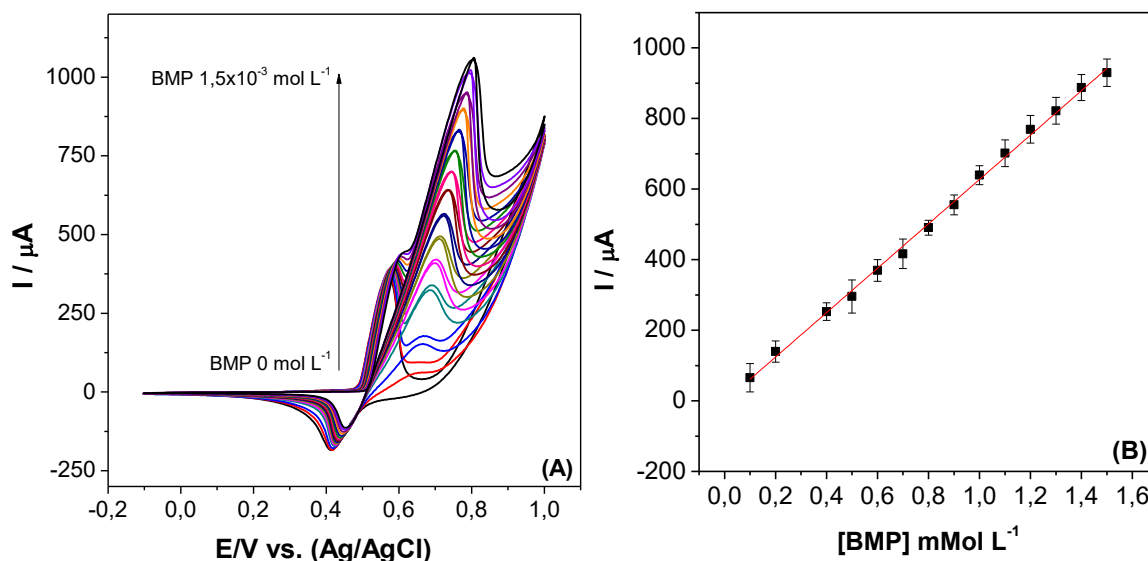


Figura 35 - (A) Voltamogramas cíclicos dos estudos de concentração de BMP sobre o GCE/rGO-NiNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹, velocidade 50mV s⁻¹. (B) Curva analítica para BMP, n = 3. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.6. Resposta amperométrica dos antioxidantes em GCE/rGO-NiNPs

Visando a proposição do GCE/rGO-NiNPs como detector em HPLC, foram realizados estudos de amperometria para estudo da resposta do eletrodo modificado frente aos antioxidantes: BHT, BPH, BPA e BMP em meio NaOH 0,1 mol L⁻¹. Os estudos foram realizados no modo pulsado, com o objetivo de regeneração da superfície do eletrodo após oxidação dos compostos de interesse.

Uma sequência de pulsos de potencial foi empregada, com pulsos sucessivos e alternados de 0,75 V (vs. Ag/AgCl) por 0,1 s para a oxidação dos analitos; 0,40 V (vs. Ag/AgCl) por 0,1 s para a regeneração da superfície do eletrodo, sob agitação mecânica da solução. A sequência de pulsos foi adotada com base nos estudos de voltametria cíclica, em que os antioxidantes são oxidados em potenciais próximo a 0,70 V e em potenciais de 0,40 V ocorre a redução das espécies Ni³⁺ para Ni²⁺.

Utilizando o GCE/rGO-NiNPs nas condições otimizadas, foram feitas sucessivas adições de BHT, TBP, BPA e BMP, em NaOH 0,1 mol L⁻¹ sob agitação mecânica, utilizando a técnica de amperometria pulsada com a sequência de pulsos

0,75 V e 0,40 V (vs. Ag/AgCl) por 0,1 s. A Figura 36 mostra os amperogramas e a relação entre corrente e concentração dos antioxidantes, sendo observado uma relação linear da resposta amperométrica para cada composto estudado. Na Tabela 11 são apresentados os parâmetros analíticos: intervalo linear; limite de detecção; sensibilidade e coeficiente de correlação.

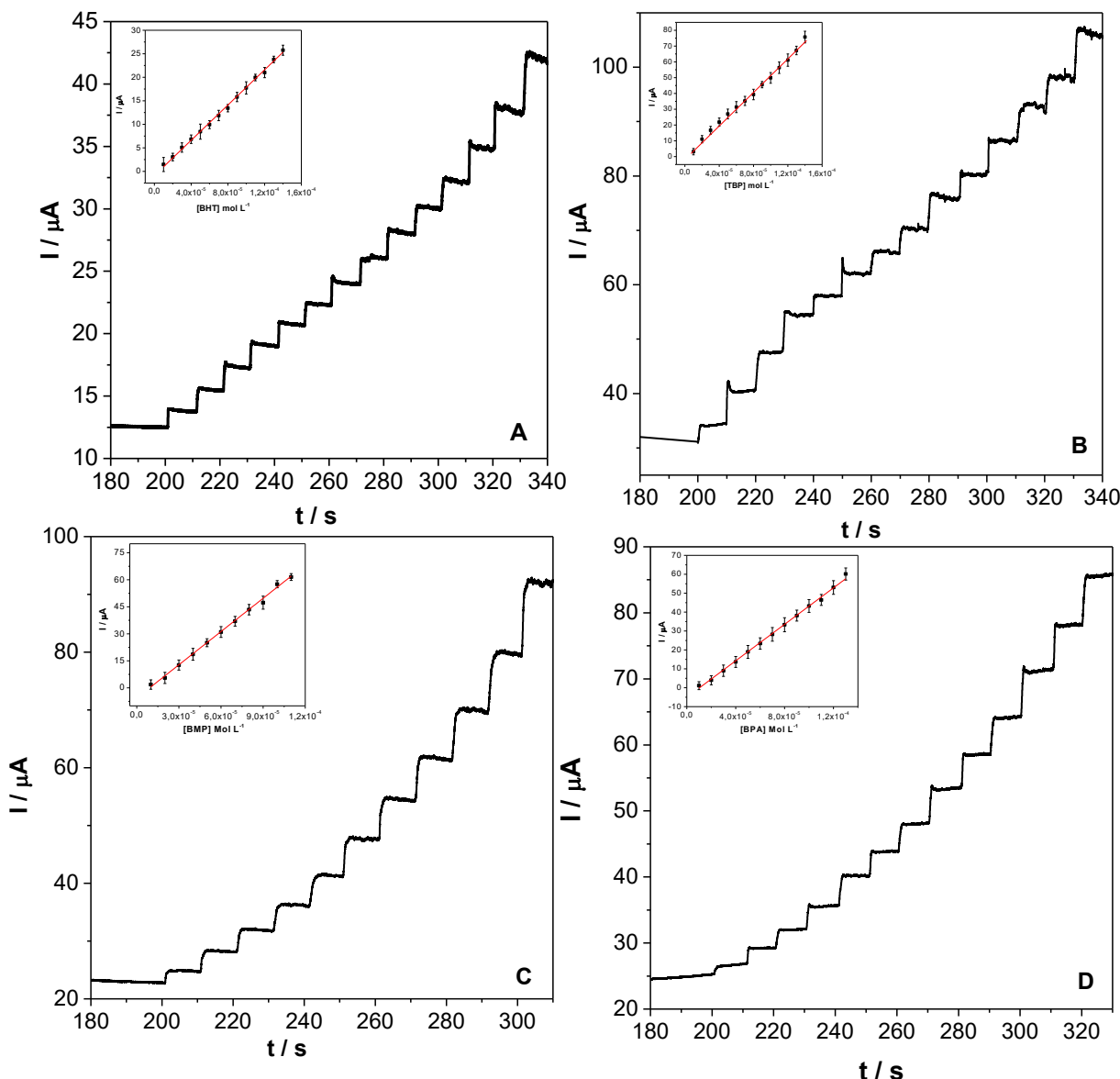


Figura 36 - Amperogramas de adições sucessivas de: (A) BHT; (B) TBP; (C) BMP e (D) BPA, em NaOH 0,1 mol L^{-1} , utilizando GCE/rGO-NiNPs, potencial constante de 0,75 V sob agitação. Gráficos da corrente em função da concentração para os respectivos antioxidantes, inseridos. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 11: Figuras de mérito para os antioxidantes utilizando a técnica de amperometria pulsada com eletrodo de GCE/rGO-NiNPs. n=3

Antioxidante	Faixa linear (mol L ⁻¹)	LD (mol L ⁻¹)	SA (μA mol ⁻¹ L)	r ²	RSD (%)
BHT	1,0x10 ⁻⁵ a 1,4x10 ⁻⁴	2,6x10 ⁻⁶	1,8x10 ⁵	0,997	2,5
TBP	1,0x10 ⁻⁵ a 1,4x10 ⁻⁴	6,6x10 ⁻⁶	5,2x10 ⁵	0,995	2,0
BPA	1,0x10 ⁻⁵ a 1,3x10 ⁻⁴	5,2x10 ⁻⁶	4,8x10 ⁵	0,996	3,6
BMP	1,0x10 ⁻⁵ a 1,1x10 ⁻⁴	1,0x10 ⁻⁶	6,1x10 ⁵	0,997	1,8

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.7. Comportamento cromatográfico

Visando a otimização das condições experimentais em RP-HPLC, foi utilizada uma coluna C18, e a fase móvel utilizada foi composta por acetonitrila/água e ácido acético, definida com base nos estudos para os mesmos antioxidantes, Capítulo V. Uma bomba pós-coluna foi usada com hidróxido de sódio para manter a força iônica no detector constante.

A fim de verificar o comportamento eletroquímico do GCE/rGO-NiNPs nas condições cromatográficas, realizou-se uma voltametria cíclica, em fluxo, no HPLC no intervalo de potencial de 0 a 0,55 V (vs. Pd), Figura 37. Foi utilizado como eletrólito, a fase móvel composta pela mistura de acetonitrila/água (90:10 v/v) com fluxo de 0,5 mL min⁻¹; e NaOH 0,30 mol L⁻¹ (bomba pós coluna) com fluxo de 0,3 mL min⁻¹. Com base no voltamograma da Figura 37, e no comportamento voltamétrico dos antioxidantes (Figura 30), é possível inferir que a oxidação dos antioxidantes BHT, BPH, BPA e BPM deve ocorrer na região de potencial compreendida entre 0,45 e 0,55 V vs. Pd.

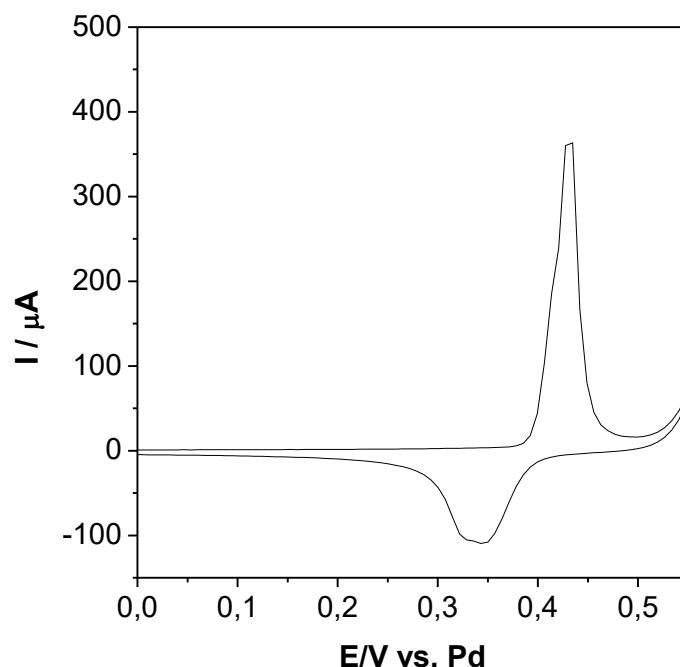


Figura 37 - Voltamograma cíclico obtido em fluxo (HPLC), empregando como eletrólito acetonitrila:água (90:10% v/v) com fluxo 0,5 ml min⁻¹; e NaOH 0,30 mol L⁻¹ (pós coluna), fluxo de 0,3 mL min⁻¹. Utilizando GCE/rGO-NiNPs, no intervalo de potencial 0 a 0,55 V e velocidade 50 mV s⁻¹. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.8. Otimização do sistema de detecção cromatográfica

A detecção amperométrica dos antioxidantes, empregando o GCE/rGO-NiNPs, foi realizada aplicando uma sequência de pulsos, a fim de evitar a adsorção de produtos de oxidação, que podem interferir na resposta eletroquímica. Os estudos foram conduzidos empregando detecção amperométrica pulsada (PAD).

No método desenvolvido, foi utilizado uma sequência de quatro potenciais, baseada nas respostas do eletrodo modificado (Figura 37) e dos antioxidantes (Figura 30). O primeiro pulso de potencial ($E_1 = 0,40$ V por 300 ms) foi utilizado para condicionar o GCE/rGO-NiNPs (200 ms) e medir a oxidação dos analitos (100 ms). O segundo pulso de potencial ($E_2 = -0,10$ V por 50ms) foi empregado para redução total das espécies na superfície do eletrodo. O terceiro pulso de potencial ($E_3 = 0,75$ V por 100ms) foi aplicado para oxidar as espécies de níquel na superfície do eletrodo e formação de espécies NiOOH, responsáveis por catalisar a oxidação dos analitos. Por último, o quarto pulso de potencial ($E_4 = 0,40$ V por 200ms) foi utilizado para estabilizar e restabelecer o sinal eletroquímico do eletrodo, para posterior oxidação dos antioxidantes (Figura 38).

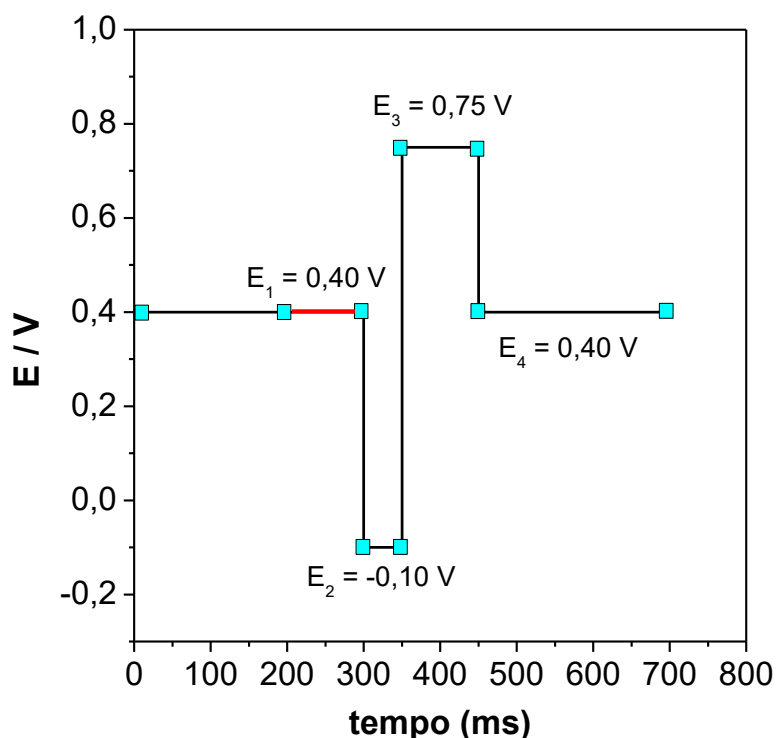


Figura 38: Sequência de pulsos aplicada na detecção amperométrica dos antioxidantes. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.9. Otimização da separação cromatográfica

As condições de separação cromatográfica foram otimizadas com sistema de eluição isocrática, visando maximizar a resposta eletroanalítica. O detector empregado foi o GCE/rGO-NiNPs, e a técnica amperometria pulsada. As condições experimentais foram otimizadas: composição e fluxo da fase móvel, parâmetros referentes ao detector e coluna cromatográfica. Esses estudos levaram em consideração fatores como: resolução, simetria, sensibilidade e tempo de retenção dos picos.

A proporção de acetonitrila:água (ACN:H₂O) na fase móvel foi investigada, variando-se de 70:30 (v/v); 80:20 (v/v); 90:10 (v/v) a 100% ACN (Figura 39-A). Os resultados indicaram que uma fase móvel constituída de 100% de acetonitrila não possibilita a separação total de todos os antioxidantes, os picos foram eluídos em tempos de retenção muito próximos. A medida que a força eluente foi diminuída pela adição de água, houve uma melhora na separação entre os picos. Um aumento do teor de água na fase móvel para 20%, possibilitou uma boa separação dos quatro antioxidantes, e uma melhora significativa na resposta do detector, em termos de área

dos picos. Quantidades de água mais elevadas resultaram em picos muito bem separados e simétricos, todavia, a resposta do detector diminuiu bastante, indicando que os compostos estavam mais retidos na coluna, Figura 39-B. Cabe destacar, que houve um aumento significativo no tempo de retenção dos antioxidantes à medida que a quantidade de água na fase móvel foi aumentada. Portanto, a composição da fase móvel foi estabelecida como 80:20 (ACN:H₂O v/v), em razão de características como: melhor separação dos picos, menor tempo de retenção, e maior intensidade de corrente.

Visando melhorar a resolução e sensibilidade, foram realizados estudos com a adição de ácido acético, entre 0,5 a 1,5% na fase móvel (Figura 40-A). Esses resultados demonstraram pouca influência na resposta do detector, principalmente quando em baixos teores. Todavia, 1,0% de ácido acético promoveu uma melhora na separação dos antioxidantes, no que se refere a simetria dos picos e intensidade de corrente (Figura 40-B). Valores acima de 1,0% ocasionaram uma diminuição da corrente e alargamento dos picos, optando-se, portanto, por adicionar 1,0% de ácido acético na fase móvel.

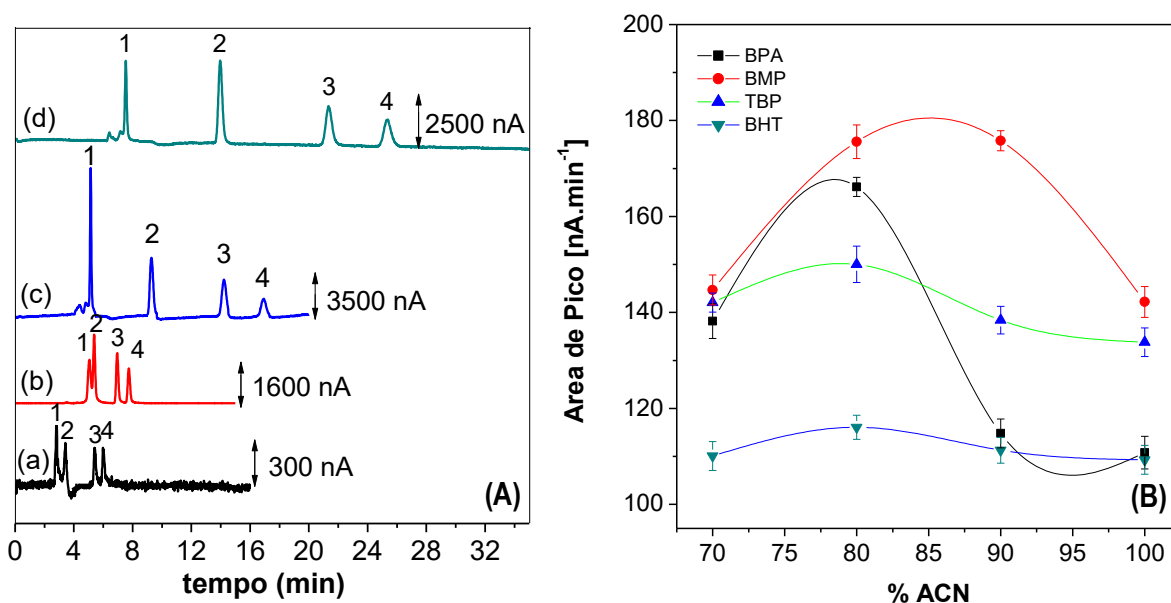


Figura 39 - (A) Cromatogramas do estudo de composição da fase móvel ACN:H₂O: (a- 100% ACN), (b- 90:10 v/v), (c- 80:20 v/v) e (d- 70:30 v/v). (B) Relação ACN:H₂O versus área de pico para diferentes composições da fase móvel. Coluna C18, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

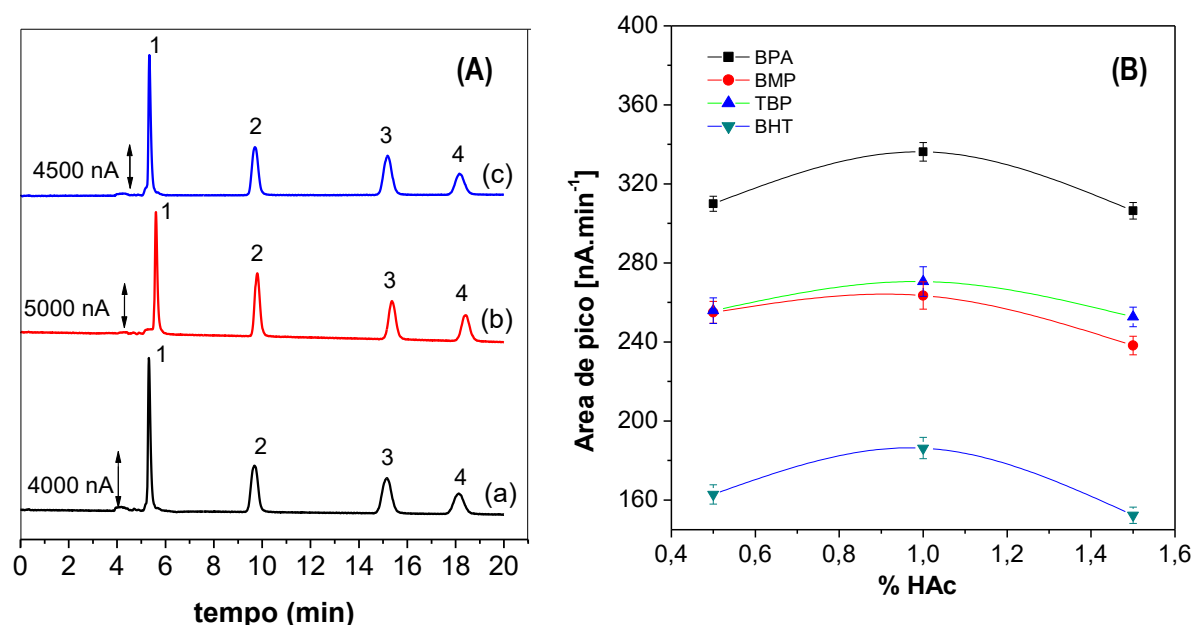


Figura 40 - (A) Cromatogramas obtidos para o estudo do teor de ácido acético na fase móvel, variação de (a) 0,5 a (c) 1,5% (a até c). (B) Relação entre área de pico versus teor de ácido acético. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Para manter constante a força iônica no detector amperométrico, uma solução de NaOH foi empregada. Nesse sentido, realizou-se um estudo da concentração dessa solução que passa pelo detector (pós-coluna). Os cromatogramas da Figura 41-A demonstram uma pequena influência dessa concentração, que pode ser observada pela distorção em alguns picos, e em alguns casos, uma dificuldade de estabilizar a linha de base dos cromatogramas. Outro fator investigado diz respeito a influência desse fator na área dos picos, como mostra a Figura 41-B, concentrações de 0,1 e 0,2 mol L⁻¹ produzem áreas de pico bem menores. O valor de concentração ótimo de NaOH foi 0,3 mol L⁻¹.

