

Magno Aparecido Gonçalves Trindade

**MÉTODOS ELETROANALÍTICOS E CROMATOGRÁFICOS
APLICADOS NA ANÁLISE DE CORANTES USADOS COMO
MARCADORES EM COMBUSTÍVEIS**

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

Orientadora: Profa. Dra. Maria Valnice Boldrin

Araraquara

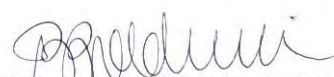
2009

MAGNO APARECIDO GONÇALVES TRINDADE

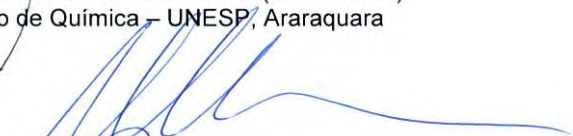
Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 15 de maio de 2009.

BANCA EXAMINADORA



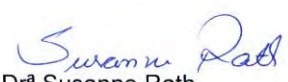
Profª Drª Maria Valnice Boldrin (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



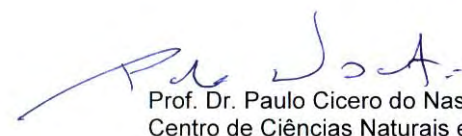
Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – UFSCar, São Carlos



Profª Drª Susanne Rath
Instituto de Química – UNICAMP, Campinas



Prof. Dr. Paulo Cicero do Nascimento
Centro de Ciências Naturais e Exatas – UFMS, Santa Maria

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha Mãe Maria, ao meu Irmão Moacir e a todos os amigos que fizeram parte desta conquista.

AGRADECIMENTOS

✓ A Profra. Dra. Maria Valnice não somente pela orientação, mas por acreditar e aceitar-me em seu grupo. Agradeço profundamente, pelas oportunidades concedidas, por depositar em mim a confiança que foi essencial no desenvolvimento deste trabalho. Agradeço também, pelas idéias e pelos ensinamentos no laboratório e na vida. Você foi e será, o exemplo de que se pode fazer muitas coisas ao mesmo tempo.

✓ A minha querida mãe Maria e ao meu irmão Moacir, vocês foram parte integrante de mais esta conquista e de tudo em minha vida.

✓ Ao Profr. Dr. Valdir, meus agradecimentos, pela convivência desde a Iniciação Científica. Saiba que sou muito grato, você foi mais que um orientador, um amigo. Muito obrigado...

✓ Ao Prof. Dr. Frank-Michael Matysik pela oportunidade concedida em seu grupo. Foi uma experiência fantástica.

✓ Os Professores Hideko, Pilar e ao Nelson, com quem tive ajuda e pelos conhecimentos a mim passados.

✓ Aos meus amigos Daniel e Simone, Amadeu e Pâmela, que me receberam de braços abertos em Araraquara e me ensinaram como é a vida quando se tem amigos. Daniel e Amadeu, vocês foram mais que amigos, vocês foram um Irmão. Deixarei aqui um agradecimento especial ao meu Amigão Daniel, por todas as ajudas concedidas durante meu início no Doutorado...Valeu meu caro

✓ Ao casal Dani e Jefferson, agradeço por todos os momentos no Sakaná, tomando aquela cervejinha e por toda ajuda e amizade. Dani, como eu sempre disse você é uma irmã, serei sempre grato por tudo. Pelas ajudas, pelas forças nas horas difíceis, amizade e, pelas horas de diversão, inspiração e trabalho originadas no laboratório. Valeuuuuu Dani.

✓ Aos meus amigos André, Regina e Márcio, pela força, amizade e ajuda. Vocês foram fundamentais quando aqui cheguei. Valeu André e Márcio, vocês me ensinaram muito do que hoje sei. Valeu meus amigos também, pelas horas de diversão, inspiração e trabalho originadas no laboratório.

✓ Aos amigos João Batista, Émerson, Juliano, Luciano, Talal pelo convívio ao longo desses quatro anos, pela colaboração e, acima de tudo pela ajuda sempre que precisei. Aprendi muito com vocês.