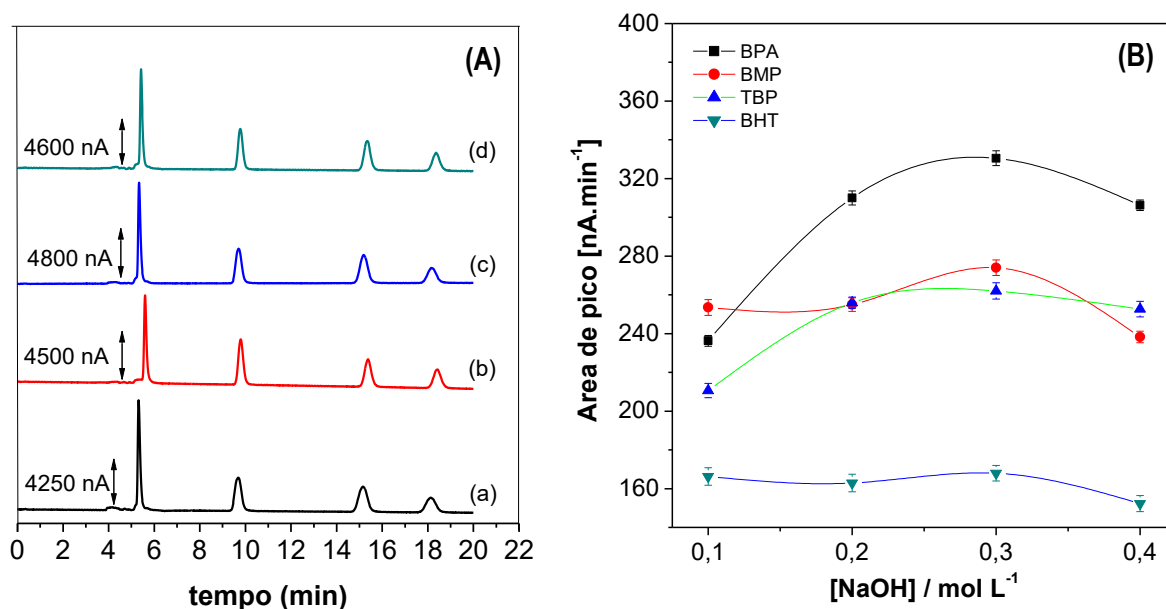


Figura 41: (A) Cromatogramas referentes ao estudo de concentração de NaOH (pós-coluna), variação de (a) 0,1 mol L⁻¹ a (d) 0,4 mol L⁻¹. (B) Relação entre área de pico dos antioxidantes e concentração de NaOH. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Estudos de velocidade da fase móvel foram realizados, a fim de verificar o efeito desse parâmetro sobre os tempos de retenções. Os cromatogramas da Figura 42-A demonstram que fluxos muito baixos resultam em uma ótima separação entre os picos, todavia com tempos prolongados de análise. Fluxo de 0,2 mL min⁻¹ resultou uma separação cromatográfica superior a 25 minutos, enquanto que fluxo de 0,3 mL min⁻¹ a separação completa ocorreu em 18 minutos, Figura 42-B. Fluxos mais elevados, 0,5 e 0,6 mL min⁻¹ também possibilitaram uma excelente separação entre os picos dos antioxidantes, no entanto, verificou-se uma diminuição significativa na área dos picos, Figura 42-C. Portanto, o fluxo mais adequado foi o de 0,4 mL min⁻¹, que garantiu uma excelente separação entre os picos dos antioxidantes, com tempo de análise inferior a 15 minutos, e resposta satisfatória em termos de área dos picos.

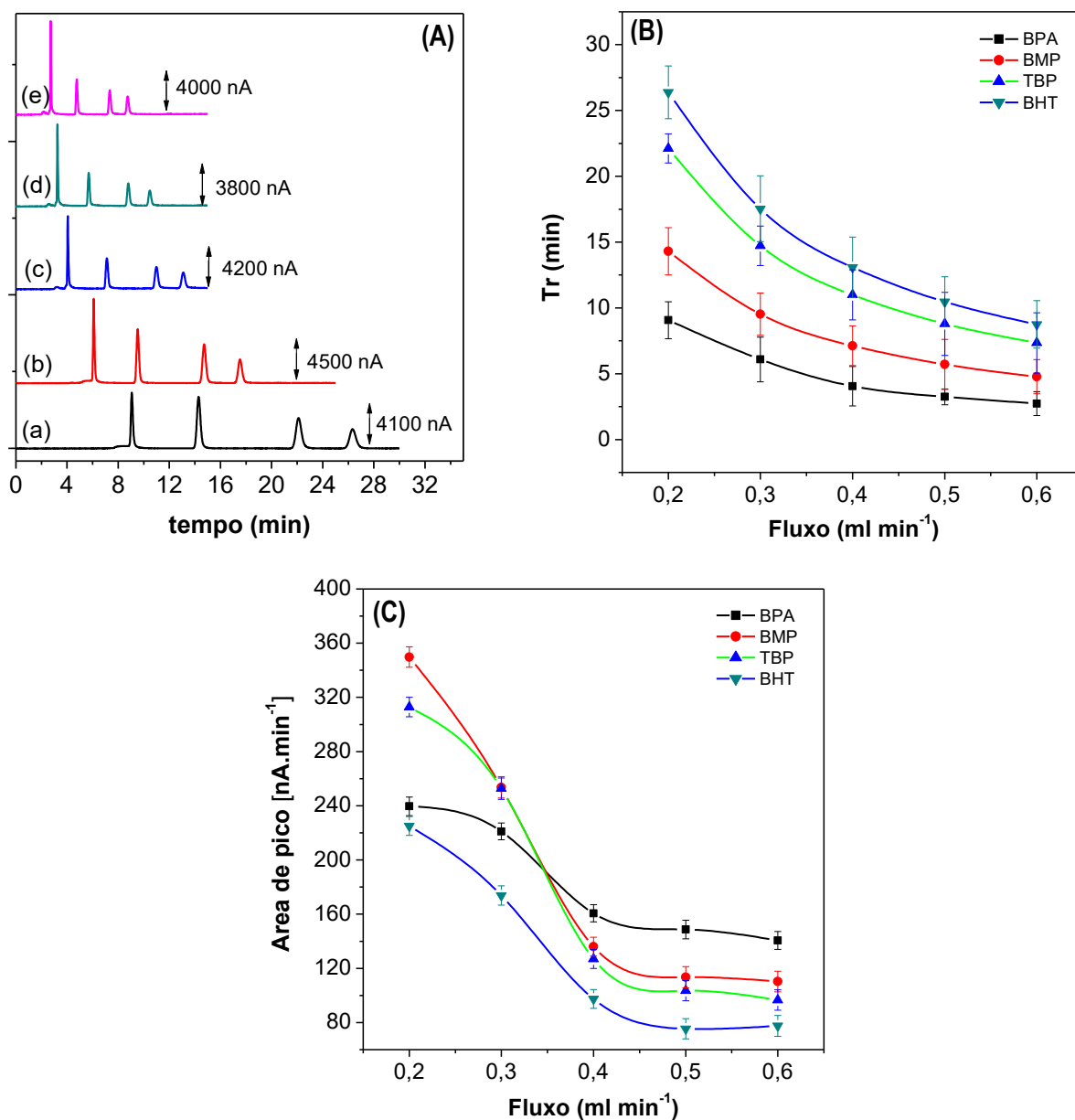


Figura 42: (A) Cromatogramas referentes ao estudo do fluxo da fase móvel, variando de (a) 0,2 a (e) 0,6 mL min⁻¹. (B) Relação entre tempo de retenção e fluxo. (C) Relação entre área de pico e fluxo. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAC 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Foram realizados estudos para verificar a influência da temperatura do forno da coluna e do detector na separação cromatográfica, em termos de tempo de retenção e área dos picos. Esses estudos indicaram pouca influência no tempo de retenção dos analitos. No entanto, como observado na Figura 43-A, houve uma variação significativa nas áreas dos picos, temperaturas abaixo e acima de 30°C apresentaram menor resposta (em termos de corrente), o que sugere que essas temperaturas influenciam na interação dos antioxidantes com a coluna cromatográfica

(podendo estar mais ou menos retidos), esse estudo apontou a temperatura de 30°C como valor ótimo. Do mesmo modo, também se verificou uma influência expressiva da temperatura no detector, o estudo demonstrou que temperaturas de 25 e 40°C apresentam valores de corrente muito baixos, quando comparado a 35°C, sendo este último o valor ótimo de temperatura (Figura 43-B). Portanto, a eluição e detecção dos compostos ocorreu sob condições ótimas de 30 ° C (coluna) e 35 ° C (detector).

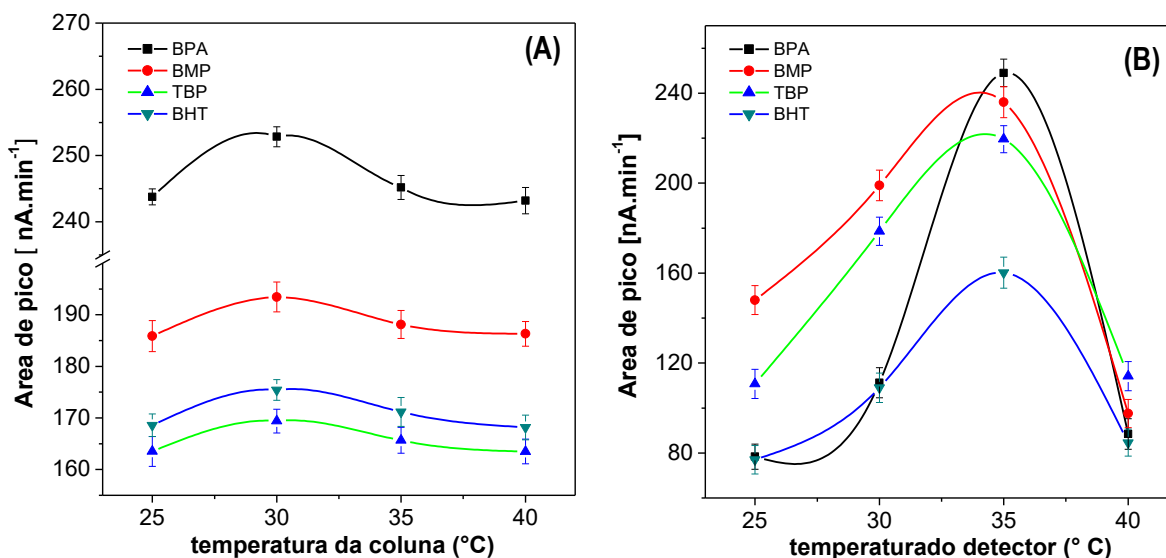


Figura 43 - Estudos de temperatura para: (A) Coluna, variando de 25 a 40°C; (B) Detector, variando de 25 a 40°C. Condições experimentais: coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

A fim de obter a melhor resposta do GCE/rGO-NiNPs como detector amperométrico em HPLC para os antioxidantes, foram estudados cinco potenciais de detecção, entre 0,30 e 0,55 V vs. Pd, Figura 44-A. Os resultados obtidos demonstraram que potenciais muito baixos (<0,40 V) foram insuficientes para oxidar os compostos de interesse, resultando em picos mais largos e com baixa resolução. Semelhantemente, quando valores de potenciais de detecção maiores (>0,45 V) foram empregados, observou-se uma diminuição na resposta do detector, e a resolução dos picos dos antioxidantes foi prejudicada, Figura 44-B. Com base nesses estudos, observou-se que o valor ótimo de potencial foi 0,45 V, sendo escolhido para os demais estudos.

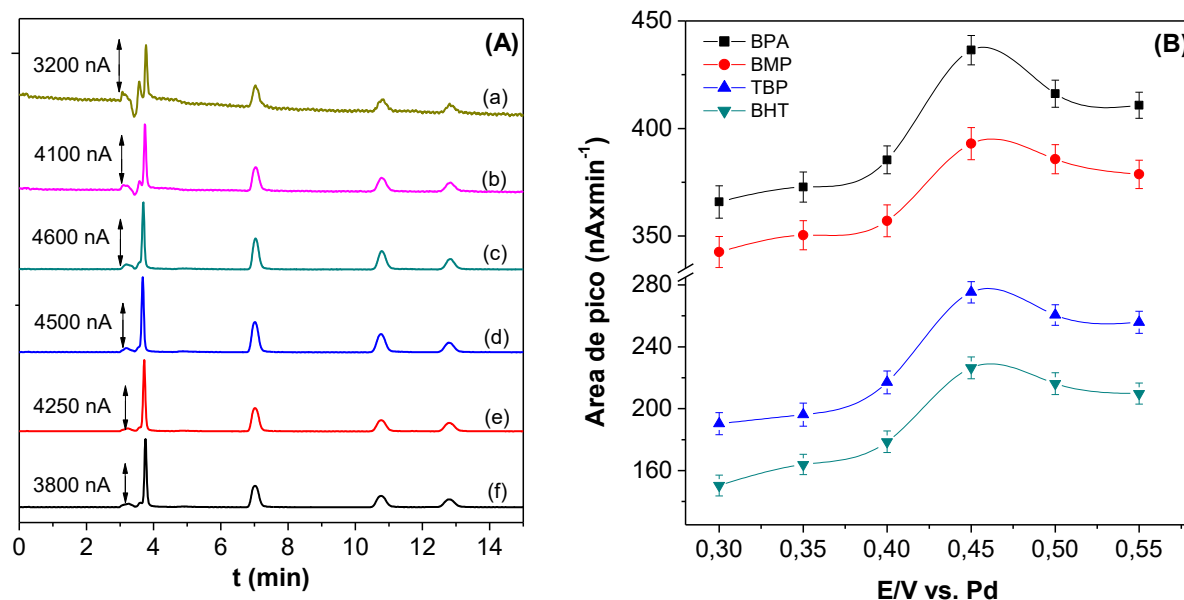


Figura 44: (A) Cromatogramas referente ao estudo de potencial de detecção dos antioxidantes (a- 0,30 até f- 0,55 V), fase móvel ACN:H₂O (80:20 v/v) e HAc 1,0%, fluxo 0,3 ml min⁻¹, NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós-coluna). (B) Relação da área de pico versus potencial de detecção empregado. Coluna C18. Detetor: GCE/rGO-NiNPs. t_{coluna} 30°C e t_{detetor} 35°C. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Após otimizadas as condições cromatográficas, as identidades dos picos foram confirmadas por meio de corridas cromatográficas, injetando cada antioxidante individualmente. Em geral, a sequência de eluição dos componentes da matriz é relativo ao valor do pKa, ao número de grupos ionizáveis presentes na estrutura e polaridade dos compostos. Os antioxidantes apresentam valores próximos de pKa, que variam entre 11 a 12,75, e estruturas bastante similares em termos de grupos ionizáveis, características que podem explicar a relativa dificuldade na separação seletiva destes compostos. Todavia, as condições otimizadas por cromatografia de fase reversa possibilitaram uma excelente separação dos quatro antioxidantes, em que a ordem de eluição foi: BPA ($t_r = 3,81$ min), BMP ($t_r = 7,28$ min), TBP ($t_r = 11,43$) e BHT ($t_r = 13,67$), Figura 45.

Os parâmetros cromatográficos: tempo de retenção, tempo de retenção ajustado, resolução, fator de retenção e fator de separação foram calculados, os dados podem ser vistos na Tabela 12. Os valores de resolução obtidos demonstram valores entre 1,45 e 1,60, os quais são muito satisfatórios, considerando que a faixa aceitável é de 1,0 a 2,0 [155]. Os fatores de retenção apresentaram valores entre 1,01 e 3,55, esses valores são adequados considerando que a faixa aceitável é de 1 a 10 [156]. A resolução de dois picos depende do fator de separação, fator de retenção e número de pratos teóricos (N), e caracteriza a eficiência da coluna, esta eficiência é

otimizada quando N é maximizado [155,156]. Com base nesses parâmetros, os resultados obtidos estão dentro do esperado para um bom desempenho cromatográfico para todos os antioxidantes.

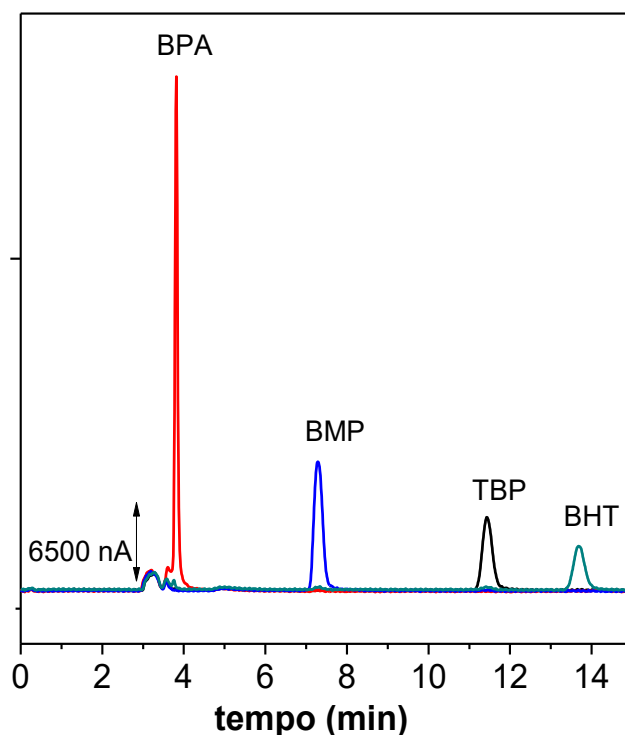


Figura 45 - Cromatogramas referente a injeção dos antioxidantes na fase móvel, em condições otimizadas. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,45 V vs Pd. t_{coluna} 30°C e t_{detector} 35°C. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 12 - Parâmetros cromatográficos para separação dos antioxidantes. Detector: GCE/rGO-NiNPs

Parâmetro	BPA	BMP	TBP	BHT
Tempo de retenção (min)	3,81	7,28	11,43	13,67
Tr ajustado (min)	0,81	4,21	8,23	10,67
Resolução	1,54	1,60	1,45	1,52
Número de pratos teóricos	11277	10508	13246	15471
Fator de retenção (k)	1,01	1,4	2,81	3,55
Fator de separação (α)	1,38	2,01	1,26	1.0

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.10. Curvas analíticas

Após a otimização das condições cromatográficas, curvas analíticas dos quatro antioxidantes foram construídas. Esse estudo foi realizado com soluções padrões dos compostos nas concentrações de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. A Figura 46-A mostra os cromatogramas obtidos em diferentes concentrações dos quatro compostos. Por meio deste estudo, observa-se um aumento proporcional das intensidades de pico com o aumento a concentração dos padrões. A Figura 46-B apresenta as curvas analíticas para os antioxidantes BPA, BMP, TBP e BHT. A partir desses estudos, foram obtidos os parâmetros analíticos para o método proposto (faixa linear, limite de detecção e sensibilidade), Tabela 13.

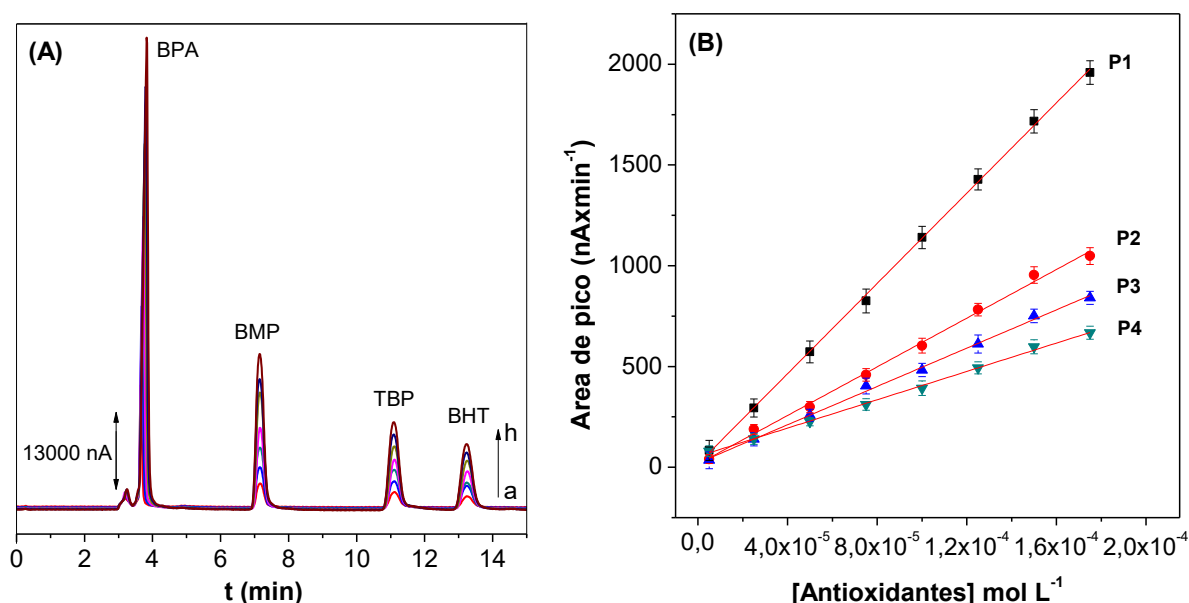


Figura 46 - (A) Cromatogramas dos antioxidantes para diferentes concentrações. (B) Relação das áreas de pico versus concentração dos antioxidantes: BPA, BMP, TBP e BHT. Coluna C18, fase móvel ACN:H₂O (80:20%, v/v), HAc 1%, Detector: GCE/rGO-NiNPs, E=0,45 V vs Pd. t_{coluna} 30°C e $t_{detector}$ 35°C. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 13: Figuras de mérito para os antioxidantes utilizando RP-HPLC-PAD e GCE/rGO-NiNPs. n=3

Antioxidante	Faixa linear (mol L ⁻¹)	LD (mol L ⁻¹)	SA (nA L mol ⁻¹)	r ²	RSD (%)
BPA	$5,0 \times 10^{-6}$ a $1,8 \times 10^{-4}$	$3,1 \times 10^{-7}$	$1,1 \times 10^7$	0,999	2,9
BMP		$7,1 \times 10^{-7}$	$6,0 \times 10^6$	0,997	3,6
TBP		$6,5 \times 10^{-7}$	$4,7 \times 10^6$	0,997	1,5
BHT		$5,1 \times 10^{-7}$	$3,5 \times 10^6$	0,998	1,2

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.1.11. Determinação dos antioxidantes em bioquerosene de aviação

O GCE/rGO-NiNPs foi utilizado como detector amperométrico em RP-HPLC na determinação de antioxidantes sintéticos em uma amostra de bioquerosene de aviação, obtida de uma indústria local. Segundo informações do fabricante, o bioquerosene foi obtido a partir do hidroprocessamento de açúcares fermentados. O preparo da amostra envolveu uma etapa de filtração para retirada de possíveis impurezas, seguido de uma simples diluição em acetonitrila. Foram realizadas diluições na ordem de 100 vezes em razão das características da amostra.

As análises foram efetuadas nas condições otimizadas, e a identificação dos picos foi baseada nos tempos de retenção, e confirmada por meio da adição das soluções padrões dos compostos. Os antioxidantes foram quantificados na amostra utilizando o método de adição de padrão, por meio de cinco níveis de concentração (Figura 47). A análise foi efetuada em triplicata, e as curvas de adição padrão foram obtidas em termos de área do pico em função da concentração adicionada. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 14, e indicaram a presença de três antioxidantes na amostra de bioquerosene: BMP, TBP e BHT. As concentrações obtidas foram: $3,1 (\pm 0,17) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (BMP); $2,9 (\pm 0,13) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (TBP) e $5,4 (\pm 0,17) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (BHT). O antioxidante BPA não foi detectado.

A validação do método foi realizada através de estudos de recuperação dos quatro antioxidantes. As recuperações médias variaram de 95,3 a 103,5%, e os desvios padrão relativos entre 2,3 e 4,5%, para todos os antioxidantes, Tabela 14.

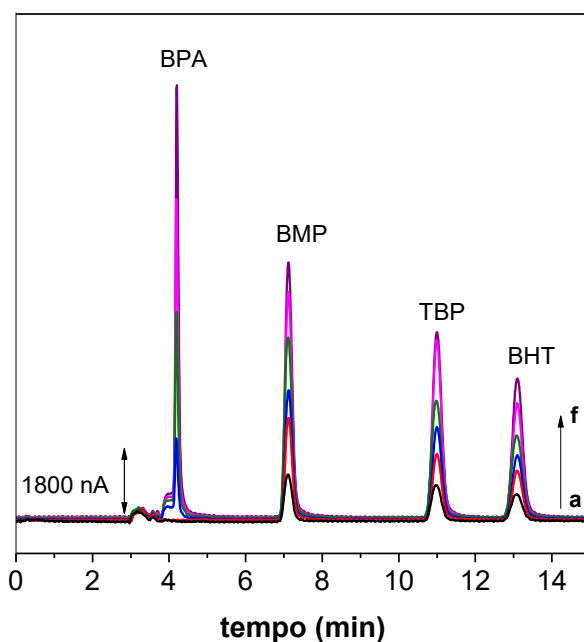


Figura 47 - Cromatogramas representativos da amostra de bioquerosene (diluição 1:100), antes e após adição dos padrões. Condições: coluna C18. Detector: GCE/rGO-NiNPs; fase móvel ACN:H₂O (80:20 v/v) e HAc 1,0%, fluxo 0,4 ml min⁻¹. E =0,45 V. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 14 - Valores de recuperação obtidos para o método empregado na quantificação de antioxidantes na amostra de bioquerosene por RP-HPLC-PAD. *n* = 3

Parâmetros	BPA	BMP	TBP	BHT
Conc. determinada (mol L ⁻¹)	-	$3,1 \times 10^{-5} \pm 1,7 \times 10^{-6}$	$2,9 \times 10^{-5} \pm 1,3 \times 10^{-6}$	$5,4 \times 10^{-5} \pm 1,6 \times 10^{-6}$
Quant. adicionada (mol L ⁻¹)	$5,5 \times 10^{-5}$	$7,5 \times 10^{-5}$	$1,5 \times 10^{-5}$	$5,0 \times 10^{-5}$
Recuperação (%)	96,7	98,2	95,3	103,5
RSD (n=3) (%)	2,3	3,1	2,6	4,5

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

6.2. CONCLUSÕES PARCIAIS

O eletrodo modificado (GCE/rGO-NiNPs), apresentou atividade eletrocatalítica para a eletro-oxidação de quatro antioxidantes (BHT, BPA, BMP e TBP). Um detector amperométrico para uso em HPLC de fase reversa foi desenvolvido visando a determinação dos antioxidantes em amostras de bioquerosene. O método cromatográfico empregou uma fase móvel composta de acetonitrila:água (80:20 v/v) e 1,0% de ácido acético, e possibilitou uma excelente separação de misturas dos quatro antioxidantes com sistema de eluição isocrática, em tempos inferiores a 15 minutos. O método desenvolvido apresentou limites de detecção: $3,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (BPA); $7,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (BMP); $6,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (TBP); $5,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (BHT). O GCE/rGO-NiNPs foi utilizado com sucesso como detector amperométrico em RP-HPLC-PAD para determinação de antioxidantes em bioquerosene, sendo possível quantificar três antioxidantes na amostra: $3,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (BMP); $2,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (TBP) e $5,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (BHT). O antioxidante BPA não foi detectado. Parâmetros tais como elevada sensibilidade, boas recuperações, sem interferência de outros compostos, indicam que o método pode ser utilizado para determinações rotineiras de antioxidantes em matrizes complexas, sem tratamento exaustivo da amostra.

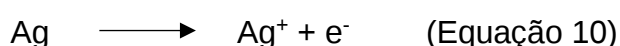
CAPÍTULO VII: DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE ANTIOXIDANTES EM BIOQUEROSENE DE AVIAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE FASE REVERSA, UTILIZANDO ELETRODOS MODIFICADOS COM ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO E NANOPARTÍCULAS DE PRATA

7.1. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1.1. Estudo eletroquímico das nanopartículas de prata sobre o eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido

O eletrodo de carbono vítreo foi modificado com uma suspensão de óxido de grafeno (OG) 0,5 mg mL⁻¹, preparada em solução de Na₂SO₄ 0,10 mol L⁻¹. A modificação foi realizada por cronoamperometria, a potencial constante de -1,5 V (vs. Ag/AgCl) por 500 s, condições previamente otimizadas (Capítulo VI).

Um estudo do comportamento eletroquímico do GCE/rGO foi realizado por CV em solução de AgNO₃ 1,0x10⁻³ mol L⁻¹, preparada em HNO₃ 0,1 mol L⁻¹, Figura 48. O voltamograma é caracterizado por um par de picos redox bem definido: na varredura catódica, o pico I, a 0,31 V vs Ag/AgCl, é atribuído à redução de Ag⁺ (Equação 9); na varredura anódica, o pico II, a 0,54 V vs Ag/AgCl, é atribuído a oxidação de Ag⁰ (Equação 10) [161,162]. Um ombro é observado depois do processo principal de redução, atribuído à redução de Ag²⁺ e deposição de Ag sobre nanopartículas de prata adsorvidas na superfície do eletrodo [162].



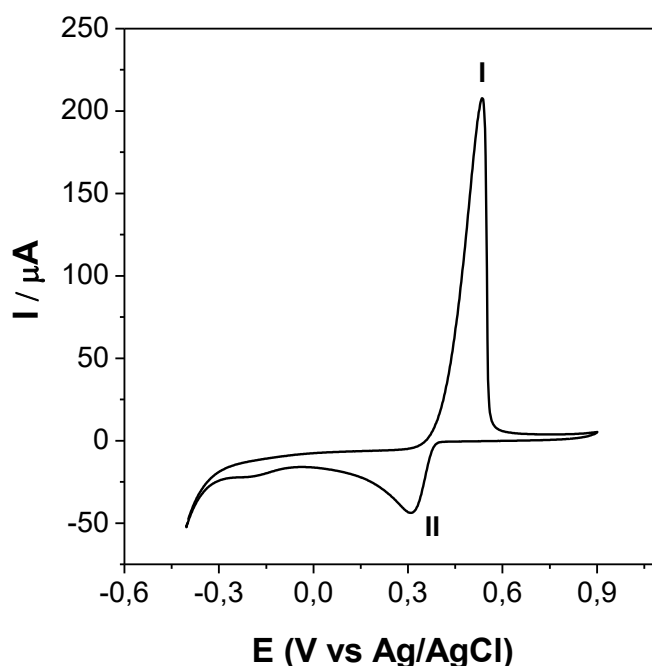


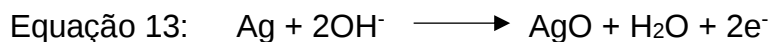
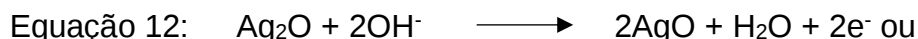
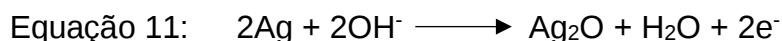
Figura 48 - Voltamograma cíclico do GCE/rGO em solução de AgNO_3 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade 50 mV s^{-1} . Fonte: elaborado pelo autor, 2019

O eletrodo de carbono vítreo foi modificado com uma suspensão de óxido de grafeno $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$, preparada em Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, por meio da aplicação de $1,5 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) por 500 s . Em seguida, os parâmetros que influenciam a formação das nanopartículas de prata foram otimizados: concentração de AgNO_3 e HNO_3 ; potencial e tempo de eletrodeposição da prata.

Com base nos estudos de voltametria cíclica (Figura 48), o GCE/rGO foi modificado com uma solução de AgNO_3 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para eletrodeposição de AgNPs, empregando a técnica de cronoamperometria a potencial constante $0,3 \text{ V}$ vs Ag/AgCl . Após a etapa de eletrodeposição, as AgNPs foram oxidadas em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, no intervalo de potencial de $-0,1$ a $0,9 \text{ V}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} (Figura 49, voltamograma após 30 ciclos). Em seguida o eletrodo foi lavado e seco a temperatura ambiente.

O voltamograma da Figura 49 é caracterizado por quatro picos principais: picos III e IV, observados na varredura anódica, a $0,38 \text{ V}$ e $0,75 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl ; e V e VI, registrados na varredura catódica, a $0,38 \text{ V}$ e $0,05 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl . Os picos III e IV, correspondem a formação de Ag_2O (Equação 11) e AgO (Equação 12 ou Equação 13), respectivamente. O pico catódico V, pode ser atribuído à redução de AgO para

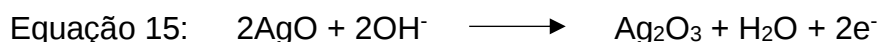
Ag₂O, e o pico catódico VI é devido à redução de Ag₂O para Ag⁰ na superfície do eletrodo [163,164].



O pico III tem uma estrutura composta de picos sobrepostos: O pico I, pode estar associado à formação de espécies de AgOH (Equação 14); e o pico II, a formação de uma monocamada de Ag₂O, que em seguida leva a formação de multicamadas desse óxido [163,165].



Um ombro após o pico IV foi observado, que pode estar associado a oxidação das espécies AgO, formando Ag₂O₃ (Equação 5). Um pequeno pico de oxidação, a 0,62V, apareceu durante a varredura catódica, mais provavelmente devido à oxidação de Ag₂O para AgO [165].



Para avaliar os parâmetros que influenciam a formação das nanopartículas, um estudo na ausência e presença do antioxidante BHT foi realizado, Figura 50. No voltamograma do GCE/rGO-AgNPs na presença de BHT observou-se um aumento bastante pronunciado na intensidade de corrente de pico, no potencial 0,38 V, que pode ser atribuída a oxidação do BHT. Portanto, este pico foi utilizado para avaliar a resposta do eletrodo frente aos parâmetros otimizados.

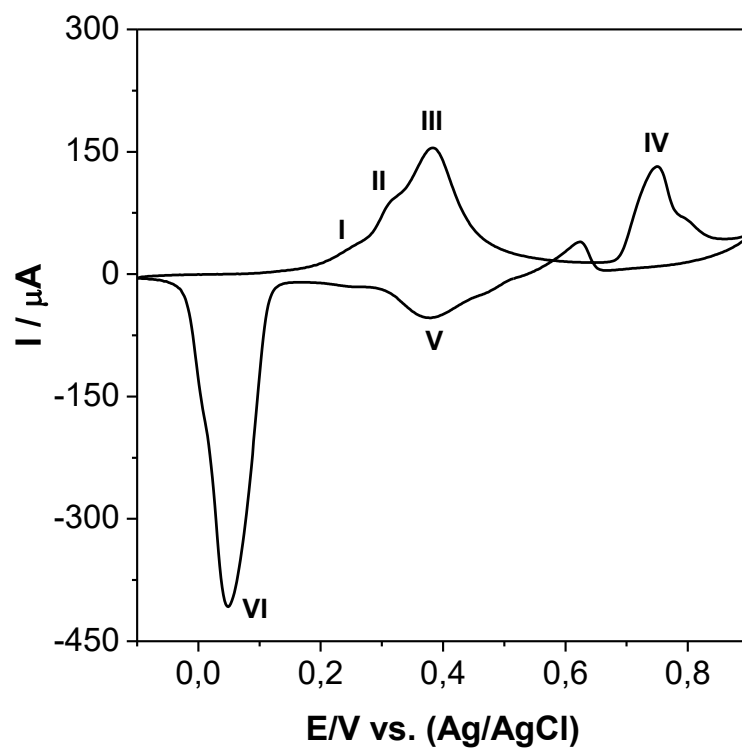


Figura 49 - Voltamograma cíclico do GCE/rGO-AgNPs em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

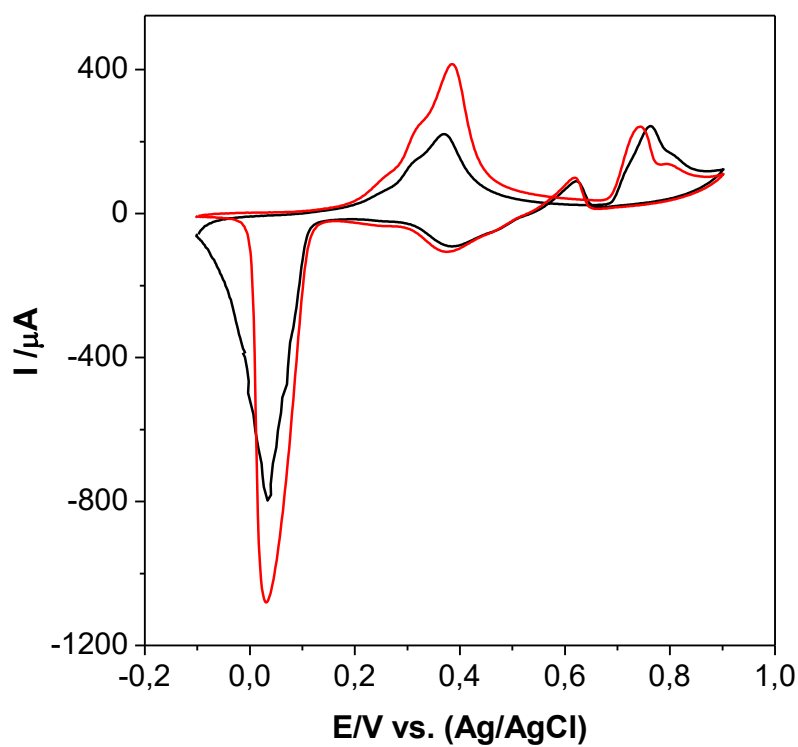


Figura 50 - Voltamogramas cíclicos referente a oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de BHT em $\text{NaOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ para GCE/rGO-AgNPs, na ausência (linha preta) e na presença (linha vermelha) do BHT. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

O primeiro parâmetro estudado foi o potencial de eletrodeposição das nanopartículas. A Figura 51-A mostra que a resposta do GCE/rGO-AgNPs para oxidação do BHT aumentou significativamente até o potencial de eletrodeposição 0,30 V, acima desse valor, a corrente diminuiu. Indicando, portanto, que até 0,30 V há formação de nanopartículas mais homogêneas e bem distribuídas; e em potenciais acima desse valor pode ocorrer a formação de aglomerados. Assim, o potencial de 0,30 V foi o escolhido para a eletrodeposição das nanopartícula de prata.

O tempo de eletrodeposição influencia diretamente na quantidade de nanopartículas depositadas na superfície do eletrodo. Esse parâmetro foi estudado, e os resultados da Figura 51-B demonstram aumento da corrente de pico até 60 s, seguido de um pequeno decréscimo e estabilização da corrente em tempos maiores. Esse comportamento pode ser decorrente da aglomeração das nanopartículas sobre a superfície do eletrodo.

Foram avaliados os efeitos das concentrações de AgNO_3 no intervalo de $1,0 \times 10^{-4}$ a $5,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, e de HNO_3 de $1,0 \times 10^{-3}$ a $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 51 (C) relaciona a concentração de AgNO_3 com a corrente de pico da oxidação de BHT, observa-se um aumento da corrente de oxidação até o valor de $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, indicando que à medida que a concentração do metal em solução aumenta, as nanopartículas estão mais dispersas na superfície do eletrodo, aumentando também a relação superfície/volume.

A Figura 51-D, relaciona a concentração do ácido nítrico com a resposta do eletrodo, observa-se um aumento do valor de corrente até $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, concentrações maiores apresentaram diminuição da corrente de oxidação do BHT. Os valores ótimos para a formação das nanopartículas de prata foram: AgNO_3 $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, preparada em HNO_3 $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, potencial de eletrodeposição 0,3 V, por 60 s.

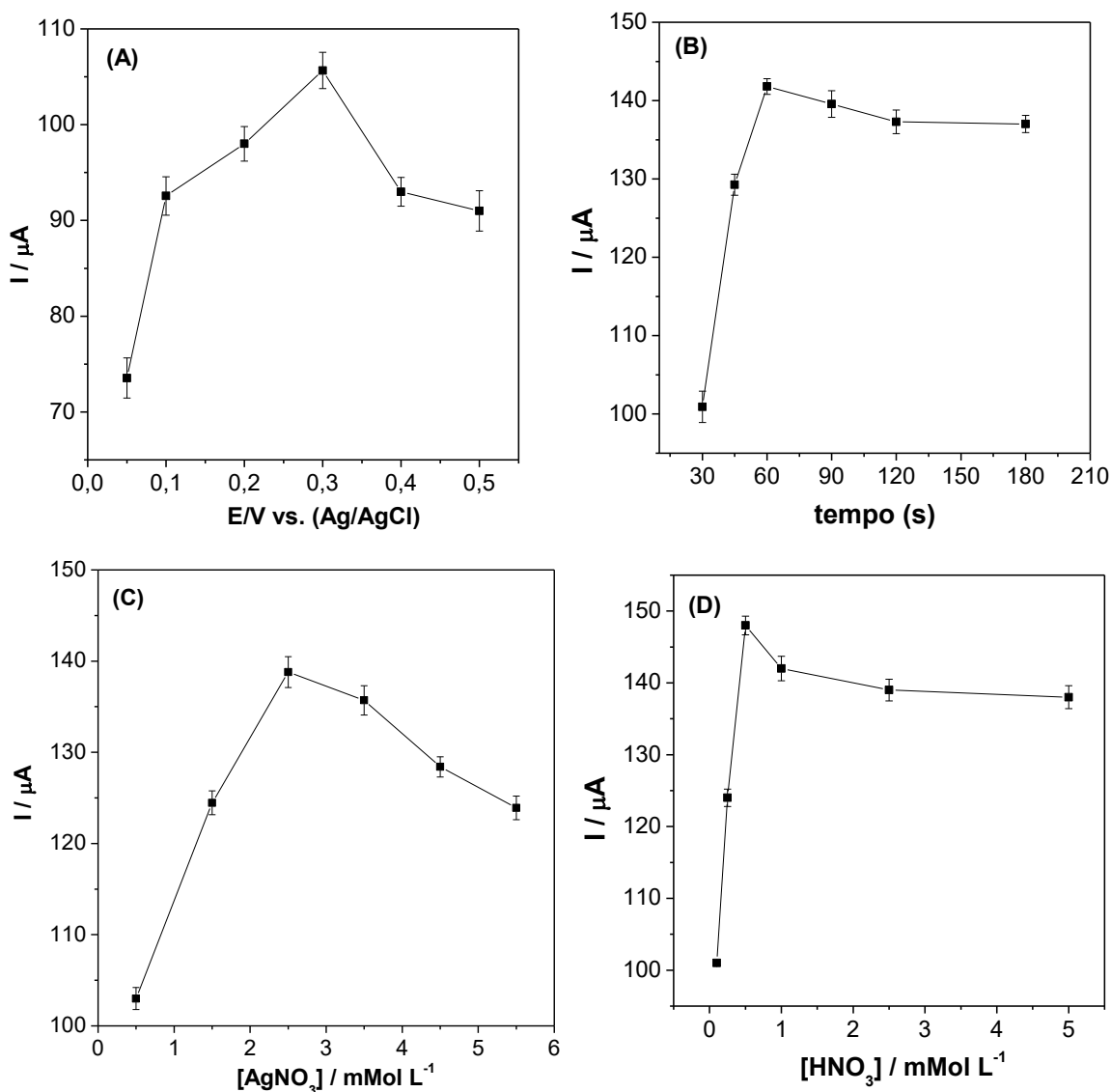


Figura 51 - Otimização da eletrodeposição das AgNPs sobre a superfície do GCE/rGO. (A) Resposta eletrocatalítica para BHT em função do potencial de eletrodeposição; (B) tempo de eletrodeposição; (C) Concentração de $AgNO_3$; (D) Concentração de HNO_3 . Fonte: elaborado pelo autor, 2019

A fim de verificar o comportamento da formação dos óxidos de prata na superfície do eletrodo, o efeito da velocidade de varredura no perfil do voltamograma foi avaliado. A Figura 52-A apresenta voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-AgNPs em solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, no intervalo de velocidade de varredura de 10 a 750 mV s^{-1} . Um aumento na velocidade de varredura de potencial não altera a forma dos perfis de voltamogramas, mas leva a um aumento considerável nas correntes de pico anódico e catódico e um deslocamento dos picos para potenciais mais positivos ou mais negativos, respectivamente. Os picos responderam linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura (Figura 52-B), indicando um processo de eletro-oxidação controlado por difusão [150]. Na Tabela 15, são apresentados os parâmetros

obtidos das correntes de picos anódicos e catódicos com a raiz quadrada das velocidades de varredura.

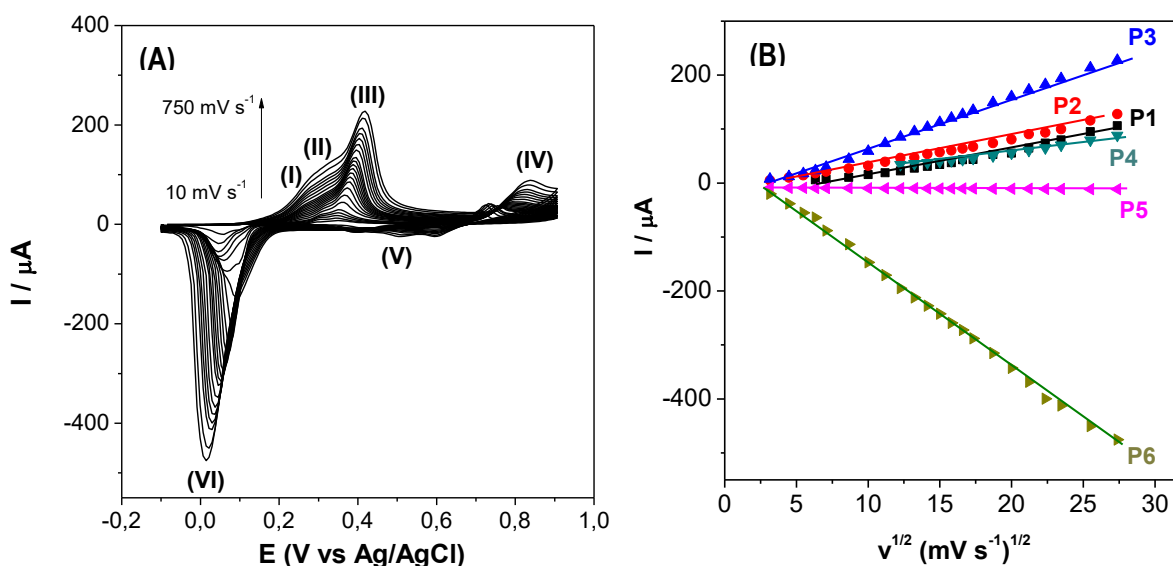


Figura 52 - (A) Voltamogramas cíclicos do estudo de velocidade de varredura no intervalo de 10 a 750 mV s^{-1} do GCE/rGO-AgNPs em solução de NaOH 0,10 mol L^{-1} . (B) Correlação das correntes de pico anódicas (I_{pa}) e catódicas (I_{pc}) versus raiz a quadrada da velocidade (V)^{1/2}. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 15: Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares da Figura 52-B.

Pico	Faixa linear (mV s^{-1}) ^{1/2}	Equação da regressão	Coefficiente de correlação
I	5,5 a 27,4	$y = -3,3 \times 10^{-5} + 4,7 \times 10^{-6}x$	0,974
II	3,2 a 27,4	$y = -1,4 \times 10^{-5} + 4,9 \times 10^{-6}x$	0,995
III	3,2 a 27,4	$y = -3,3 \times 10^{-5} + 9,6 \times 10^{-6}x$	0,997
IV	12,3 a 27,4	$y = -1,4 \times 10^{-5} + 3,6 \times 10^{-6}x$	0,977
V	3,2 a 27,4	$y = -8,5 \times 10^{-6} - 1,1 \times 10^{-7}x$	0,998
VI	3,2 a 27,4	$y = -4,9 \times 10^{-5} - 19 \times 10^{-5}x$	0,998

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Estudos de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foram realizados utilizando uma solução de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em KCl 0,10 mol L^{-1} . A Figura 53 apresenta os diagramas de Nyquist, caracterizados por um arco capacitivo, seguido por um segundo comportamento de baixa frequência (0,10 Hz a 100 kHz), atribuído a fenômenos difusionais [54]. O circuito elétrico equivalente proposto (Inserção na Fig. 57) é baseado nas características dos espectros de impedância, onde R_s corresponde à resistência da solução, Q é a capacitância elétrica

de camada dupla, R_{ct} é a resistência de transferência de carga, e W é a impedância de Warburg [150,152].