- ✓ Aos amigos do laboratório NDCOM, Paula (Paulinha), Diana e sua Lady, Elaine, Michelle Castilo, Michelle Brugnera, Thiago, Priscila, Leonardo Paim, Leandrão, Marcelão, Daiane (IC), pela amizade, horas de diversão fora do lab, inspiração e trabalho originadas no laboratório. Foi muito bom conhecê-los.
- ✓ A todos os amigos de Araraquara, Jorge, Zé Antônio, Flávio, Dayana, pessoas que há pouco tempo os conheço, mas que transmitem confiança, companheirismo.
- ✓ A todos da secretária da Pós-Graduação, Biblioteca, Posto FAPESP, enfim a toda comunidade IQ-UNESP por proporcionar condições para que este trabalho fosse realizado. Enfim, as oportunidades e facilidades oferecidas.
- ✓ Ao Professor Dr. Gilberto Maia, pelas discussões e sugestões durante minhas visitas na UFMS e nos congressos da área e acima de tudo pela amizade.
- ✓ A todos os Professores que fizeram parte de minha vida pré e pós-graduação, pelo apoio, pelos incentivos e pelos muitos conselhos em todas as horas.
- ✓ As minhas amigas, Glaucia, Karina, Adriana (Dri) e Margarete (Margo), que mesmo distante me apoiaram. Aos inesquecíveis momentos reunidos em nossas humildes casas com deliciosos almoços de Domingo. Vocês foram mais que amigas.
- ✓ A todos os meus amigos, colegas, companheiros do laboratório de eletroanalítica, Paulo, Thays. Enfim, a todos pela convivência diária, pela compreensão e colaboração.
- ✓ A FAPESP, pelo apoio financeiro.
- ✓ Ao Assessor da A FAPESP pelas sugestões e contribuições e acima de tudo pela disposição em ler os relatórios.
- ✓ A todos vocês meus grandes amigos, qualquer palavra que Eu aqui disser seria pouco para expressar meus agradecimentos. Portanto, me limito a dizer muito obrigado, vocês foram mais que amigos, mesmo sem imaginar fizeram parte integrante desta conquista, conquista essa, importante não somente pelo Título em questão, mas sim pelos esforços extras exigidos. Valeuuuu gente... Eternamente os agradeço.
- ✓ A todos do laboratório “Instrumental Analysis Group” Alemanha: Uriel Arroyo, Gisela Emmert, Magdalena Bauer, Nicole Guber, Katrin, Rebbeka, Claudia Niegel, Marco Grundmann, pela pronta ajuda durante minha permanência no grupo.
- ✓ Aos que embora não citados nominalmente, sempre estiveram por perto demonstrando seu carinho e compreensão. Enfim, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Neste trabalho é mostrado o desenvolvimento de diferentes métodos analíticos para quantificação dos corantes Quinizarina (QNZ), Solvente Azul 14 (SB-14), Solvente Azul 35 (SB-35), Solvente Laranja 7 (SO-7) e Solvente Vermelho 24 (SR-24) usados como marcadores em combustíveis. Inicialmente, estudou-se o comportamento voltamétrico dos corantes QNZ e SB-14 sobre eletrodo de carbono vítreo em meio misto de tampão Britton-Robinson/acetonitrila (7:3, v/v) e Britton-Robinson/dimetilformamida (1:1, v/v), respectivamente. Os resultados obtidos mostraram que a oxidação da QNZ ocorre em +0,47 V vs. Ag/AgCl e a redução do corante SB-14 em -0,40 V vs. Ag/AgCl, cujo processo apresenta fortes evidências de um transferência eletrônica reversível, mas complicado por reações químicas acopladas e por adsorção. A voltametria de onda quadrada (VOQ) apresentou desempenho analítico superior às demais técnicas eletroquímicas com limite de detecção da ordem de $4,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (QNZ) e $3,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (SB-14), além de propiciar um menor tempo de análise. Os métodos eletroanalíticos desenvolvidos acoplados a etapas prévias de extração desses corantes em matrizes como gasolina, querosene e óleo diesel forneceram resultados satisfatórios com valores de eficiência de extração entre 90,0 e 94,0% (QNZ) e entre 87,0 e 98,0% (SB-14), respectivamente. A redução desses corantes também foi monitorada sobre eletrodos de carbono impressos em meio de tampão Britton-Robinson/dimetilformamida (7:3, v/v) visando desenvolver novos métodos de análise. Os resultados foram adaptados ao novo sistema usando surfactante aniônico dioctil sulfosuccinato de sódio (DSS) e catiônico brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) para melhorar a solubilidade dos corantes e aumentar a durabilidade desses eletrodos na presença de solventes orgânicos. Curva analítica no intervalo de concentração de $5,00 \times 10^{-7}$ a $6,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $r = 0,998$ (QNZ) e $2,00 \times 10^{-7}$ a $20,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $r = 0,998$ (SB-14) foi obtida com limite de detecção de $2,70 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $9,30 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. A quantificação destes corantes em amostras de combustíveis após simples etapa de extração em fase sólida empregando sílica como sorvente forneceu resultados satisfatórios com eficiência de extração entre 80,0 e 106% para QNZ e entre 92,0 e 96,0% para o SB-14. Um método analítico para determinação dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 empregando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector UV/Vis também foi desenvolvido. Os corantes foram separados em coluna de fase reversa (C-18) operando em modo gradiente com fase móvel acetonitrila/água iniciando em 85:15 (v/v). Os diferentes procedimentos de extração desenvolvidos para os três corantes em amostra de gasolina forneceram resultados aceitáveis com níveis de eficiência de extração entre 80,0 e 110%. A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector eletroquímico também foi usada para desenvolver um novo método visando detecção dos corantes, SB-14, SO-7, SB-35 e SR-24, cuja melhor separação foi encontrada usando coluna de fase reversa (C-8) operando em modo isocrático com fase móvel acetonitrila / acetato de amônio ($5,00 \text{ mmol L}^{-1}$) na razão de 75:25 (v/v) monitorando a oxidação em +0,80 V. O método foi aplicado na quantificação destes corantes em amostra de gasolina após testar diferentes procedimentos de extração. Níveis de eficiência de extração aceitáveis entre 64,0 e 111% foram obtidos somente para o corante SB-14 empregando o método do padrão externo e de 106% pelo método da adição do padrão.