Os resultados de EIS foram avaliados em termos de R_{ct} , Figura 53. Os valores obtidos foram significativamente menores após as modificações: GCE (0,78 $K\Omega$), GCE-rGO (0,67 $K\Omega$) e GCE / rGO-AgNPs (0,55 $K\Omega$). Estes resultados confirmam a modificação do eletrodo com rGO e AgNPs, em que a modificação contribuiu para aumento da condutividade, representadas nos diagramas pelas respectivas R_{ct} .

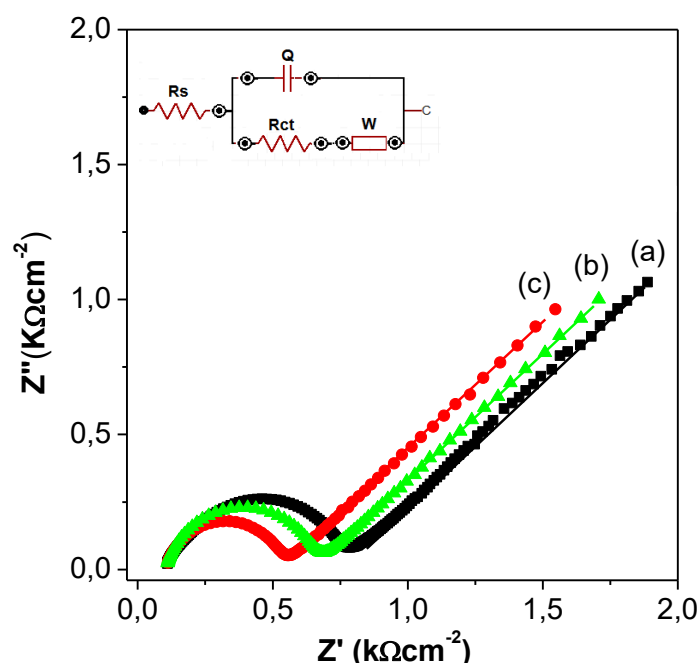


Figura 53 - Diagramas de Nyquist do GCE (a); GCE/rGO (b) e GCE/rGO-AuNPs (c), potencial de circuito aberto. Circuito elétrico equivalente inserido. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

7.1.2. Caracterização de superfície do eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de prata (GCE/rGO-AgNPs)

Os eletrodos modificados e não modificados com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de prata foram caracterizados por MEV, EDX e AFM. Na Figura 54, são apresentadas as imagens MEV dos eletrodos, antes e após as modificações. A Figura 54-A, apresenta uma superfície rugosa tridimensional, provocada pela modificação do GCE com rGO. A Figura 54-B apresenta a imagem do GCE/rGO após modificação com AgNPs, nanopartículas de forma esférica altamente dispersas sobre a superfície do eletrodo podem ser observadas. Um histograma do diâmetro das

AgNPs sobre o GCE/rGO foi construído, a partir do qual se obteve um diâmetro médio de 10 ± 2 nm, Figura 54-C.

Análises de EDX foram realizadas para investigar a composição elementar da superfície do eletrodo modificado. O espectro obtido é apresentado na Figura 54-D, os resultados confirmam a presença de picos de carbono (C), oxigênio (O) e prata (Ag) na superfície do eletrodo, confirmando o sucesso da modificação.

A superfície do eletrodo modificado também foi caracterizada por microscopia de força atômica. Os resultados permitiram relacionar a espessura e rugosidade da modificação. Na Figura 55-A, observa-se que a modificação do GCE com rGO ocorreu de forma compacta, apresentando espessura de 19,0 nm e rugosidade de 3,01 nm. Após a modificação com AgNPs, alterações foram observadas, os valores obtidos foram 143,1 nm e 20,9 nm, respectivamente (Figura 55-B). Estes estudos mostram que a eletrodeposição de AgNPs sobre GCE/rGO foi realizada com sucesso, obtendo-se uma modificação uniforme e compacta.

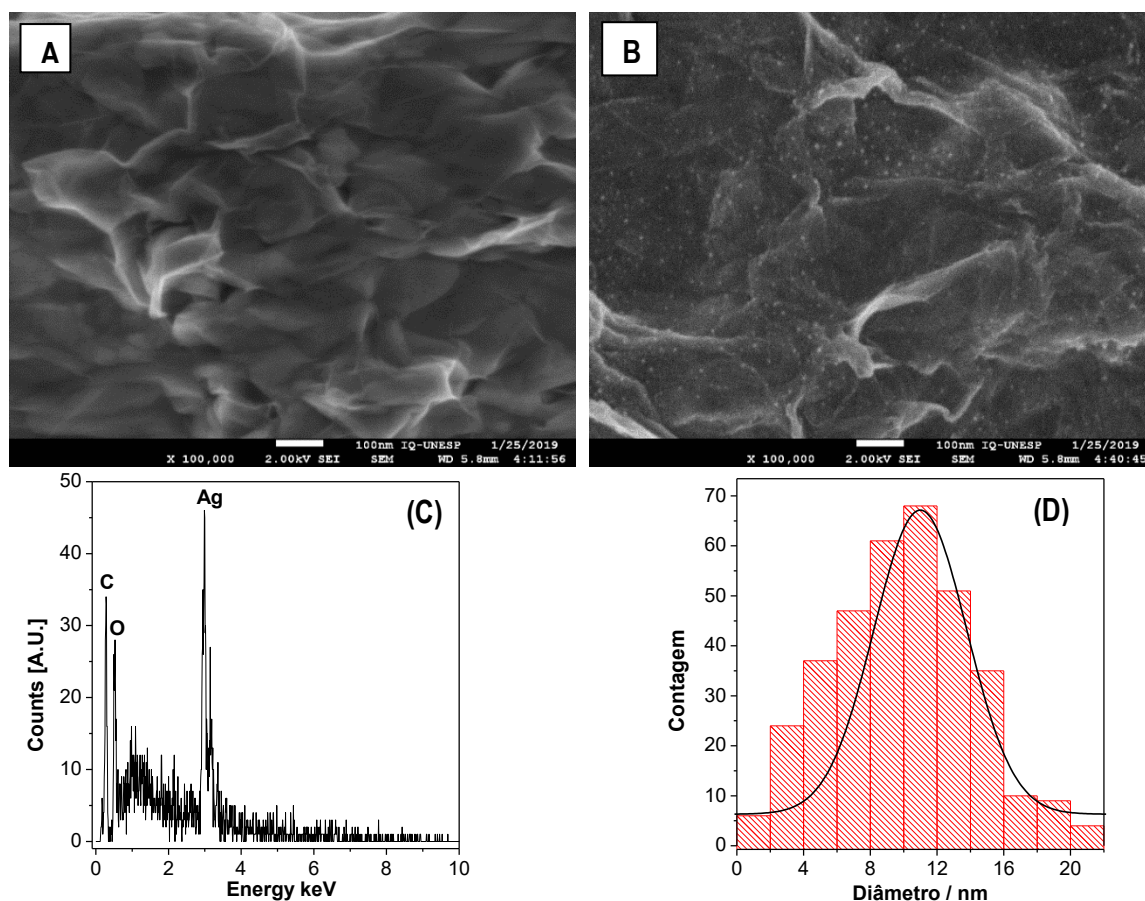


Figura 54 - Imagens MEV: (A) GCE/rGO e (B) GCE/rGO-AgNPs. (C) Espectro de EDX do GCE/rGO-AgNPs e (D) Histograma do diâmetro das AgNPs na superfície do GCE/rGO. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

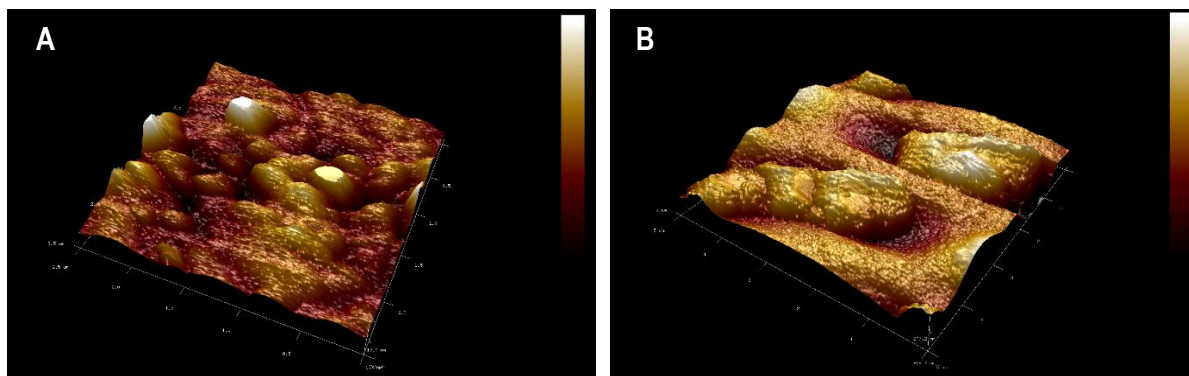
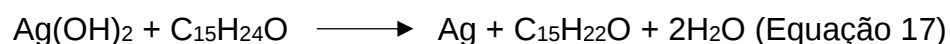
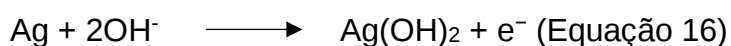


Figura 55 - Imagens AFM: (A) eletrodo GCE/rGO e (B) GCE/rGO-AgNPs. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

7.1.3. Eletro-oxidação dos antioxidantes

A atividade eletrocatalítica do GCE/rGO-AgNPs foi investigada na presença de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ dos antioxidantes em NaOH 0,10 mol L⁻¹, por meio da técnica de voltametria cíclica. Os voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-AgNPs na ausência e presença dos antioxidantes estão apresentados na Figura 56. Foi observado um aumento substancial na corrente de pico anódico do GCE/rGO-AgNPs na presença dos analitos de interesse, em potenciais: 0,39 V; 0,40 V; 0,43 V e 0,41 V para BHT, BMP, BPA e BPH, respectivamente. Estes resultados indicam a ocorrência de um processo típico de oxidação eletrocatalítica dos antioxidantes mediado por espécies Ag(OH), conforme Equação 17 para o BHT. Os demais antioxidantes apresentam comportamento semelhante.



A corrente catalítica resultante do processo de oxidação dos antioxidantes em GCE/rGO-AgNPs, pode ser atribuída as AgNPs que em meio básico geram espécies Ag(OH)₂ ancoradas em rGO. Uma vez que este último atua como substrato de grande área superficial, aumentando a quantidade de sítios para eletrodeposição de nanopartículas de prata.

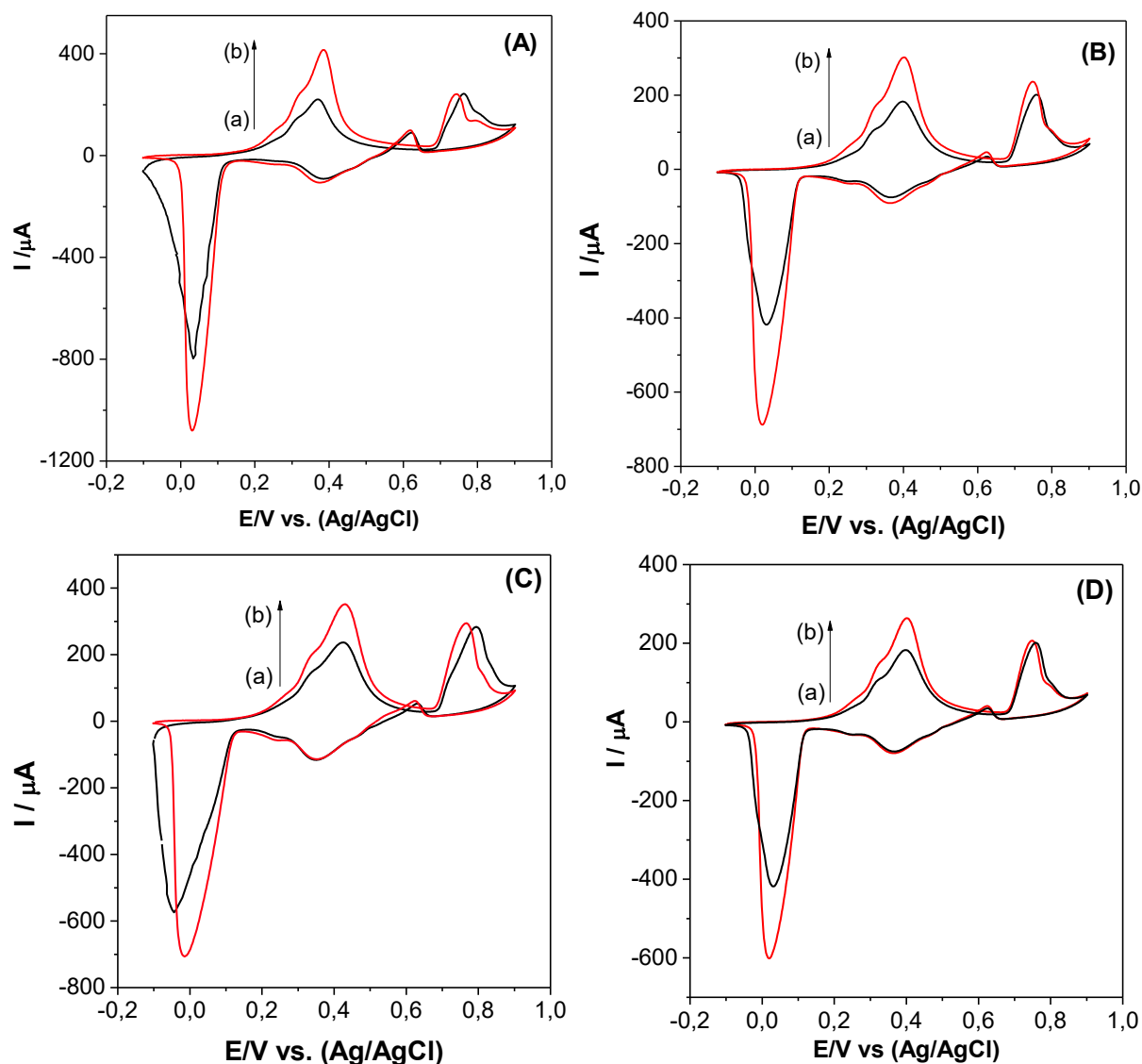


Figura 56 - Voltamogramas cíclicos do GCE/rGO-AgNPs na presença de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de: (A) BHT; (B) BMP; (C) BPA e (D) TBP em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

7.1.4. Estudos da concentração dos antioxidantes

Os comportamentos dos antioxidantes no GCE/rGO-AgNPs foram avaliados através de voltametria cíclica. Adições sucessivas de BHT, TBP, BPA e BMP em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foram realizadas, no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-5}$ a $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas das Figuras 57-A, 57-B, 57-C e 57-D apresentam similaridade, em termos de comportamentos dos antioxidantes nas condições otimizadas. Um aumento na concentração de BHT, BMP, BPA e BPH provocaram um aumento gradual da corrente de pico anódico (curvas analíticas inseridas, Figura 57). Estes estudos foram importantes para compreender o

comportamento e interação dos antioxidantes com o eletrodo modificado, visando o desenvolvimento de um método cromatográfico com detecção eletroquímica, que permita determinar simultaneamente os quatro compostos.

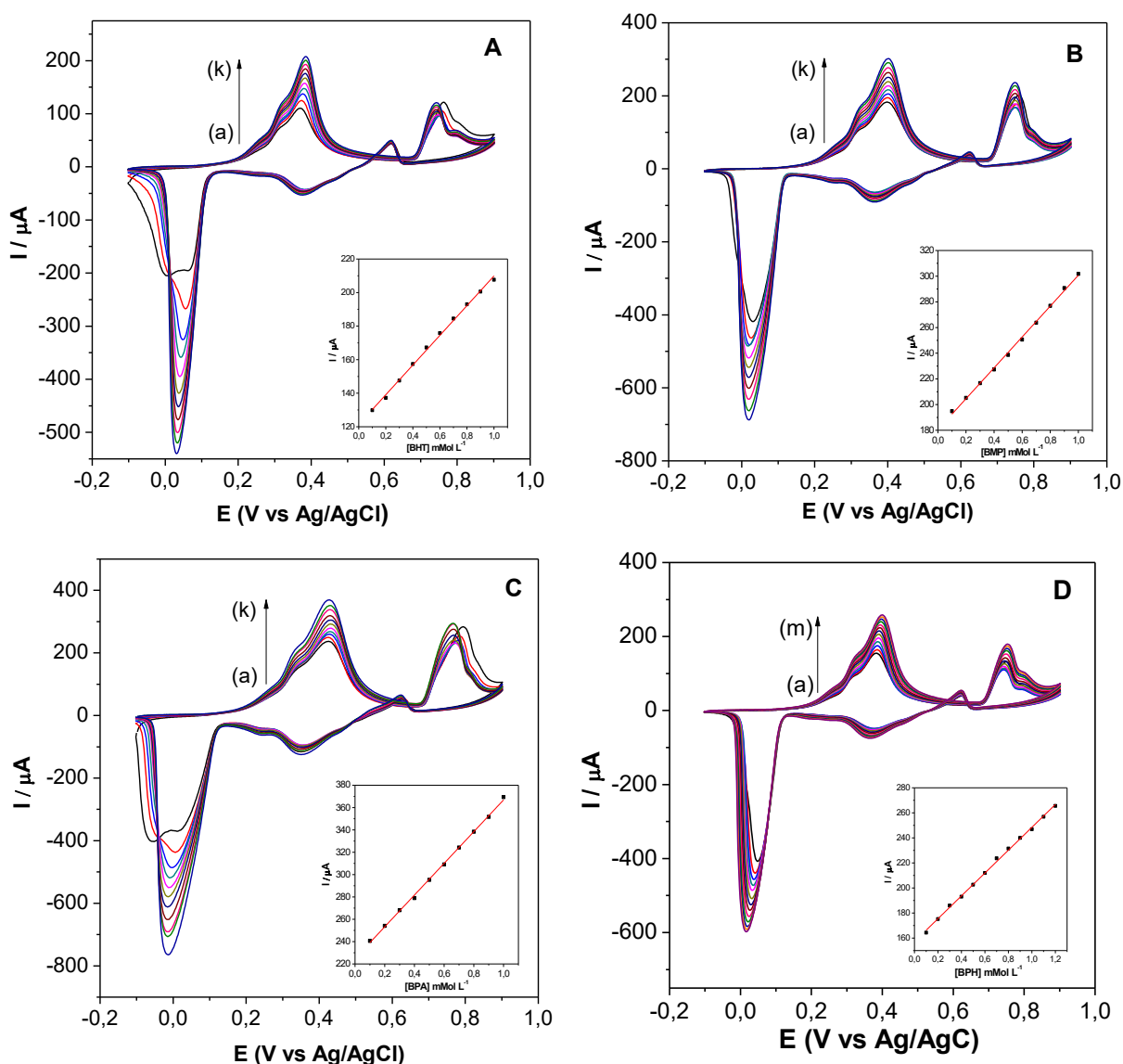


Figura 57: Voltamogramas cíclicos do estudo de concentração dos antioxidantes sobre o GCE/rGO-AgNPs em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Figuras inseridas: curvas analíticas obtidas para os antioxidantes: (A) BHT; (B) BMP; (C) BPA e (D) TBP. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Estudos de velocidade de varredura foram realizados com o GCE/rGO-AgNPs em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na presença dos antioxidantes, no intervalo de 10 a 750 mV s^{-1} (Figura 58). Observou-se que os aumentos das velocidades de varreduras são seguidos por um aumento nas correntes de pico anódicas (I_{pa}) e catódicas (I_{pc}). Também foram observados deslocamentos dos E_{pa} para valores mais positivos e E_{pc}

para valores mais negativos, que podem estar associados a uma limitação devido à cinética de transferência de carga [150].

Na Figura 58, inserções, são apresentadas as relações lineares da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade. As correntes de pico anódicas responderam linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando um processo eletródico controlado por difusão [150]. Os parâmetros obtidos a partir das correlações lineares estão apresentados nas Tabela 16.

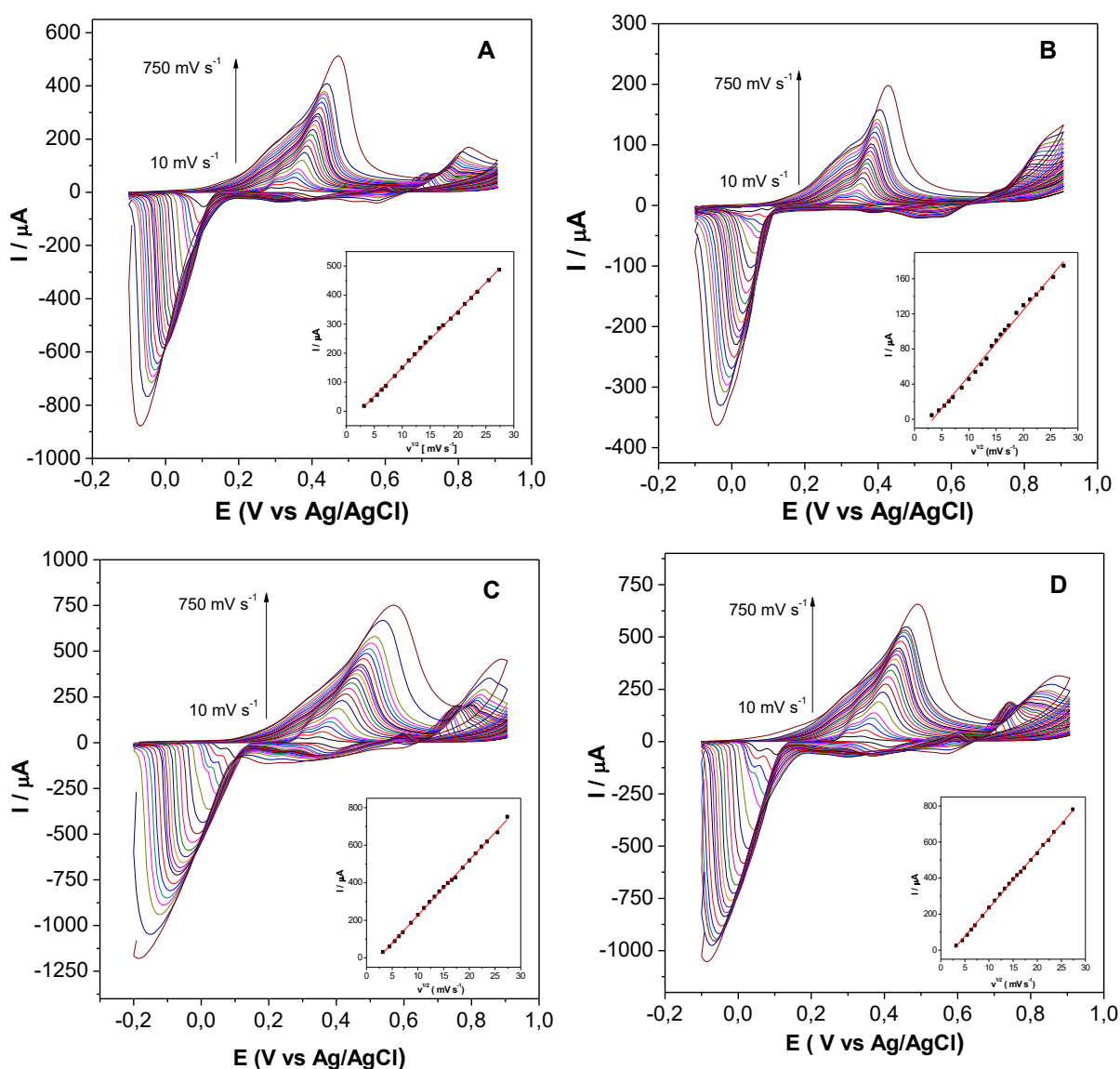


Figura 58: Voltamogramas do estudo de velocidade do GCE/rGO-AgNPs em NaOH 0,1 mol L⁻¹, na presença de antioxidantes 1,0x10⁻⁴ mol L⁻¹. Efeito da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) nas correntes de picos anódicos, Figuras inseridas: (A) BHT; (B) BMP; (C) BPA e (D) TBP. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 16: Parâmetros obtidos a partir das correlações lineares de corrente de pico anódica e raiz quadrada da velocidade, para os antioxidantes BHT, TBP, BMP e BPA, obtidas a partir da Figura 58.

Antioxidante	Faixa linear (mV s^{-1}) ^{1/2}	Equação da regressão	Coefficiente de correlação
BHT	3,2 a 27	$y = -4,6 \times 10^{-5} + 1,9 \times 10^{-5}x$	0,999
BMP		$y = -2,5 \times 10^{-5} + 7,5 \times 10^{-6}x$	0,995
BPA		$y = -6,7 \times 10^{-5} + 2,9 \times 10^{-5}x$	0,999
TBP		$y = 7,8 \times 10^{-5} + 3,1 \times 10^{-5}x$	0,997

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

7.1.5. Comportamento cromatográfico

Os antioxidantes BHT, BMP, BPA e TBP apresentam comportamento eletroquímico muito semelhantes, com oxidações em regiões de potenciais muito próximas no GCE/rGO-AgNPs. Dessa forma, a determinação simultânea desses compostos é viável somente após separação cromatográfica, principalmente em matrizes complexas em que há mais de um antioxidante presente. Visando a otimização da separação cromatográfica, estudos foram conduzidos com uma coluna cromatográfica C18, e fase móvel composta por acetonitrila/água e ácido acético, definida com base nos estudos anteriores para os mesmos antioxidantes (Capítulos V e VI). Uma bomba pós-coluna foi usada com hidróxido de sódio para manter a força iônica constante no detector.

A fim de estudar o comportamento eletroquímico do GCE/rGO-AgNPs nas condições cromatográficas, realizou-se uma voltametria cíclica no HPLC no intervalo de potencial de -0,2 a 0,9 V vs. Pd, Figura 59. A fase móvel foi composta por uma mistura de acetonitrila/água (90:10 v/v) com fluxo de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$; e NaOH $0,30 \text{ mol L}^{-1}$ (pós coluna) com fluxo de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$. Com base no voltamograma da Figura 59, e no comportamento voltamétrico dos antioxidantes (Figura 56), é possível inferir que a oxidação dos antioxidantes BHT, TBP, BPA e BPM deve ocorrer na região de potencial compreendida entre 0,30 e 0,50 V vs. Pd.

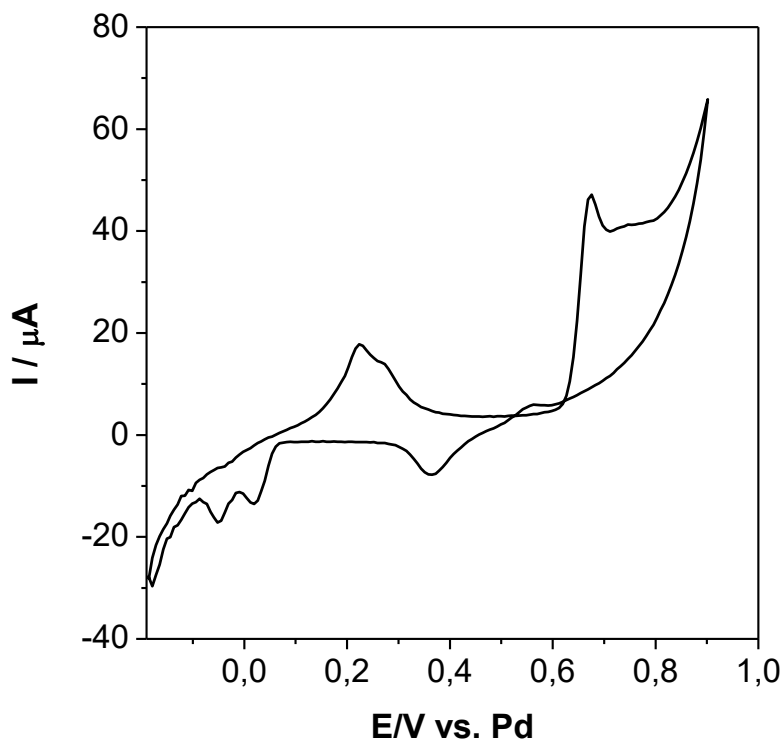


Figura 59 - Voltamograma cíclico obtido no HPLC. Condições: coluna C18. Fase móvel ACN:H₂O (90:10% v/v) com fluxo 0,5 ml min⁻¹; e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós coluna) fluxo 0,3 ml min⁻¹. GCE/rGO-AgNPs, velocidade 50 mV s⁻¹. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

7.1.6. Otimização do sistema de detecção cromatográfica

No método desenvolvido, a detecção dos antioxidantes foi realizada por cronoamperometria pulsada, aplicando uma sequência de quatro potenciais. O primeiro pulso de potencial ($E_1 = 0,40$ V por 300 ms) foi utilizado para condicionar o GCE/rGO-AgNPs (200 ms) e medir a oxidação dos antioxidantes (100 ms). O segundo pulso de potencial ($E_2 = -0,10$ V por 50ms) foi empregado para redução das espécies na superfície do eletrodo. O terceiro pulso de potencial ($E_3 = 0,75$ V por 100ms) foi aplicado para oxidar as espécies de prata na superfície do eletrodo. Por último, o quarto pulso de potencial ($E_4 = 0,40$ V por 200ms) foi aplicado para estabilizar e restabelecer o sinal eletroquímico do eletrodo, para posterior oxidação dos antioxidantes (Figura 60).

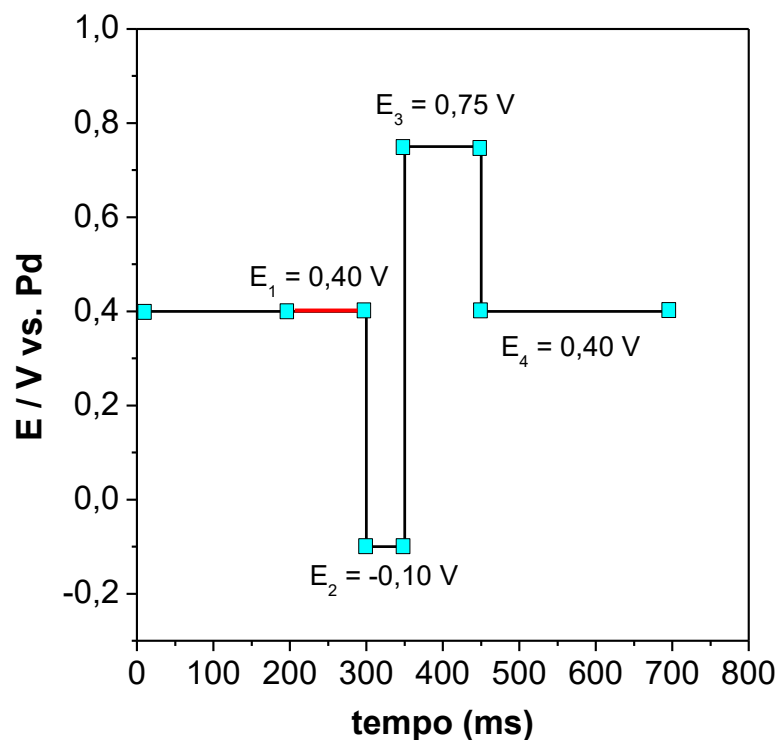


Figura 60 - Sequência de pulsos aplicada na detecção amperométrica dos antioxidantes. Detector: GCE/rGO-AgNPs. Condições: coluna C18. Fase móvel: ACN:H₂O (90:10% v/v) com fluxo 0,5 ml min⁻¹; e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós coluna) fluxo 0,3 ml min⁻¹. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

7.1.7. Otimização da separação cromatográfica

As condições de separação cromatográfica foram otimizadas no modo de eluição isocrática, empregando como detector o GCE/rGO-AgNPs, e a técnica de cronoamperometria pulsada. Foram estudados a composição e fluxo da fase móvel, bem como os parâmetros referentes ao detector e coluna cromatográfica. Esses estudos levaram em consideração fatores como: resolução, simetria, sensibilidade e tempo de retenção dos picos.

Inicialmente, foi estudado a proporção de acetonitrila:água (ACN:H₂O) na fase móvel, variando-se a porcentagem de acetonitrila de 70 a 100% (Figura 61-A). Esses resultados mostraram que, a fase móvel constituída de 100% de acetonitrila não possibilita a separação adequada dos dois primeiros picos, que foram eluídos em tempos de retenção muito próximos. A medida que água foi adicionada à fase móvel houve uma melhora na separação entre os picos, todavia, houve aumento no tempo de eluição, Figura 61-B. Esse comportamento, pode estar associado à interação dos

antioxidantes com a fase estacionária, podendo estar mais ou menos retidos. A fase móvel quando constituída de 80% de acetonitrila e 20% de água possibilitou uma boa separação dos quatro antioxidantes, e uma melhora significativa na resposta do detector, Figura 61-C. Quantidades de água maiores resultaram em picos muito bem separados e simétricos, porém, a resposta do detector diminuiu consideravelmente (Figura 61-C). Portanto, a composição da fase móvel foi estabelecida como 80:20 (ACN:H₂O v/v), em razão de características como: melhor separação dos picos, menor tempo de retenção, e maior área.

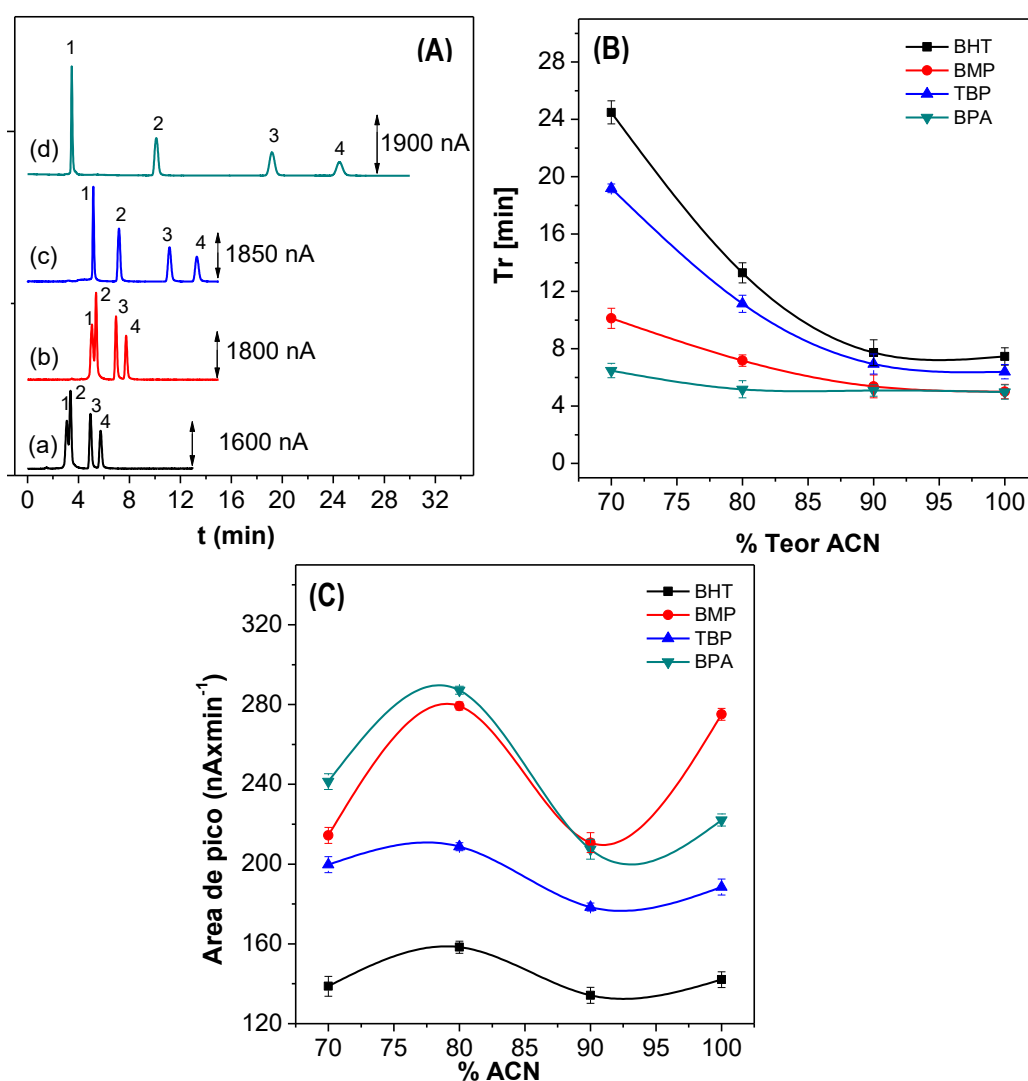


Figura 61: (A) Cromatogramas do estudo de composição da fase móvel ACN:H₂O – (a) 100 a (d) 70% ACN. (B) Relação ACN:H₂O versus tempo de retenção e (C) ACN:H₂O versus área de pico. Coluna C18; fluxo 0,5 ml min⁻¹; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Foram realizados estudos com a adição de ácido acético, variando de 0,5 a 1,5% na fase móvel (Figura 62-A). Os resultados demonstraram que 1,0% de ácido acético promoveu uma melhoria na separação dos antioxidantes, no que se refere a simetria dos picos e intensidade de corrente (Figura 62-B). Valores acima de 1,0% ocasionaram uma diminuição da área e alargamento dos picos, optando-se, portanto, por adicionar 1,0% de ácido acético na fase móvel.

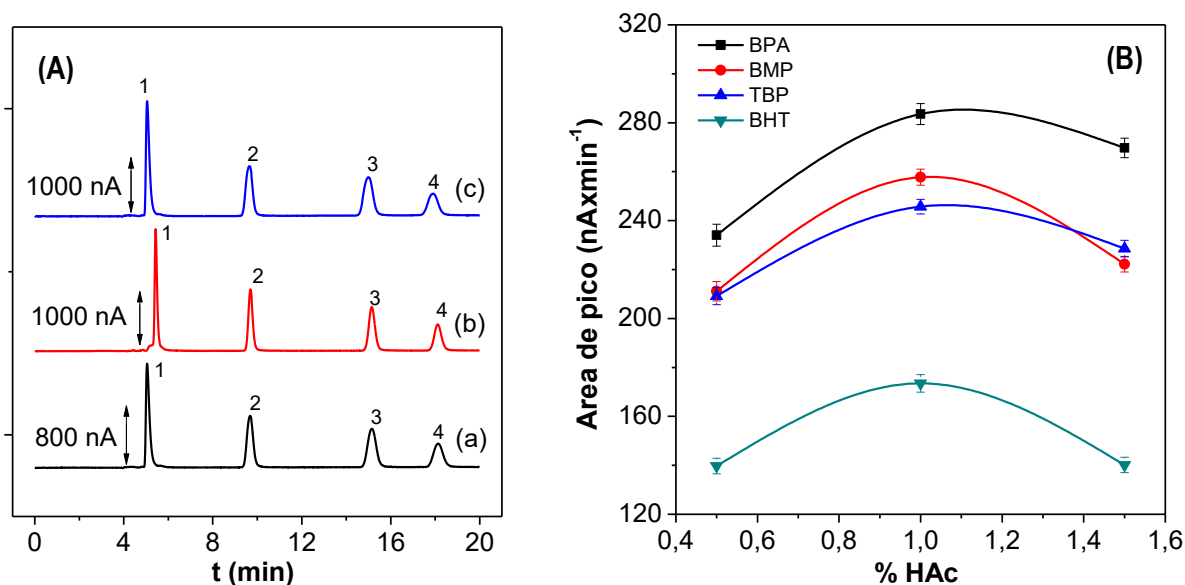


Figura 62 - (A) Cromatogramas obtidos para o estudo do teor de ácido acético na fase móvel, variado de: (a) 0,5 a (c) 1,5%. (B) Relação entre área de pico versus teor de ácido acético. Coluna C18; fase móvel ACN: H₂O (80:20, v/v) fluxo 0,5 ml min $^{-1}$; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

O estudo da concentração da solução de NaOH que passa pelo detector foi realizado. Os resultados mostraram que houve distorção em alguns picos, quando a concentração de NaOH foi muito baixa ($\leq 0,2$ mol L $^{-1}$), e uma dificuldade de estabilizar a linha de base dos cromatogramas, Figura 63-A. Outro fator investigado diz respeito a influência desse fator na área dos picos, como mostra a Figura 63-B. Os resultados obtidos demonstraram que concentrações baixas (0,1 e 0,2 mol L $^{-1}$) resultam em áreas de pico bem menores que concentrações mais elevadas. Assim, o valor escolhido de concentração de NaOH foi de 0,3 mol L $^{-1}$.

Estudos de velocidade da fase móvel foram realizados, a fim de verificar o efeito desse parâmetro sobre os tempos de retenções, resolução e simetria dos picos. Os cromatogramas da Figura 64-A demonstram que fluxos muito baixos (0,2 e 0,3 mL min $^{-1}$) resultam em uma ótima separação entre os picos, no entanto, tempos de retenção prolongados (> 25 minutos) foram observados. Fluxos mais elevados de 0,5

e $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ também possibilitaram uma excelente separação entre os picos dos antioxidantes, porém, verificou-se uma diminuição significativa na área dos picos (Figura 64-B). Portanto, o fluxo mais adequado foi o de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, que garantiu uma excelente separação dos antioxidantes, com tempo de análise inferior a 15 minutos, e resposta satisfatória em termos de área, resolução e simetria dos picos.

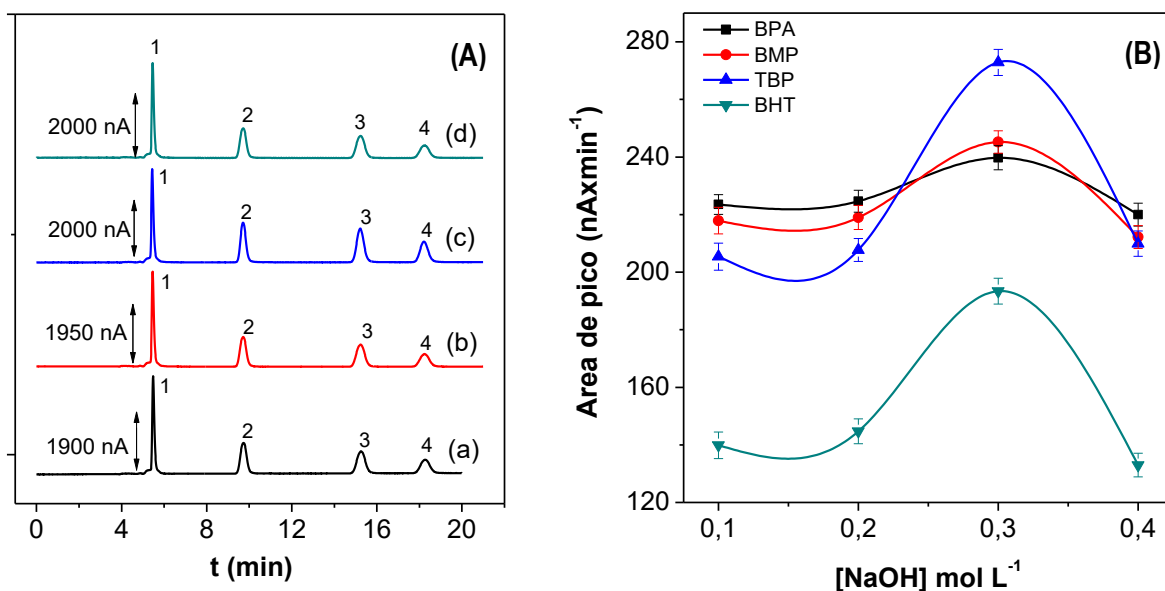


Figura 63 - (A) Cromatogramas referentes ao estudo da concentração de NaOH (pós-coluna), variação de (a) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a (d) $0,4 \text{ mol L}^{-1}$. (B) Relação entre área de pico dos antioxidantes e concentração de NaOH. Coluna C18; fase móvel ACN: H_2O (80:20, v/v) e HAc 1%; fluxo $0,5 \text{ mL min}^{-1}$; detector GCE/rGO-AgNPs. E = $0,40 \text{ V}$ vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

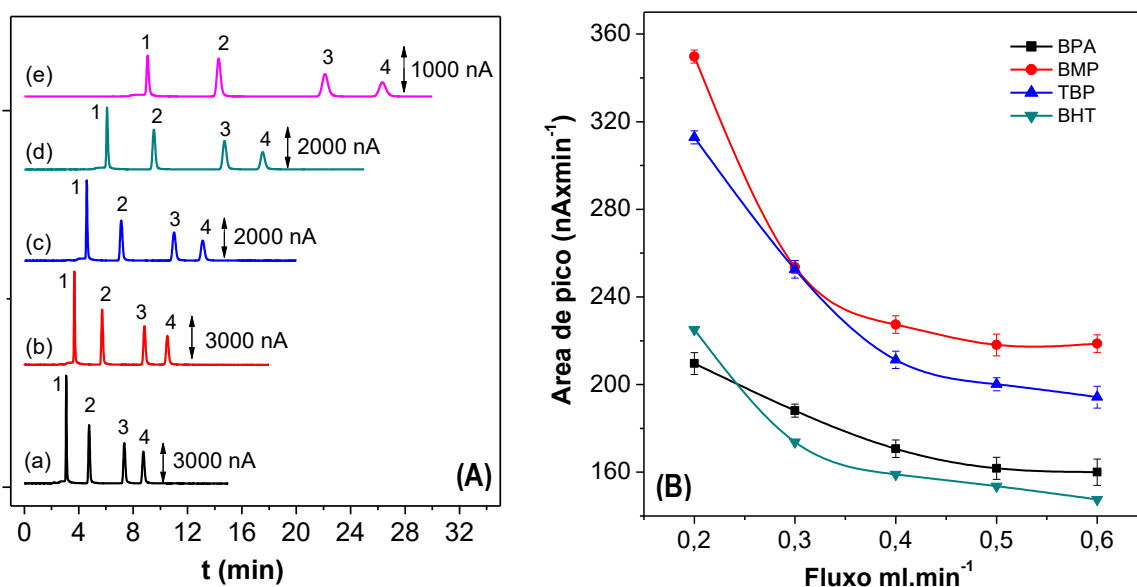


Figura 64 - (A) Cromatogramas referentes ao estudo do fluxo da fase móvel, variando de (e) $0,2$ a (a) $0,6 \text{ mL min}^{-1}$. (B) Relação entre área de pico e fluxo. Coluna C18; fase móvel ACN: H_2O (80:20, v/v) e HAc 1%; detector GCE/rGO-AgNPs. E = $0,40 \text{ V}$ vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Estudos foram realizados para investigar a influência da temperatura do forno da coluna e do detector na separação cromatográfica. Os resultados não indicaram influência no tempo de retenção dos analitos. No entanto, como observado na Figura 65-A, houve uma variação significativa nas áreas dos picos. Temperaturas abaixo e acima de 30°C apresentaram menor resposta (em termos de corrente), o que sugere que essas temperaturas influenciam na interação dos antioxidantes com a coluna cromatográfica (podendo estar mais ou menos retidos), esse estudo apontou a temperatura de 30°C como valor ótimo. Do mesmo modo, também se verificou uma influência da temperatura no detector, o estudo demonstrou que temperaturas de 25 e 40°C apresentam valores de corrente muito baixos, quando comparado a 35°C, sendo este último o valor de ótimo de temperatura no detector, Figura 65-B. Portanto, a eluição dos compostos ocorreu sob condições ótimas de 30 °C (coluna) e 35 °C (detector).