Palavras-chave. Corantes de combustíveis, Análise de combustíveis, CLAE com detecção eletroquímica, Métodos eletroanalíticos, Extração em fase sólida.

ABSTRACT

In the present work the development of different analytical methods to quantify the dyes Quinizarine (QNZ), Solvent Blue 14 (SB-14), Solvent Blue 35 (SB-35), Solvent Orange 7 (SO-7) and Solvent Red 24 (SR-24) used as marker in fuels are showed. Firstly, the voltammetric behavior for the dyes QNZ and SB-14 was studied onto glassy carbon electrode surface in a mixture of Britton-Robinson buffer with acetonitrile (7:3, v/v) and in a mixture of Britton-Robinson buffer with *N, N*-dimethylformamide (1:1, v/v), respectively. The obtained results showed that the oxidation of the QNZ occur at +0.47 V vs. Ag/AgCl and the reduction of the SB-14 occur at -0.40 V vs. Ag/AgCl, which the electrodic process was reversible, but complicated by coupled to chemical reactions and for the adsorption phenomenon. The square-wave voltammetry (SWV) presented analytic performing superior than the other electroanalytical techniques with detection limit around of 4.00×10^{-7} mol L⁻¹ (QNZ) and 3.00×10^{-7} mol L⁻¹ (SB-14), besides propitiating a smaller time of analysis. The developed electroanalytical methods coupled with suitable sample pretreatment protocols steps for the extraction of the dyes in fuel samples such as, gasoline, kerosene and diesel oil provide satisfactory results with recovery values between 90.0 and 94.0% (QNZ) and between 87.0 and 98.0% (SB-14), respectively. The reduction of these dyes was also studied onto screen-printed carbon electrode (SPCE) surface in a mixture of Britton-Robinson buffer and *N,N*-dimethylformamide (7:3, v/v) with the objective to develop new electroanalytical methods. The results were adapted to the new system using anionic Dioctyl sulfosuccinate sodium (DSS) and cationic cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) surfactants to improve the dyes solubility and to increase the durability of the electrodes in medium containing organic solvents. Analytical curve in the range of 5.00×10^{-7} to 6.00×10^{-6} mol L⁻¹, $r = 0.998$ (QNZ) and 2.00×10^{-7} to 20.00×10^{-6} mol L⁻¹, $r = 0.998$ (SB-14) was obtained with detection limit of 2.70×10^{-7} mol L⁻¹ and 9.30×10^{-8} mol L⁻¹, respectively. The quantification of these dyes in fuels samples after a simple solid phase extraction step using silica as adsorbent supplied satisfactory results with average of the recovery between 80.0 and 106% for the QNZ and between 92.0 and 96.0% for the SB-14. An analytical method for the determination of the dyes SB-14, SO-7 and SR-24 based on high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with UV/Vis detection was also developed. The dyes were separated using a reversed-phase column (C-18) under gradient elution with a mobile phase containing acetonitrile / water starting at 85:15 (v/v). The different procedures of extractions developed for the three dyes in petrol sample supplied acceptable results with recovery levels between 80.0 and 110%. The high-performance liquid chromatographic coupled with electrochemical detection was also used to develop a new analytical method to quantify the dyes, QNZ, SB-14, SR-24, SO-7 and SB-35, which the best separation was achieved using a reversed-phase column (C-8) under isocratic conditions with the mobile phase containing acetonitrile / ammonium acetate (5.00 mmol L⁻¹) at 75:25 (v/v) monitoring the oxidation at +0.80 V. The proposed method was applied to quantify these dyes in petrol sample after testing different extraction procedure. Acceptable recovery levels between 64.0 and 111% were only obtained for the dye SB-14 using the standard external method and of 106% for the standard addition method.