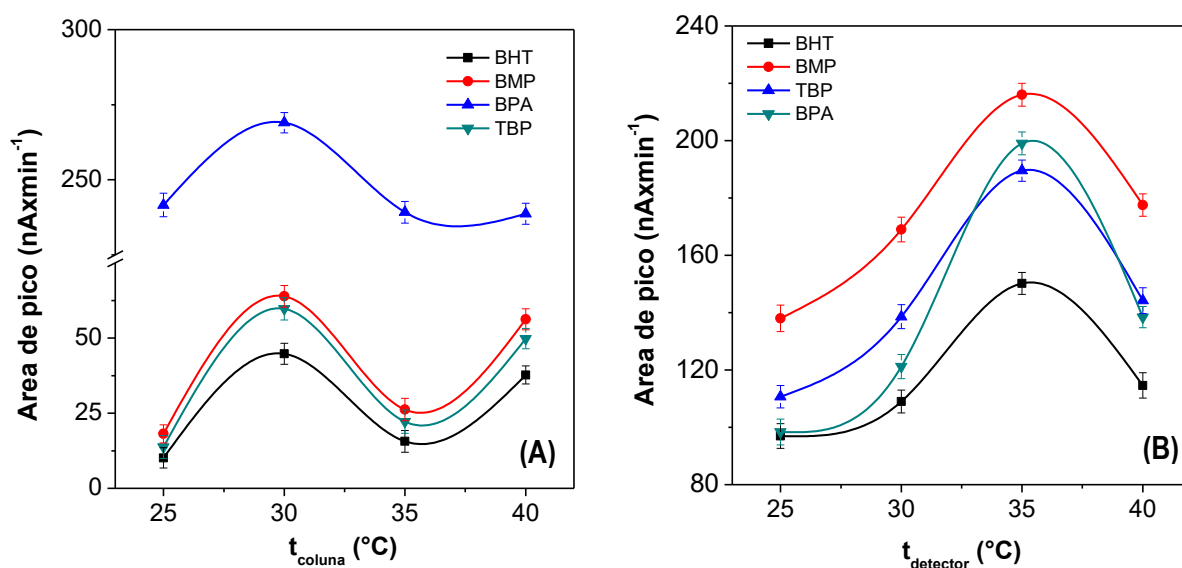


Figura 65 - Estudos de temperatura: (A) Coluna, variando de 25 a 40°C. (B) Detector, variando de 25 a 40°C. Coluna C18; fase móvel ACN: H₂O (80:20, v/v) e HAc 1%; fluxo 0,4 ml min⁻¹; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Visando otimizar as condições de detecção, cinco potenciais de detecção foram investigados, entre 0,20 e 0,50 V vs. Pd, em condições hidrodinâmicas (Figura 66-A). Voltamogramas hidrodinâmicos foram construídos, relacionando potencial de detecção com a área dos picos (nA min⁻¹). Os resultados obtidos demonstraram que potenciais muito baixos ($\leq 0,40$ V) foram insuficientes para oxidar os compostos de interesse, resultando em picos mais largos, com baixa resolução e menor área (Figura 66-B). Quando valores de potenciais de detecção maiores foram empregados,

observou-se uma melhora na resposta do detector e na resolução dos picos. Desse modo, com base nesses estudos, o valor ótimo de potencial foi obtido em 0,40 V.

Após a otimização das condições cromatográficas, as identidades dos picos foram confirmadas injetando cada antioxidante individualmente, Figura 67. A sequência de eluição dos componentes da matriz é relativo ao valor do pKa (entre 11 a 12,75), ao número de grupos ionizáveis presentes na estrutura, e a polaridade dos compostos. Os cromatogramas da Figura 67, mostram que as condições otimizadas por cromatográfica de fase reversa e eluição isocrática possibilitaram uma excelente separação dos quatro antioxidantes, em que a sequência de eluição foi: BPA ($t_r = 4,16$ min), BMP ($t_r = 7,21$ min), TBP ($t_r = 11,27$) e BHT ($t_r = 13,48$).

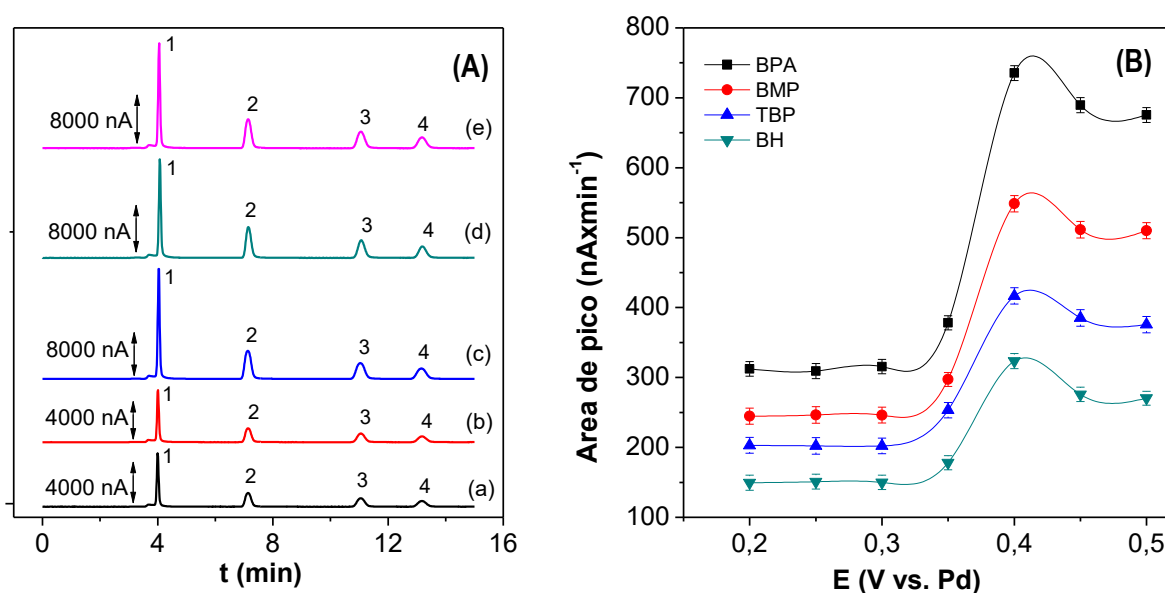


Figura 66 - (A) Cromatogramas referente ao estudo do potencial de detecção dos antioxidantes, (a) 0,2 V a (e) 0,5 V. Condições: fase móvel ACN:H₂O (80:20 v/v) e HAc 1,0%, fluxo 0,4 ml min⁻¹, NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós-coluna). (B) Relação da área de pico versus potencial de detecção dos antioxidantes. (a) 0,3 V até (f) 0,5 V. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Os parâmetros cromatográficos: tempo de retenção, tempo de retenção ajustado, resolução, fator de retenção e fator de separação foram calculados, os dados obtidos podem ser vistos na Tabela 17. Os valores de resolução obtidos mostram valores entre 1,04 e 1,75, estes resultados são muito satisfatórios, considerando a faixa aceitável de 1,0 a 2,0 [155]. Os fatores de retenção apresentaram valores entre 1,01 e 3,01, esses valores são adequados considerando a faixa aceitável de 1 a 10 [156]. A resolução de dois picos depende do fator de separação, fator de

retenção e número de pratos teóricas (N), e caracteriza a eficiência da coluna, esta eficiência é otimizada quando N é maximizado [155,156]. Com base nesses parâmetros, os resultados obtidos estão dentro do esperado para um bom desempenho cromatográfico para todos os antioxidantes.

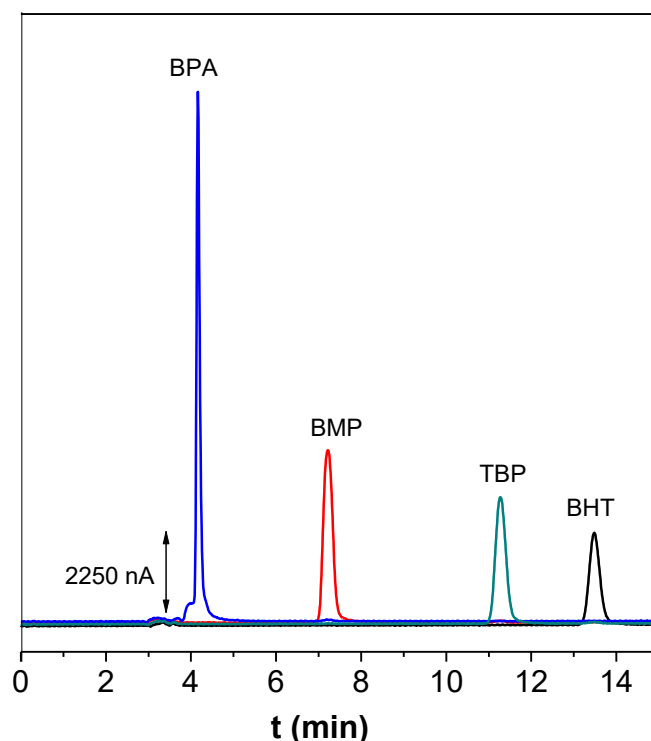


Figura 67: Cromatogramas referente a injeção dos antioxidantes na fase móvel, em condições otimizadas. Empregando GCE/rGO-AgNPs. Condições: coluna C18; fase móvel ACN: H₂O (80:20, v/v) e HAc 1,0%; fluxo 0,4 ml min⁻¹; detector GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V vs Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 17: Parâmetros Cromatográficos para separação de antioxidantes. Detector: GCE/rGO-AgNPs

Parâmetro	BPA	BMP	TBP	BHT
Tempo de retenção (min)	4,16	7,21	11,27	13,48
Tr ajustado (min)	1,3	2,5	7,3	6,4
Resolução	1,04	1,9	1,75	1,32
Número de pratos teóricos	10177	11511	12136	15260
Fator de retenção (k)	1,3	1,6	3,01	2,6
Fator de separação (α)	1,8	2,3	1,6	1,0

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

7.1.8. Curvas analíticas

Após a otimização das condições cromatográficas, curvas analíticas dos quatro antioxidantes foram construídas para avaliar os parâmetros analíticos do método. Esse estudo foi realizado com sucessivas adições dos padrões dos compostos, na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. A Figura 68-A apresenta os cromatogramas obtidos para misturas dos quatro antioxidantes em diferentes concentrações. Um aumento proporcional das áreas de pico em função do aumento da concentração dos padrões foi observado. A Figura 68-B apresenta as curvas analíticas para os antioxidantes BPA, BMP, TBP e BHT. Os parâmetros analíticos para o método (faixa linear, limite de detecção, sensibilidade e coeficiente de correlação) são apresentados na Tabela 18.

A repetibilidade do método também foi analisada por meio de injeções repetitivas (dez vezes) de uma mistura de $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ dos quatro antioxidantes nas mesmas condições experimentais. Os desvios padrão relativos das áreas de pico variaram de 3,8% a 4,2% para TBP, BHT, BMP e BPA. Os desvios padrão relativos dos tempos de retenção para os quatro antioxidantes foram inferiores a 1,0%.

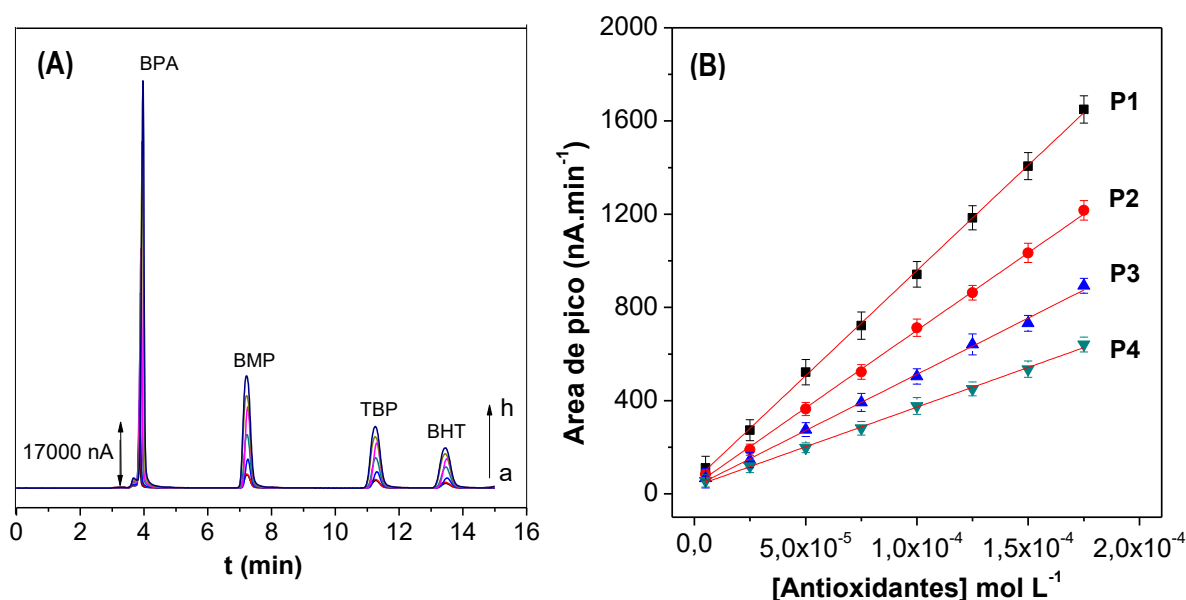


Figura 68: (A) Cromatogramas das misturas dos antioxidantes em diferentes concentrações. (B) Relação das áreas de pico versus concentração dos antioxidantes: BPA, BMP, TBP e BHT. Coluna C18; Fase móvel ACN:H₂O (80:20% v/v) e 1,0% HAc, fluxo 0,4 ml min⁻¹; e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós coluna) 0,3 ml/min. Detector amperométrico GCE/rGO-AgNPs. Potencial de detecção 0,40 V vs. Pd. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 18: Figuras de mérito obtidas a partir da detecção dos antioxidantes utilizando RP-HPLC-PAD, com eletrodo GCE/rGO-AgNPs. $n=3$

Antioxidante	Faixa linear (mol L ⁻¹)	LD (mol L ⁻¹)	SA (nA L mol ⁻¹)	r ²	RSD (%)
BPA		2,9x10 ⁻⁷	9,0x10 ⁶	0,999	1,9
BMP	5,0x10 ⁻⁶ a	4,2x10 ⁻⁷	6,7x10 ⁶	0,998	2,3
TBP	1,8x10 ⁻⁴	6,1x10 ⁻⁷	4,8x10 ⁶	0,997	1,7
BHT		3,8x10 ⁻⁷	3,4x10 ⁶	0,998	3,0

Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

7.1.9. Determinação dos antioxidantes em bioquerosene de aviação

O GCE/rGO-AgNPs foi utilizado como detector amperométrico em RP-HPLC para determinação de antioxidantes sintéticos em uma amostra de bioquerosene de aviação. O preparo da amostra envolveu uma etapa de filtragem para retirada de possíveis impurezas, seguido de uma simples diluição em acetonitrila.

As análises cromatográficas foram efetuadas nas condições otimizadas, e a identificação dos picos foi baseada nos tempos de retenção dos compostos, e confirmada por meio de adição de soluções dos padrões dos compostos. O método utilizado para quantificação dos antioxidantes foi adição de padrão, em quatro níveis de concentração, Figura 69. Os resultados obtidos indicaram a presença de três antioxidantes na amostra de bioquerosene: BMP, TBP e BHT. As seguintes equações de regressão foram obtidas: $y = -60,5 + 1,8 \times 10^7 x$, $r = 0,999$ (BPA); $y = 9,9 + 1,2 \times 10^7 x$, $r = 0,998$ (BMP); $y = 1,3 + 9,1 \times 10^6 x$, $r = 0,999$ (TBP); e $y = 5,6 + 6,4 \times 10^6 x$ (BHT). As concentrações obtidas foram: $2,0 (\pm 0,4) \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; $3,8 (\pm 0,2) \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $2,7 (\pm 0,3) \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, Tabela 19. O antioxidante BPA não foi detectado na amostra.

A validação do método foi realizada através de estudos de recuperação dos quatro antioxidantes. As recuperações médias variaram de 96,7% a 102,8%, e os desvios padrão relativos entre 1,2 e 4,5% para todos os antioxidantes, confirmando a precisão do método.

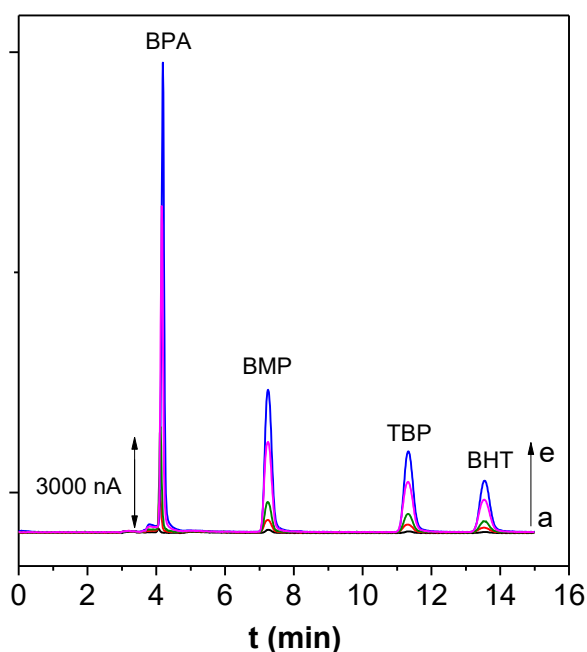


Figura 69: Cromatogramas representativos da amostra de bioquerosene (diluição 1:100), antes e após adição dos padrões. Condições: coluna C18; fase móvel ACN:H₂O (80:20 v/v), fluxo 0,4 ml min⁻¹ e NaOH 0,3 mol L⁻¹ (pós coluna) fluxo 0,3 mol L⁻¹. Detector amperométrico GCE/rGO-AgNPs. E = 0,40 V. Fonte: elaborado pelo autor, 2019

Tabela 19: Valores de recuperação obtidos para o método empregado na quantificação de antioxidantes na amostra de bioquerosene por RP-HPLC-PAD. Detector: GCE/rGO-AgNPs.

Parâmetros	BPA	BMP	TBP	BHT
Conc. determinada (mol L ⁻¹)	-	$2,0 \times 10^{-5} \pm 4,0 \times 10^{-6}$	$3,8 \times 10^{-5} \pm 2,0 \times 10^{-6}$	$2,7 \times 10^{-5} \pm 3,0 \times 10^{-6}$
Quant. Adicionada (mol L ⁻¹)	$8,5 \times 10^{-6}$	$1,5 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-5}$
Recuperação (%)	99,4	96,7	97,3	102,8
RSD (n=3) (%)	1,2	4,5	3,6	1,9

Fonte: elaborado pelo autor, 2019

7.2. CONCLUSÕES PARCIAIS

Os estudos eletroquímicos para o eletrodo modificado, GCE/rGO-AgNPs, mostraram que AgNPs exibe atividade eletrocatalítica para os quatro antioxidantes (BHT, TBP, BMP e BPA). O eletrodo modificado foi estudado como detector amperométrico para a determinação de antioxidantes por cromatografia líquida de fase reversa. Os limites de detecção obtidos foram: $2,9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (BPA); $4,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (BMP); $6,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (TBP) e $3,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (BHT). O método, empregando GCE/rGO-AgNPs como detector amperométrico em HPLC, demonstrou ser sensível, seletivo e reprodutível, e foi utilizado com sucesso para determinar antioxidantes na amostra de bioquerosene. As concentrações determinadas nesse tipo de amostra foram: $2,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (BHT); $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (BMP) e $3,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (TBP). O antioxidante BPA não foi detectado na amostra analisada. A sensibilidade, seletividade e precisão do método o tornam uma alternativa viável para aplicações analíticas, não só em bioquerosene como também em outras matrizes.

CAPÍTULO VII: CONCLUSÕES

Eletrodos de carbono vítreo foram modificados com óxido de grafeno reduzido, e suas propriedades eletroquímicas frente a quatro antioxidantes sintéticos foram investigadas. O GCE/rGO não apresentou atividade eletrocatalítica frente aos antioxidantes. Este eletrodo foi modificado com nanopartículas de óxidos metálicos (ouro, níquel e prata), que proporcionaram elevada atividade eletrocatalítica para os antioxidantes BHT, BMP, TBP e BPA.

Três métodos foram desenvolvidos para a determinação dos antioxidantes sintéticos em bioquerosene de aviação. Os métodos empregaram eletrodos modificados (GCE/rGO-AuNPs, GCE/rGO-NiNPs e GCE/rGO-AgNPs) como detectores amperométricos em HPLC. Os métodos utilizaram um sistema de separação RP-HPLC, em modo de eluição isocrática, e detecção amperométrica pulsada. A fase móvel consistiu de: acetonitrila/água e NaOH (pós coluna). Os limites de detecção obtidos nos três sistemas de detecção para quatro antioxidantes foram inferiores a $2,8 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Sendo que o GCE/rGO-AuNPs apresentou os menores valores de LD, na ordem de $2,0 \times 10^{-7}$ e melhor sensibilidade.

Os detectores foram utilizados com sucesso na análise de antioxidantes em uma amostra de bioquerosene, com uma simples diluição em acetonitrila. As análises por RP-HPLC-PAD demonstraram a presença de três antioxidantes na amostra de bioquerosene, os quais foram identificados e quantificados: BMP, TBP e BHT. O antioxidante BPA não foi identificado na amostra por nenhum dos três métodos.

Os eletrodos modificados GCE/rGO-AuNPs, GCE/rGO-NiNPs e GCE/rGO-AgNPs podem ser utilizados como detectores amperométricos para determinação rotineira de antioxidantes sintéticos em bioquerosene, empregando RP-HPLC com boa precisão e sem tratamento exaustivo da amostra.

REFERÊNCIAS

- [1] TRIPATHI, A. D.; MISHRA, R.; MAURYA, K. K.; SINGH, R. B.; WILSON, D. W. Estimates for World Population and Global Food Availability for Global Health. **The Role of Functional Food Security in Global Health**, p. 3-24, 2019. DOI:10.1016/B978-0-12-813148-0.00001-3;
- [2] ARAMCO, G. K. S.; GOSLING, C.; UOP, M. J. W. The outlook for transport fuels: Part 1. **Technology Quarterly**, p. 23-31; 2016;
- [3] CARDOSO, L. C. B.; BITTENCOURT, M. V. L.; LITT, W. H.; IRWIN, E. G. Biofuels policies and fuel demand elasticities in Brazil. **Energy Policy**. v. 128, p. 296-305, 2019. DOI: 10.1016/j.enpol.2018.12.035;
- [4] KOUSOULIDOU, M.; LONZA, L. Biofuels in aviation: Fuel demand and CO₂ emissions evolution in Europe toward 2030. **Transportation Research Part D**. v. 46, 166–181, 2016. DOI: 10.1016/j.trd.2016.03.018;
- [5] CREMONEZ, P. A.; FEROLDI, M.; OLIVEIRA, C. J.; TELEKEN, J. G.; ALVES, H. J.; SAMPAIO, S. C. Environmental, economic and social impact of aviation biofuel production in Brazil. **New Biotechnology**, v. 32, n. 2, p. 263-271, 2015. DOI: 10.1016/j.nbt.2015.01.001;
- [6] BRASIL. Resolução nº 778, de 5 de abril de 2019. Diário Oficial da União Publicado em: 08/04/2019, edição: 67, seção: 1, página: 40;
- [7] BASTOS, F. A.; TUBINO, M. The Use of the Liquid from Cashew Nut Shells as an Antioxidant in Biodiesel. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 28, n. 5, p. 748-755, 2017. DOI: 10.21577/0103-5053.20160223
- [8] CHUCK, C. J. **Biofuels for Aviation: Feedstocks, Technology and Implementation**. 1. ed. Amsterdam, Elsevier, 2016;
- [9] KAROVICOVA, J.; SIMKO, P. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 882, p. 271–281, 2000. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00353-8;
- [10] OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10–36, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.04.018;
- [11] OLIVEIRA-NETO, J. R.; REZENDE, S. G.; REIS, C. F.; BENJAMIN, S. R.; ROCHA, M. L.; GIL, E. S. Electrochemical behavior and determination of major phenolic antioxidants in selected coffee samples. **Food Chemistry**, v. 190, p. 506–512, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.05.104;

- [12] HU, J.; WOOD, R.; TUKKER, A.; BOONMAN, H.; DE BOER, B. Global transport emissions in the Swedish carbon footprint. **Journal of Cleaner Production**, v. 226, p. 210–220, 2019. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.03.263;
- [13] DIMITRIOS, D.; SARTZETAKI, M. Assessing air transport socio-economic footprint. **International Journal of Transportation Science and Technology**, v. 7, p. 283–290, 2018. DOI: 10.1016/j.ijtst.2018.07.001;
- [14] CREMONEZ, P. A.; FEROLDI, M.; DE ARAÚJO, A. V.; BORGES, M. N.; MEIER, T. W.; FEIDEN, A.; TELEKEN, J. G. Biofuels in Brazilian aviation: Current scenario and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 43, p. 1063–1072, 2015. DOI: 10.1016/j.rser.2014.11.097;
- [15] DODD, T.; ORLITZKY, M.; NELSON, T. What stalls a renewable energy industry? Industry outlook of the aviation biofuels industry in Australia, Germany, and the USA. **Energy Policy**, v. 123, p. 92–103, 2018. DOI: 10.1016/j.enpol.2018.08.048;
- [16] ZHOU, W.; WANG, T.; YU, Y.; CHEN, D.; ZHU, B. Scenario analysis of CO₂ emissions from China's civil aviation industry through 2030. **Applied Energy**, v. 175, p. 100–108, 2016. DOI: 10.1016/j.apenergy.2016.05.004;
- [17] LLAMAS, A.; GARCÍA-MARTÍNEZ M-J.; AL-LAL, A-M.; CANOIRA, L.; LAPUERTA, M. Biokerosene from coconut and palm kernel oils: Production and properties of their blends with fossil querosene. **Fuel**, v. 102, p. 483–490, 2012. DOI: 10.1016/j.fuel.2012.06.108;
- [18] REBOREDO, J. C. Is there dependence and systemic risk between oil and renewable energy stock prices?. **Energy Economics**, v. 48, p. 32–45, 2014. DOI: 10.1016/j.eneco.2014.12.009;
- [19] CHIARAMONTI, D.; PRUSSI, M.; BUFFI, M.; TACCONI, D. Sustainable bio kerosene: Process routes and industrial demonstration activities in aviation biofuels. **Applied Energy**, v. 136, n. 31, p. 767–774, 2014. DOI: 10.1016/j.apenergy.2014.08.065;
- [20] ARNOLD, M.; TAINTER, J. A.; STRUMSKY D. Productivity of innovation in biofuel technologies. **Energy Policy**, v. 124, p. 54–62, 2018. DOI: 10.1016/j.enpol.2018.09.005;
- [21] ARCHER, S. A.; STEINBERGER-WILCKENS, R. Systematic analysis of biomass derived fuels for fuel cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 52, 2018, p. 23178–23192. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2018.10.161;
- [22] NEULING, U.; KALTSCHMITT, M. Conversion routes for production of biokerosene-status and assessment. **Biomass Conv. Bioref.**, v. 5, p. 367–385, 2014. DOI: 10.1007/s13399-014-0154-2;
- [23] HARI, T. K.; YAAKOB, Z.; BINITHA, N. N. Aviation biofuel from renewable resources: Routes, opportunities and challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 1234–1244, 2015. DOI: 10.1016/j.rser.2014.10.095;

- [24] ASTM D7566-19, Standard Specification for Aviation Turbine Fuel Containing Synthesized Hydrocarbons, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2019;
- [25] NEULING, U.; KALTSCHMITT, M. Techno-economic and environmental analysis of aviation biofuels. **Fuel Processing Technology**, v. 171, p. 54–69, 2018. DOI: 10.1016/j.fuproc.2017.09.022;
- [26] CARAMIT, R. P.; ANDRADE, A. G. F.; SOUZA, J. B. G.; ARAUJO, T. A.; VIANA, L. H.; TRINDADE, M. A. G.; FERREIRA, V. S. A new voltammetric method for the simultaneous determination of the antioxidants TBHQ and BHA in biodiesel using multi-walled carbon nanotube screen-printed electrodes. **Fuel**, v. 105, p. 306–313, 2013. DOI: 10.1016/j.fuel.2012.06.062;
- [27] DELFINO, J. R.; PEREIRA, T. C.; VIEGAS, H. D. C.; MARQUES, E. P.; FERREIRA, A. A. P.; ZHANG, L.; ZHANG, J.; MARQUES, A. L. B. A simple and fast method to determine water content in biodiesel by electrochemical impedance spectroscopy. **Talanta**, v. 179, n. 1, p. 753-759, 2018. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.11.053;
- [28] CHUCK C. J. **Biofuels for Aviation: Feedstocks, Technology and Implementation**. 1 ed. Amsterdam, Elsevier, 2016;
- [29] YANG, J.; XIN, Z.; HE Q. S.; CORSCADDEN K.; NIU, H. An overview on performance characteristics of bio-jet fuels. **Fuel**, v. 237, p. 916-936, 2018. DOI: 10.1016/j.fuel.2018.10.079;
- [30] YAAKOB Z.; NARAYANAN B. N.; PADIKKAPARAMBIL, S.; UNNI, K. S; AKBAR, P. M. A review on the oxidation stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 136-153, 2014. DOI: 10.1016/j.rser.2014.03.055
- [31] WEBSTER, R. L.; RAWSON, P. M.; EVANS, D. J.; MARRIOTT, P. Synthetic Phenolic Antioxidants in Middle Distillate Fuels Analyzed by Gas Chromatography with Triple Quadrupole and Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry. **Energy Fuels**, v. 28, n. 2, p. 1097-1102, 2014. DOI: 10.1021/ef402144v;
- [32] LOEGEL, T. N.; MORRIS, R. E.; MYERS, K. M.; KATILIE, C. J. Analysis of Phenolic Antioxidants in Navy Mobility Fuels by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. **Energy Fuels**, v. 28, p. 6267–6274, 2014. DOI: 10.1021/ef5013984;
- [33] RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; BASAGLIA G.; PIETROGRANDE M. C.; CELA R. Determination of synthetic phenolic antioxidants and their metabolites in water samples by downscaled solid-phase extraction, silylation and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 41, p. 6428–6435, 2010. DOI: 10.1016/j.chroma.2010.08.020;
- [34] DING, M.; ZOU, J. Rapid micropreparation procedure for the gas chromatographic–mass spectrometric determination of BHT, BHA and TBHQ in edible oils. **Food Chemistry**, v. 131, n. 3, p. 1051–1055, 2012. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.09.100;

- [35] CAPITÁN-VALLVEY L. F.; VALENCIA, M. C.; NICOLAS, E. A. Solid-phase ultraviolet absorbance spectrophotometric multisensor for the simultaneous determination of butylated hydroxytoluene and co-existing antioxidants. **Analytica Chimica Acta**, v. 503, n. 2, p. 179-186, 2004. DOI: 10.1016/j.aca.2003.10.027;
- [36] FREITAS, K. H. G.; FATIBELLO-FILHO O. Simultaneous determination of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in food samples using a carbon composite electrode modified with $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ immobilized in polyester resin. **Talanta**, v. 81, n. 3, p. 1102-1108, 2010. DOI: 10.1016/j.talanta.2010.02.004;
- [37] TOMÁŠKOVÁ, M.; CHYLKOVÁ, J.; JEHLICK, V.; NAVRÁTIL, T.; ŠVANCARA, S.; ŠELEŠOVSKÁ, R. Simultaneous determination of BHT and BHA in mineral and synthetic oils using linear scan voltammetry with a gold disc electrode. **Fuel**, v. 123, p. 107-112, 2014. DOI: 10.1016/j.fuel.2014.01.052;
- [38] TOMÁŠKOVÁ, M.; CHÝLKOVÁ, T.; NAVRÁTIL, T.; ŠELEŠOVSKA, R. Voltammetric Determination of TBHQ Individually and Mixed with BHT in Petroleum Products Using a Gold Disc Electrode. **Energy Fuels**, v. 28, n. 7, p. 4731-4736, 2014. DOI: 10.1021/ef500743t;
- [39] WANG, L.; YANG, R.; WANG, H.; LI, J.; QU, L.; HARRINGTON, P. B. High-selective and sensitive voltammetric sensor for butylated hydroxyanisole based on AuNPs-PVP-graphene nanocomposites. **Talanta**, v. 138, p. 169-175, 2015. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.01.016;
- [40] LIN, X.; NI, Y.; KOKOT, S. Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants. **Analytica Chimica Acta**, v. 765, p. 54-62, 2013. DOI: 10.1016/j.aca.2012.12.036;
- [41] CHEN, M.; HU, X.; TAI, Z.; QIN, H.; TANG, H.; LIU, M.; YANG, Y. Determination of Four Synthetic Phenolic Antioxidants in Edible Oils by High-Performance Liquid Chromatography with Cloud Point Extraction Using Tergitol TMN-6. **Food Anal. Methods**, v. 6, n.1, p. 28-35, 2013. DOI: 10.1007/s12161-012-9413-7;
- [42] SAAD, B.; SING, Y. Y.; NAWI, M. A.; HASHIM, N. H.; ALI, A. S. M.; SALEH, M. I.; SULAIMAN, S. F.; TALIB, K. M.; AHMAD K. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. **Food Chemistry**, v. 105, n. 1, p. 389–394, 2007. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.12.025;
- [43] KIM, J-M.; CHOI, S-H.; SHIN, G-H.; LEE, J-H.; KANG, S-R.; LEE, K-Y.; LIM, H-S.; KANG, T. S.; LEE, O-H. Method validation and measurement uncertainty for the simultaneous determination of synthetic phenolic antioxidants in edible oils commonly consumed in Korea. **Food Chemistry**, v. 213, p. 19–25, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.06.053;
- [44] LI, J.; BI, Y.; SUN, S.; PENG, D. Simultaneous analysis of tert-butylhydroquinone, tert-butylquinone, butylated hydroxytoluene, 2-tert-butyl-4-hydroxyanisole, 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole, α -tocopherol, γ -tocopherol, and δ -tocopherol in edible oils by normal-phase high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 234, p. 205-211, 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.04.176;

- [45] WANG, J-Y.; WU, H-L.; CHEN, Y.; SUN, Y-M.; YU, Y.; ZHANG, X-H.; YU, R-Q. Fast analysis of synthetic antioxidants in edible vegetable oil using trilinear component modeling of liquid chromatography–diode array detection data. **Journal of Chromatography A**, v. 1264, p. 63–71, 2012. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.09.070;
- [46] ROVIRA-GALIMANY, F.; PÉREZ-LOZANO, P.; SUÑE-NEGRE, J.; GARCÍA-MONTOYA, E.; MIÑARRO, M.; TICÓ, J. R. Development and validation of a new RP-HPLC method for the simultaneous determination of hydroquinone, kojic acid, octinoxate, avobenzone, BHA and BHT in skin-whitening cream. **Anal. Methods**, v. 8, p. 1170-1180, 2016. DOI: 10.1039/C5AY02207J;
- [47] WANG, J-Y.; WU, H-L.; SUN, Y-M.; GU, H-W.; LIU, Z.; LIU, Y-J.; YU, R-Q. Simultaneous determination of phenolic antioxidants in edible vegetable oils by HPLC–FLD assisted with second-order calibration based on ATLD algorithm. **Journal of Chromatography B**, v. 947-948, p. 32-40, 2014. DOI: 10.1016/j.jchromb.2013.12.009;
- [48] SILVEIRA, G. D.; MOTTA, M. J.; MULLER, L. S.; LAMEIRA, O.; ATHAYDE, M. L.; PIANA, M.; ROSA, M. B.; VIANA, C.; CARVALHO, L. M. Determination of Phenolic Antioxidants in Amazonian Medicinal Plants by HPLC with Pulsed Amperometric Detection. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**. v. 38, n. 13, p. 1259-1266, 2015. DOI: 10.1080/10826076.2015.1037450;
- [49] BARDPHO, C.; RATTANARAT, P.; SIANGPROH W.; CHAILAPAKUL, O. Ultra-high performance liquid chromatographic determination of antioxidants in teas using inkjet-printed graphene-polyaniline electrode. **Talanta**, v. 148, p. 673-679, 2016. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.05.020;
- [50] ÖZGÜR, M.; KALAYCIOĞLU, Z.; DÜLGER, O. Simultaneous spectrophotometric determination of phenolic Antioxidant (BHA and BHT) concentrations in pharmaceutical preparations and chewing gums using the h-point standard addition method. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**. v. 36, n. 2, p. 211-222, 2017. DOI: 10.20450/mjcce.2017.1330;
- [51] PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Rev. Virtual Quim.** v. 5, n. 4, p. 516-537, 2013. DOI: 10.5935/1984-6835.20130040;
- [52] LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Quim. Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000600029;
- [53] PEREIRA, F. C.; BERGANO, E. P.; ZANONI, M. V. B.; MORETTO, L. M.; UGO, P. Aplicações de nanoeletrodos como sensores na química analítica. **Quim. Nova**, v. 29, n. 5, p. 1054-1060, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000500027;
- [54] BAVOL, D.; ECONOMOU, A.; ZIMA, J.; BAREK, J.; DEJMKOVA, H. Simultaneous determination of tert-butylhydroquinone, propyl gallate, and butylated hydroxyanisole by flow-injection analysis with multiple-pulse amperometric detection. **Talanta**. v. 178, p. 231-236, 2018. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.09.032;

- [55] TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amperometric detection. **Talanta**. v. 99, p. 527-531, 2012. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.06.024;
- [56] TORMIN, T. F.; GIMENES, D. T.; SILVA, L. G.; RUGGIERO, R.; RICHTER, E. M.; FERREIRA, V. S.; MUÑOZ, R. A. A. Direct amperometric determination of tert-butylhydroquinone in biodiesel. **Talanta**. v. 82, n. 4, p. 1599-1603, 2010. DOI: 10.1016/j.talanta.2010.07.011;
- [57] STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 14, n. 2, p. 159-173, 2003. DOI: 10.1590/S0103-50532003000200003;
- [58] DOBES, J.; ZITKA, O.; SOCHOR, J.; RUTTKAY-NEDECKY, B.; BABULA, P.; MIROSLAVA, B.; KYNICKY, J.; HUBALEK, J.; KLEJDUS, B.; KIZEK, R.; ADAM, V. Electrochemical Tools for Determination of Phenolic Compounds in Plants. A Review. **Int. J. Electrochem. Sci.** v. 8, p. 4520-4542, 2013.
- [59] NI, Y.; WANG, L.; SOKOT, S. Voltammetric determination of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, propyl gallate and tert-butylhydroquinone by use of chemometric approaches. **Analytica Chimica Acta**, v. 412, n. 1-2, p. 185-193, 2000. DOI: 10.1016/S0003-2670(00)00720-0;
- [60] CHÝLKOVÁ, J.; MACHALICKÝ, O.; TOMÁŠKOVÁ, M.; ŠELEŠOVSKÁ, R.; NAVRÁTIL, T. Voltammetric Determination of Nitro Derivative of Synthetic Antioxidant 2,6-di-tert-butyl-4-methyl-phenol. **Analytical Letters**. v. 49, n. 1, p. 92-106, 2015. DOI: 10.1080/00032719.2015.1007376;
- [61] DE ARAUJO, T. A.; BARBOSA, A. M. J.; VIANA, L. H.; FERREIRA, V. S. Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples. **Fuel**, v. 90, n. 2, p. 707-712, 2011. DOI: 10.1016/j.fuel.2010.09.022;
- [62] GOULART, L. A.; TEIXEIRA, A. R. L.; RAMALHO, D. A.; TEREZO, A. J.; CASTILHO, M. Development of an analytical method for the determination of tert-butylhydroquinone in soybean biodiesel. **Fuel**, v. 115, p. 126-131, 2014. DOI: 10.1016/j.fuel.2013.06.050;
- [63] DELLA PELLE, F.; BATTISTA, R. D.; VÁZQUEZ, L.; PALOMARES, F. J.; DEL CARLO, M.; SERGI, M.; COMPAGNONE, D.; ESCARPA, A. Press-transferred carbon black nanoparticles for class-selective antioxidant electrochemical detection. **Applied Materials Today**, v. 9, p. 29-36, 2017. DOI: 10.1016/j.apmt.2017.04.012;
- [64] DE OLIVEIRA, L. H.; SOUZA, A. C. D.; PIZZUTI, L.; FERREIRA, V. S.; PRADELA FILHO, L. A.; TAKEUCHI, R. M.; DOS SANTOS, A. L.; TRINDADE, M. A. G. Determinação Voltamétrica do Antioxidante Galato de Propila em Biodiesel Empregando Eletrodos de Pasta de Carbono Modificados com Líquido Iônico. **Orbital: Electron. J. Chem.** v. 6, n. 4, p. 255-266, 2014;

- [65] IFTIKHAR, F. J.; SHAH, A.; AKHTER, M. S.; KURBANOGU, S.; OZKAN, S. A. **Introduction to Nanosensors**. In: *New Developments in Nanosensors for Pharmaceutical Analysis*. p. 1-46, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-12-816144-9.00001-8;
- [66] BEZZON, V. D. N.; MONTANHEIRO, T. L. A.; MENEZES, B. R. C.; RIBAS, R. G.; RIGHETTI, V. A. N.; RODRIGUES, K. F.; THIM, G. P. Carbon Nanostructure-based Sensors: A Brief Review on Recent Advances. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2019, p. 1-21. DOI: 10.1155/2019/4293073;
- [67] BARRY, S.; O'RIORDAN, A. **Electrochemical nanosensors: advances and applications**. Reports in Electrochemistry, 2016:6 1–14. DOI: 10.2147/RIE.S80550;
- [68] YU, S.; SUN, C.-J.; CHOW, G.-M. Chemical Synthesis of Nanostructured Particles and Films. Carl C. Koch (ed.), **Nanostructured Materials: Processing, Properties, and Applications**, 2nd Ed., 3–46, 2007. DOI: 10.1016/B978-081551534-0.50003-8;
- [69] BAKIRHAN, N. K.; SHAH, A.; OZKAN, S. A. Noble Metal Nanoparticles in Electrochemical Analysis of Drugs. In: **New Developments in Nanosensors for Pharmaceutical Analysis**. p. 171-195, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-12-816144-9.00006-7
- [70] VISWANATHAN, P.; RAMARAJ, R. Functionalized Graphene Nanocomposites for Electrochemical Sensors. **Graphene-Based Electrochemical Sensors for Biomolecules**. 1st Edition, 2018. DOI: 10.1016/B978-0-12-815394-9.00002-9;
- [71] LEE, X. J.; HIEW, B. Y. Z.; LAI, K. C.; LEE, L. Y.; GAN, S.; THANGALAZHY-GOPAKUMAR, S.; RIGBY, S. Review on graphene and its derivatives: Synthesis methods and potential industrial implementation. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 98, p. 163–180, 2019. DOI: 10.1016/j.jtice.2018.10.028;
- [72] LAWAL, A. T. Graphene-based nano composites and their applications. A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 141, 111384. DOI: 10.1016/j.bios.2019.111384;
- [73] PAPAGEORGIOU, D. G.; KINLOCH, I. A.; YOUNG, R. J. Mechanical properties of graphene and graphene-based nanocomposites. **Progress in Materials Science**, v. 90, p. 75-127, 2017. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2017.07.004;
- [74] WANG, H.; SHEN, C.; LIU, J.; ZHANG, W.; YAO, S. Three-dimensional MnCo₂O₄/graphene composites for supercapacitor with promising electrochemical properties. **Journal of Alloys and Compounds**. v. 792, p. 122-129, 2019. DOI: 10.1016/j.jallcom.2019.03.405;
- [75] IQBAL, M. Z.; REHMAN, A.-U.; SIDDIQUE, S. Prospects and challenges of graphene based fuel cells. **Journal of Energy Chemistry**. v. 39, p. 217-234, 2019. DOI: 10.1016/j.jechem.2019.02.009;
- [76] MA, J.; QIN, C.; LI, Y.; REN, F.; LIU, Y.; WANG, G. Properties of reduced graphene oxide for Mg-air battery. **Journal of Power Sources**. v. 430, p. 244-251, 2019. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2019.05.034;

- [77] ALBERO, J.; GARCIA, H. Doped graphenes in catalysis. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 408, p. 296-309, 2015. DOI: 10.1016/j.molcata.2015.06.011;
- [78] LI, M.-F.; LIU, Y.-G.; ZENG, G.-M.; LIU, N.; LIU, S.-B. Graphene and graphene-based nanocomposites used for antibiotics removal in water treatment: A review. **Chemosphere**. v. 226, p. 360-380, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.117;
- [79] JUSTINO, C. I. L.; GOMES, A. R.; FREITAS, A. C.; DUARTE, A. C.; ROCHA-SANTOS, T. A. P. Graphene based sensors and biosensors. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 91, p. 53-66, 2017. DOI: 10.1016/j.trac.2017.04.003;
- [80] AL-GAASHANI, R.; NAJJAR, A.; ZAKARIA, Y.; MANSOUR, S.; ATIEH, M. A. XPS and structural studies of high quality graphene oxide and reduced graphene oxide prepared by different chemical oxidation methods. **Ceramics International**, v. 45, n. 11, p. 14439-14448, 2019. DOI: 10.1016/j.ceramint.2019.04.165;
- [81] ROWLEY-NEALE, S. J.; RANDVIIR, E. P.; DENA, A. S. A.; BANKS, C. E. An overview of recent applications of reduced graphene oxide as a basis of electroanalytical sensing platforms. **Applied Materials Today**. V.10, p. 218–226, 2018. DOI: 10.1016/j.apmt.2017.11.010;
- [82] VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, P.; RODRÍGUEZ-ESCUADERO, M. A.; BURGOS, F. J.; LLORENTE, I.; CABALLERO-CALERO, O.; GONZÁLEZ, M. M.; FERNÁNDEZ, R.; GARCÍA-ALONSO, M. C. Synthesis of Cu/rGO composites by chemical and thermal reduction of graphene oxide. **Journal of Alloys and Compounds**. v. 800, p. 379-391, 2019. DOI: 10.1016/j.jallcom.2019.06.008;
- [83] SALEEM, H.; HANEEF, M.; ABBASI, H. Y. Synthesis route of reduced graphene oxide via thermal reduction of chemically exfoliated graphene oxide. **Materials Chemistry and Physics**. V. 204, p. 1-7, 2018. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2017.10.020;
- [84] MARRANI, A. G.; MOTTA, A.; SCHREBLER, R.; ZANONI, R.; DALCHIELE, E. A. Insights from experiment and theory into the electrochemical reduction mechanism of graphene oxide. **Electrochimica Acta**. v. 304, p. 231-238, 2019. DOI: 10.1016/j.electacta.2019.02.108;
- [85] MCCOY, T. M.; TURPIN, G.; TEO, B. M.; TABOR, R. F. Graphene oxide: a surfactant or particle? **Current Opinion in Colloid & Interface Science**. V. 39, p. 98-109, 2019. DOI: doi.org/10.1016/j.cocis.2019.01.010;
- [86] SMITH, A.; LACHANCE, A. M.; ZENG, S.; LIU, B.; SUN, L. Synthesis, properties, and applications of graphene oxide/reduced graphene oxide and their nanocomposites. **Nano Materials Science**, v. 1, p. 31-47, 2019. DOI: 10.1016/j.nanoms.2019.02.004;
- [87] PHONG, N. H.; TOAN, T. T. T.; TINH, M. X.; TUYEN, T. N.; MAU, T. X.; KHIEU, D. Q. Simultaneous Voltammetric Determination of Ascorbic Acid, Paracetamol, and