Keywords: Fuel dyes, Fuel analysis, HPLC-electrochemical detection, Electroanalytical method, Solid-phase extraction.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Fórmula estrutural do corante “Solvente Amarelo 124” N-etil-N-[2-(1-isobutoxi)etilo](4-fenilazofenil)amina. 30
- Figura 2 - Ilustração de dois modelos de eletrodos de carbono impressos em cerâmica “screen-printed”. A = eletrodo de referência (tinta de Carbono ou Ag/AgCl), R = eletrodo auxiliar (tinta de Carbono), W = eletrodo de trabalho (tinta de Carbono) e C = contato elétrico. 45
- Figura 3 - Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN: (A) Eletrólito suporte e (B) presença de 1,00×10⁻⁴ mol L⁻¹ de QNZ. $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$ 65
- Figura 4 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação de 1,00×10⁻⁴ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN para diferentes valores de ν . (B) Variação da corrente de pico em função da raiz quadrada da ν 66
- Figura 5 - Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para oxidação eletroquímica de 1,00×10⁻⁴ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 68
- Figura 6 - Voltamogramas de onda quadrada (A) e pulso diferencial (B) registrados para oxidação de 5,00×10⁻⁶ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN. Condições: (VOQ): frequência (f) = 60 Hz, incremento de aplicação dos pulsos (ΔE_s) = 4 mV e amplitude de aplicação dos pulsos (E_{sw}) = 25 mV. (VPD): velocidade de varredura (ν) = 20 mV s⁻¹, tempo de pulso (t_p) = 50 ms e E_{sw} = 25 mV. 70
- Figura 7 - Voltamograma de onda quadrada registrados para oxidação de 5,00×10⁻⁶ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN. (a) corrente direta, (b) corrente inversa e (c) corrente resultante. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ 70
- Figura 8 - Influência do pH na resposta do potencial de pico (A) e da corrente de pico (B) para oxidação eletroquímica de 5,00×10⁻⁶ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 30,0% de ACN. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ 72
- Figura 9 - Influência da variação da f sobre os valores de I_{pa} para oxidação eletroquímica de 5,00×10⁻⁶ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 30,0% de ACN. Condições: $E_{sw} = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ 73
- Figura 10 - Influência da variação da E_{sw} sobre os valores de I_{pa} para oxidação eletroquímica de 5,00×10⁻⁶ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 30,0% de ACN. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ 74
- Figura 11 - Influência da variação do ΔE_s sobre os valores de I_{pa} para oxidação eletroquímica de 5,00×10⁻⁶ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 30,0% de ACN. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ 75
- Figura 12 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN para: (a) branco, (b) 2,00×10⁻⁶, (c) 4,00×10⁻⁶, (d) 6,00×10⁻⁶, (e) 8,00×10⁻⁶, (f) 10,0×10⁻⁶, (g) 12,0×10⁻⁶, (h) 14,0×10⁻⁶ mol L⁻¹ de QNZ. 75