Caffeine Using Electrochemically Reduced Graphene-Oxide-Modified Electrode. **Journal of Nanomaterials**. v. 2018. DOI: 10.1155/2018/5348016;

[88] WANG, P.; HAN, C.; ZHOU, F.; LU, J.; HAN, X.; WANG, Z. Electrochemical determination of tert-butylhydroquinone and butylated hydroxyanisole at choline functionalized film supported graphene interface. **Sensors and Actuators B**, v. 224 p. 885-891, 2016. DOI: 10.1016/j.snb.2015.10.098;

[89] FILIK, H.; ÇETINTAS, G.; AVAN, A. A.; AYDAR, S.; KOÇ, S. N.; BOZ, I. Square-wave stripping voltammetric determination of caffeic acid on electrochemically reduced graphene oxide-Nafion composite film. **Talanta**, v. 116, p. 245–250, 2013. DOI: 10.1016/j.talanta.2013.05.031;

[90] HU, F.; CHEN, S.; WANG, C.; YAN, R.; YUAN, D.; WANG, C. Study on the application of reduced graphene oxide and multiwall carbon nanotubes hybrid materials for simultaneous determination of catechol, hydroquinone, p-cresol and nitrite. **Analytica Chimica Acta**. v. 724, p. 40-46, 2012. DOI: 10.1016/j.aca.2012.02.037;

[91] SHNOUDEH, A. J.; HAMAD, I.; ABDO, R. W.; QADUMII, L.; JABER, A. Y.; SURCHI, H. S.; ALKELANY, S. Z. Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles. In: **Biomaterials and Bionanotechnology Advances in Pharmaceutical Product Development and Research**. 2019, p. 527-612. DOI: 10.1016/B978-0-12-814427-5.00015-9

[92] NAM, N. H.; LUONG, N. H. Nanoparticles: synthesis and applications. **Materials for Biomedical Engineering Inorganic Micro and Nanostructures**. 2019, p. 211-240. DOI: 10.1016/B978-0-08-102814-8.00008-1

[93] TEOH, Y.; ASHARANI, P. V.; HANDE, M. P.; VALIYAVEETTIL, S. Health impact and safety of engineered nanomaterials. **Chem. Commun.**, v. 47, 7025–7038, 2011. DOI: 10.1039/C0CC05271J;

[94] KIM, H.-K.; ARAVINDAN, V.; MHAMANE, D.; YOON, S.-B.; PARK, S.-H.; NAZARIAN-SAMANI, M.; HAN, J. T.; PARK, H. S.; ROH, K. C.; KIM, K.-B. Bulk metal-derived metal oxide nanoparticles on oxidized carbon surface. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 752, p. 198-205, 2018. DOI: 10.1016/j.jallcom.2018.04.125

[95] QU, J.; CHEN, H.; DONG, S. In Situ Fabrication of Noble Metal Nanoparticles Modified Multiwalled Carbon Nanotubes and Related Electrocatalysis. **Electroanalysis**, v. 20, n. 22, p. 2410-2415, 2008. DOI: 10.1002/elan.200704323;

[96] LIU, F.; LONG, H.; DUAN, X.; LI, YUN-YAN.; HU, JIN-QUAN; LI, BAI-HUI; LU, J. A facile method to prepare noble metal nanoparticles modified Self-Assembly (SAM) electrode. *Journal of Experimental Nanoscience*, v. 13, n. 1, p. 1–10, 2018. DOI: 10.1080/17458080.2017.1373202;

[97] YUE, X.; SONG, W.; ZHU, W.; WANG, J.; WANG, Y. In situ surface electrochemical co-reduction route towards controllable construction of AuNPs/ERGO electrochemical sensing platform for simultaneous determination of BHA and TBHQ.

Electrochimica Acta, v. 182, p. 847–855, 2015. DOI: 10.1016/j.electacta.2015.09.162;

[98] THIRUMALRAJ, B.; RAJKUMAR, C.; CHEN, S-M, PALANISAMY, S. One-Pot Green Synthesis of Graphene Nanosheets Encapsulated Gold Nanoparticles for Sensitive and Selective Detection of Dopamine. **Scientific Reports**, v. 7, n. 41213, p. 1-11, 2017. DOI: 10.1038/srep41213;

[99] BELUOMINI, M. A.; SILVA, J. L.; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. 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. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.12.040;

[100] YI, W.; LI, Z.; DONG, C.; LI, H.-W.; LI, J. Electrochemical detection of chloramphenicol using palladium nanoparticles decorated reduced graphene oxide. **Microchemical Journal**, v. 148, p. 774-783, 2019. DOI: 10.1016/j.microc.2019.05.049;

[101] LIU, Y.; HUANG, Z.; XIE, Q.; SUN, L.; GU, T.; LI, Z.; BU, L.; YAO, S.; TU, X.; LUO, X.; LUO, S. Electrodeposition of electroreduced graphene oxide-Au nanoparticles composite film at glassy carbon electrode for anodic stripping voltammetric analysis of trace arsenic(III). **Sensors and Actuators B**, v. 188, p. 894-901, 2013. DOI: 10.1016/j.snb.2013.07.113;

[102] DONINI, C. A.; DA SILVA, M. K. L.; SIMÕES, R. P.; CESARINO, I. Reduced graphene oxide modified with silver nanoparticles for the electrochemical detection of estriol. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 809, p. 67-73, 2018. DOI: 10.1016/j.jelechem.2017.12.054;

[103] IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version, 2019;

[104] COSKUN, O. Separation techniques: Chromatography. **North Clin Istanbul**, v. 3, n. 2, p. 156–60, 2016. DOI: 10.14744/nci.2016.32757;

[105] MOLDOVEANU, S. C.; DAVID, V. Chapter 3 - Short Overviews of the Main Analytical Techniques Containing a Separation Step. **Selection of the HPLC Method in Chemical Analysis**, v. 2017, p. 55-85. DOI: 10.1016/B978-0-12-803684-6.00003-2;

[106] DIEHL, D. M.; BELL, D. S.; BOJKO, B. Liquid Chromatography: Pharmaceutical Applications. *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*. 2019, p. 192-208. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14492-0;

[107] SANDER, L. C.; SCHANTZ, M. M.; WISE, S. A. Chapter 14 - Environmental Analysis: Persistent Organic Pollutants. **Liquid Chromatography Applications**, p. 337-388, 2017. DOI: 10.1016/B978-0-12-805392-8.00014-1;

- [108] HERRERO, M. Liquid Chromatography: Food Applications. **Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)**, 2019, p. 64-74. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.00290-0
- [109] KOSTAKIS, C.; HARPAS, P.; STOCKHAM, P. Chapter 10 - Forensic Toxicology. **Liquid Chromatography Applications**. 2013, p. 249-293. DOI: 10.1016/B978-0-12-415806-1.00010-3;
- [110] SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. **Introduction to modern liquid chromatography**. 3rd ed. John Wiley & Sons. 2009. DOI: 10.1002/9780470508183;
- [111] KUMAR, B. R. K. Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 7 p. 349–364, 2017. DOI: 10.1016/j.jpha.2017.06.005;
- [112] KLIMEK-TUREK, A.; DZIDO, T. H. Separation selectivity of some phenolic acids in RP HPLC systems with binary mobile phase comprised various modifiers. **Adsorption**. v. 16, n. 4–5, p. 287–294, 2010. DOI: 10.1007/s10450-010-9241-2;
- [113] PARRIS, N. A.; **Instrumental liquid chromatography a practical manual on high-performance liquid chromatographic methods**. Second edition, Elsevier Science, 1985;
- [114] WANG, J.-Y.; WU, H.-L.; CHEN, Y.; SUN, Y.-M.; YU, Y.-J.; ZHANG, X.-H.; YU, R.-Q. Fast analysis of synthetic antioxidants in edible vegetable oil using trilinear component modeling of liquid chromatography–diode array detection data. **Journal of Chromatography A**, v. 1264, p. 63–71, 2012. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.09.070;
- [115] KAROVICOVA, J.; SIMKO, P. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 882, p. 271-281, 2000. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00353-8;
- [116] CAMPÍNS-FALCÓ, P.; HERRÁEZ-HERNÁNDEZ, R.; SERRA-MORA, P. Liquid Chromatography: Instrumentation. **Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)**. 2019, p. 108-116. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14218-0;
- [117] FANALI, S.; HADDAD, P. R.; POOLE, C. F.; SCHOENMAKERS, P.; LLOYD, D. **Liquid Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation**. Elsevier, 2013. DOI: 10.1016/C2015-0-04294-0;
- [118] ZHANG, J.; LIU, W.-W.; QIAO, J.-Q.; LIAN, H.-Z. Determination of 2,6-di-tert-butylphenol in Irganox 1425. **Res Chem Intermed**. v. 39, p. 2035–2041, 2013. DOI: 10.1007/s11164-012-0734-3;
- [119] LIU, R.; RUAN, T.; SONG, S.; LIN, Y.; JIANG, G. Determination of synthetic phenolic antioxidants and relative metabolites in sewage treatment plant and recipient river by high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, V. 1381, p. 13-21, 2015. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.11.042;

- [120] WANG, J.; THOMSON, M.; CONNOLLY, T.; TONG, A. Z. Development of an analytical method for determining hindered phenolic antioxidants in exhaust emissions from light-duty vehicles. **Atmospheric Pollution Research**, v. 7, p. 326-332, 2016. DOI: 10.1016/j.apr.2015.10.009;
- [121] AKKBIK, M.; ASSIM, Z. B.; AHMAD, F. B. Optimization and Validation of RP-HPLC-UV/Vis Method for Determination Phenolic Compounds in Several Personal Care Products. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2011, n. 858153, p. 1-9. DOI: 10.1155/2011/858153;
- [122] VAGHELA, B.; RAO, S. S.; SHARMA, N.; BALAKRISHNA, P.; REDDY, A. M. Development and validation of a reverse phase-liquid chromatographic method for the estimation of butylated hydroxytoluene as antioxidant in paricalcitol hard gelatin capsule formulation dosage form. **Pharmaceutical Methods**, v. 2, n. 4. p. 235-241, 2011. DOI: 10.4103/2229-4708.93392;
- [123] WANG, J.-Y.; WU, H.-L.; SUN, Y.-M.; GU, H.-W.; LIU, Z.; LIU, Y.-J.; YU, R.-Q. Simultaneous determination of phenolic antioxidants in edible vegetable oils by HPLC-FLD assisted with second-order calibration based on ATLD algorithm. **Journal of Chromatography B**, v. 947-948, p. 32-40, 2014. DOI: 10.1016/j.jchromb.2013.12.009;
- [124] SHASHA, D.; MAGOGO, C.; DZOMBA, P. Reversed Phase HPLC-UV Quantitation of BHA, BHT and TBHQ in Food Items Sold in Bindura Supermarkets, Zimbabwe. **International Research Journal of Pure & Applied Chemistry**, v. 4, n. 5, p. 578-584, 2014;
- [125] LI, J.; BI, Y.; SUN, S.; PENG, D. Simultaneous analysis of tert-butylhydroquinone, tert-butylquinone, butylated hydroxytoluene, 2-tert-butyl-4-hydroxyanisole, 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole, α -tocopherol, γ -tocopherol, and δ -tocopherol in edible oils by normal-phase high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 234, p. 205–211, 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.04.176;
- [126] THIBEAULT, D.; SU, H.; MACNAMARA E.; SCHIPPER, H. M. Isocratic rapid liquid chromatographic method for simultaneous determination of carotenoids, retinol, and tocopherols in human serum. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 1077-1083, 2009. DOI: 10.1016/j.jchromb.2009.02.051;
- [127] APARICIO, A.; ANDRÉS, M. P. S.; VERA, S. Separation and Determination of Phenolic Antioxidants by HPLC with Surfactant/n-Propanol Mobile Phases. **J. High Resol. Chromatogr.** v. 23, n. 4, p. 324–328, 2000. DOI: 10.1002/(SICI)1521-4168(20000401)23:4<324::AID-JHRC324>3.0.CO;2-I;
- [128] ZHANG, K.; KURITA, K.; VENKATRAMANI, C.; RUSSELL, D. Seeking universal detectors for analytical characterizations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 162, p. 192-204, 2019. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.09.029;
- [129] SHARMA, S.; TOLLEY, L. T.; TOLLEY, H. D.; PLISTIL, A.; STEARNS, S. D.; LEE, M. L. Hand-portable liquid chromatographic instrumentation. **Journal of Chromatography A**. v. 1421, p. 38-47, 2015. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.07.119;

- [130] GIL, R. L.; AMORIM, C. G.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M.; ARAÚJO, A. N. Potentiometric detection in liquid chromatographic systems: An overview. **Journal of Chromatography A**, v. 1602, p. 326-340, 2019. DOI: 10.1016/j.chroma.2019.06.006;
- [131] ŠTULÍK, K.; PACÁKOVÁ, V. Electrochemical detection techniques in high-performance liquid chromatography. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 129, n. 1–2, p. 1-24, 1981. DOI: 10.1016/S0022-0728(81)80002-2;
- [132] PENG, L.-Q.; CAO, J.; DU, L.-J.; ZHANG, Q.-D.; SHI, Y.-T.; XU, J.-J. Analysis of phenolic acids by ionic liquid-in-water microemulsion liquid chromatography coupled with ultraviolet and electrochemical detector. **Journal of Chromatography A**, v. 1499, p. 132-139, 2017. DOI: 10.1016/j.chroma.2017.03.086;
- [133] LACOURSE, W. R. Pulsed Electrochemical Detection in High-Performance Liquid Chromatography. John Wiley & Sons, Inc. New York, Techniques in Analytical Chemistry Series, 1997;
- [134] JOHNSON, D. C.; LACOURSE, W. R. Liquid Chromatography with Pulsed Electrochemical Detection. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 10, 1990. DOI: 10.1021/ac00209a001;
- [135] SWARTZ, M. HPLC Detectors: A Brief Review. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 33, p. 1130–1150, 2010. DOI: 10.1080/10826076.2010.484356;
- [136] BERNABEI, M.; BOCCHINFUSO, G.; CARROZZO, P.; DE ANGELIS, C. Determination of phenolic antioxidants in aviation jet fuel. **Journal of Chromatography A**, v. 871, n. 1-2, p. 235-241, 2000. DOI: 10.1016/S0021-9673(99)01274-1;
- [137] DA SILVA, J. L.; BELUOMINI, M. A.; STRADIOTTO, N. R. Determination of furanic aldehydes in sugarcane bagasse by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection using a modified electrode with nickel nanoparticles. **J. Sep. Sci.** v. 38, p. 3176–3182, 2015. DOI: 10.1002/jssc.201500253;
- [138] BARDPHO, C.; RATTANARAT, P.; SIANGPROH, W.; CHAILAPAKUL, O. Ultra-high performance liquid chromatographic determination of antioxidants in teas using inkjet-printed graphene–polyaniline electrode. **Talanta**, v. 148, p. 673–679, 2016. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.05.020;
- [139] FREITAS, P. V.; DA SILVA, D. R.; BELUOMINI, M. A.; DA SILVA, J. L.; STRADIOTTO, N. R. Determination of Phenolic Acids in Sugarcane Vinasse by HPLC with Pulse Amperometry. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2018, p. 1-10. DOI: 10.1155/2018/4869487;
- [140] SEDENHO, G. C.; DA SILVA, J. L.; BELUOMINI, M. A.; DE SÁ, A. C.; STRADIOTTO, N. R. Determination of Electroactive Organic Acids in Sugarcane Vinasse by High Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection Using a Nickel Nanoparticle Modified Boron-Doped Diamond.

Energy Fuels, v. 31, n. 3, p. 2865-2870, 2017. DOI: 10.1021/acs.energyfuels.6b02783;

[141] DALE, A.; BROWNSON, C.; BANKS, C. E. Graphene electrochemistry: an overview of potential applications. **Analyst**, v. 135, p. 2768–2778, 2010. DOI: 10.1039/C0AN00590H;

[142] YANG, S.; LOHE, M. R.; MULLEN, K.; FENG, X. New-Generation Graphene from Electrochemical Approaches: Production and Applications. **Adv. Mater.** v. 28, p. 6213–6221, 2016. DOI: 10.1002/adma.201505326;

[143] WANG, Z.; ZHOU, X.; ZHANG, J.; BOEY, F.; ZHANG, H. Direct electrochemical reduction of a single-layer graphene oxide and subsequent functionalization with glucose oxidase, **J. Phys. Chem., C**, v. 113, p. 14071-14075, 2009. DOI: 10.1021/jp906348x;

[144] RAJ, M.A.; JOHN, S. A. Fabrication of Electrochemically Reduced Graphene Oxide Films on Glassy Carbon Electrode by Self-Assembly Method and Their Electrocatalytic Application, **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, p. 4326-4335, 2013. DOI: 10.1021/jp400066z;

[145] AOUN, S. B. Size-controlled Electrocatalysis of Glucose Oxidation in an Alkaline Solution at AuNPS Electrodeposited onto Glassy Carbon Electrodes. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 8, p. 10454-10460, 2013;

[146] KOTNIK, D.; NOVIC, M.; LACOURSE, W. R.; PIHLAR, B. Cathodic re-activation of the gold electrode in pulsed electrochemical detection of carbohydrates. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 663, n. 1, p. 30-35, 2011. DOI: 10.1016/j.jelechem.2011.09.026;

[147] SUGANO Y, LATONEN R-M, AKIEH-PIRKANNIEMI M, BOBACKA J, IVASKA A. Electrocatalytic Oxidation of Cellulose at a Gold Electrode. **ChemSusChem**, v. 7, p. 2240-2247, 2014. DOI: 10.1002/cssc.201402139;

[148] SREJIĆ I, SMILJANIĆ M, RAKOČEVIĆ Z, ŠTRBAC S. Oxygen Reduction on Au(100)-like Polycrystalline Gold Electrode in Alkaline Solution. **Int. J. Electrochem. Sci.** v. 11, p. 10436-10448, 2016. DOI: 10.20964/2016.12.51;

[149] GREKULOVIĆ, V. J.; RAJČIĆ-VUJASINOVIĆ, M. M.; STEVIĆ, Z. M. Electrochemical Characterization of a Commercial Au-Ag-Cu Alloy in an Acidic Medium. **Int. J. Electrochem. Sci.** v. 11, p. 165-174, 2016;

[150] BARD, A. J.; FAULNER, L. R. Electrochemical methods: fundamentals and applications. 2nd. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001;

[151] RHIEU SY, REIPA V. Tuning the Size of Gold Nanoparticles with Repetitive Oxidation-reduction Cycles. **American Journal of Nanomaterials**, v. 3, p. 15-21, 2015. DOI: 10.12691/ajn-3-1-2;

- [152] PAJKOSSY T, JURCZAKOWSKI R. Electrochemical impedance spectroscopy in interfacial studies. **Curr. Opin. Electrochem.** V. 1, n. 1, p. 53–58, 2017. DOI: 10.1016/j.coelec.2017.01.006;
- [153] ROVIRA-GALIMANY, F.; PÉREZ-LOZANO, P.; SUÑE-NEGRE. J; GARCÍA-MONTOYA, E.; MIÑARRO, M.; TICÓ, J. R. Development and validation of a new RP-HPLC method for the simultaneous determination of hydroquinone, kojic acid, octinoxate, avobenzone, BHA and BHT in skin-whitening cream. **Anal. Methods**, v. 8, p. 1170-1180, 2016. DOI: 10.1039/C5AY02207J;
- [154] SILVA, J. L.; BELUOMINI, M. A.; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. Determination of amino acids in sugarcane vinasse by ion chromatographic using nickel nanoparticles on reduced graphene oxide modified electrode. **Microchemical Journal**, v. 134, p. 374-382, 2017. DOI: 10.1016/j.microc.2017.07.007;
- [155] BICKING, M. K. L. Integration Errors in Chromatographic Analysis, Part I: Peaks of Approximately Equal Size. LCGC North America, Vol 24, N. 4, 2006;
- [156] MEYER, V. R. Practical High-Performance Liquid Chromatography. 5 ed. Switzerland: John Wiley & Sons, 2010. DOI: 10.1002/9780470688427;
- [157] ZHONG, L.; GAN, S.; FU, X.; LI, F.; HAN, D.; GUO, L.; NIU, L. Electrochemically controlled growth of silver nanocrystals on graphene thin film and applications for efficient nonenzymatic H₂O₂ biosensor. **Electrochimica Acta**, v. 89, p. 222– 228, 2013. DOI: 10.1016/j.electacta.2012.10.161;
- [158] MACHINI, W. B. S.; DAVID-PARRA, D. N.; TEIXEIRA, M. F. S. Electrochemical investigation of the voltammetric determination of hydrochlorothiazide using a nickel hydroxide modified nickel electrode. **Materials Science and Engineering C**, v. 57, p. 344-348, 2015. DOI: 10.1016/j.msec.2015.07.035;
- [159] CISZEWSKI, A.; STEPNIAK, I. Deposition of Nickel Hydroxide Nanoparticles Derivatized from Nickel Chitosan Complex on Glassy Carbon Electrode for Oxidative Electrocatalysis. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 8, p. 6377 – 6392, 2013;
- [160] THOUFEEQ, S.; RASTOGI, P. K.; SREEKANTH, S.; ANANTHARAMAN, M. M. R. I.; NARAYANAN, T. N. N. Nickel-reduced graphene oxide composite foams for electrochemical oxidation processes: towards biomolecule sensing. **MRS Communications**, v. 8, p. 695-702, 2018. DOI: 10.1557/mrc.2018.123;
- [161] KAUR, B.; PANDIYAN, T.; SATPATI, B.; SRIVASTAVA, R. Simultaneous and sensitive determination of ascorbic acid, dopamine, uric acid, and tryptophan with silver nanoparticles-decorated reduced graphene oxide modified electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 111, p. 97-106, 2013. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.05.023;
- [162] BASILE, A.; BHATT, A. I.; O'MULLANE, A. P.; BHARGAVA, S. K. An investigation of silver electrodeposition from ionic liquids: Influence of atmospheric water uptake on the silver electrodeposition mechanism and film morphology.

Electrochimica Acta, v. 56, p. 2895-2905, 2011. DOI: 10.1016/j.electacta.2010.12.083;

[163] CASELLA, I. G.; RITORTI, M. Electrodeposition of silver particles from alkaline aqueous solutions and their electrocatalytic activity for the reduction of nitrate, bromate and chlorite ions. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 6462-6468, 2010. DOI: 10.1016/j.electacta.2010.06.038;

[164] QUAN, H.; PARK, S.-U.; PARK, J. Electrochemical oxidation of glucose on silver nanoparticle-modified composite electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 2232-2237, 2010. DOI: 10.1016/j.electacta.2009.11.074;

[165] ZAMORA-GARCIA, I. R.; ALATORRE-ORDAZ, A.; IBANEZ, J. G.; GARCIA-JIMENEZ, M. G.; NOSAKA, Y.; KOBAYASHI, T.; SUGITA, S. Thermodynamic and electrochemical study on the mechanism of formation of $\text{Ag}(\text{OH})_4^-$ in alkaline media. **Electrochimica Acta**, v. 111, p. 268-274, 2013. DOI: 10.1016/j.electacta.2013.07.205;

[166] AZEVEDO, V. H. R.; DA SILVA, J. L.; STRADIOTTO, N. R. Silver oxide nanoparticles in reduced graphene oxide modified electrode for amino acids electrocatalytic oxidation. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 845, p. 57–65, 2019.