(B) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração de QNZ. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 4$ mV e $E_{sw} = 25$ mV..... 76

Figura 13 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN. (a) Amostra de gasolina após extração (seção 2.3.1.2), (b-e) adições sucessivas de $30,0 \text{ }\mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ. (B) Curva de adição do padrão. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 4$ mV e $E_{sw} = 25$ mV..... 78

Figura 14 - Voltamogramas cíclicos registrados em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF. (A) redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre ECI e (B) redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre ECV. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 80

Figura 15 - Voltamogramas cíclicos registrados na ausência e na presença do surfactante CTAB para redução eletroquímica de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF: (A) Branco na presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do CTAB, (B) $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ na ausência de CTAB e (C) $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ na presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do CTAB. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 81

Figura 16 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF: (A) presença de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB e (B) presença de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante SDS. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 83

Figura 17 - Estudo do efeito da concentração do surfactante CTAB na redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 7,00 contendo 30,0% de DMF. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 2$ mV e $E_{sw} = 50$ mV. 84

Figura 18 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB: (A) pH 5,00; (B) pH 7,00 e (C) pH 8,00. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 85

Figura 19 - Influência do pH na resposta da corrente de pico (A) e do potencial de pico (B) para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 86

Figura 20 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes valores de v para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. (B) Variação da corrente de pico em função da raiz quadrada de v 87

Figura 21 - Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do eletrodo de carbono impresso em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 89

Figura 22 - Voltamograma de onda quadrada registrado para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. (a) corrente direta, (b) corrente reversa e (c) corrente resultante. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 6$ mV e $E_{sw} = 25$ mV. 90

- Figura 23 - Influência da variação da f sobre os valores de I_{pc} para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB. $\Delta E_s = 2$ mV e $E_{sw} = 50$ mV. 91
- Figura 24 - Variação da razão $I_{reversa}/I_{direta}$ em função da frequência para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB. Condições: $\Delta E_s = 2$ mV e $E_{sw} = 50$ mV. 92
- Figura 25 - Variação do E_p em função do log da frequência para redução de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB. Condições: $\Delta E_s = 2$ mV e $E_{sw} = 50$ mV. 93
- Figura 26 - Influência da variação da E_{sw} sobre os valores de I_{pc} para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB. Condições: $f = 60$ Hz e $\Delta E_s = 6$ mV. 94
- Figura 27 - Influência da variação da ΔE_s sobre os valores de I_{pc} para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB. Condições: $f = 60$ Hz e $E_{sw} = 50$ mV. 95
- Figura 28 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB para (a) branco e concentrações de (b) $5,00 \times 10^{-7}$ (c) $1,00 \times 10^{-6}$ (d) $2,00 \times 10^{-6}$ (e) $3,00 \times 10^{-6}$ (f) $4,00 \times 10^{-6}$ (g) $5,00 \times 10^{-6}$ e (h) $6,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. (B) Dependência da I_{pc} em função do aumento da concentração de QNZ. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 6$ mV e $E_{sw} = 50$ mV. 96
- Figura 29 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de CTAB. (a) Amostra de querosene contendo 1,50 mg L⁻¹ de QNZ após extração, (b-e) adições sucessivas de 5,00 µL de solução padrão $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de QNZ. (Inserção): Curva de adição do padrão obtida. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 6$ mV e $E_{sw} = 50$ mV. 98
- Figura 30 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície de ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de CTAB. (a) 1,00 mL de amostra de diesel contendo 2,50 mg L⁻¹ de QNZ. (b-e) adições sucessivas de 5,00 µL de solução padrão $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de QNZ. (Inserção): Curva de adição do padrão obtida. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 6$ mV e $E_{sw} = 50$ mV. 99
- Figura 31 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 2,00 contendo 50,0% de DMF para: (A) Eletrólito de suporte e (B) presença de $1,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ do corante SB-14. $v = 100$ mV s⁻¹. 102
- Figura 32 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 50,0% de DMF em valores de pH (A) 2,40 (B) 5,10 e (C) 8,00. $v = 100$ mV s⁻¹. 103
- Figura 33 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 sobre a superfície de carbono vítreo em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF para diferentes valores de v . (B) Variação da corrente de pico em função da v 104

Figura 34 - Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para redução de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	106
Figura 35 - Voltamograma de onda quadrada registrado para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. (a) I_d , (b) I_r e (c) I_i . Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, $E_{sw} = 25 \text{ mV}$	107
Figura 36 - Voltamogramas de (A) onda quadrada, (B) pulso diferencial e (C) varredura linear registrado para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. Parâmetros: (VOQ) $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$. (VPD) $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$. (VVL) $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	108
Figura 37 - Influência do pH na resposta do potencial de pico (A) e na corrente de pico (B) para redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 50,0% de DMF. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, $E_{sw} = 25 \text{ mV}$	109
Figura 38 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF para diferentes concentrações do corante SB-14. (Inserção) Dependência da I_{pc} em função da concentração do corante SB-14. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$	112
Figura 39 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície de carbono vítreo em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. (a) Amostra de querosene contendo do corante, (b-e) adições de $10,0 \mu\text{L}$ de solução padrão do corante SB-14 $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. (Inserção) Curva de adição de padrão obtida para a determinação de SB-14 na amostra de querosene. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$	114
Figura 40 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. (a) Amostra de álcool contendo $1,00 \text{ mL}$ do padrão $5,00 \text{ mg L}^{-1}$, (b-d) adições de $10,0 \mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14. (Inserção) Curva de adição de padrão obtida para a determinação de SB-14 na amostra de álcool. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$	115
Figura 41 - Espectro de absorção em UV-Vis para uma solução $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em ACN.	117
Figura 42 - Espectros de absorção UV-Vis para: (a) $2,00 \times 10^{-6}$, (b) $4,00 \times 10^{-6}$, (c) $6,00 \times 10^{-6}$, (d) $8,00 \times 10^{-6}$, (e) $10,0 \times 10^{-6}$ e (f) $12,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em ACN.....	117
Figura 43 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. (A) eletrodo de carbono vítreo e (B) eletrodo de carbono impresso. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	119
Figura 44 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. (A) Ausência de surfactante e (B) presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	120
Figura 45 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. (A) presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS e (B) presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante SDS. $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$	121

Figura 46 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. (A) Branco, (B) pseudo-referência do próprio ECI e (C) referência convencional de Ag/AgCl. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 123

Figura 47 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes valores de ν para redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R contendo 30,0% de DMF e presença de $1,65 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. (B) Variação da corrente de pico em função da ν 124

Figura 48 - Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para redução de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R contendo 30% de DMF e presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 126

Figura 49 - Estudo da variação da concentração do surfactante DSS realizado para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 2,40 contendo 30,0% de DMF. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$ 128

Figura 50 - Voltamogramas de onda quadrada registrados para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. (A) ausência surfactante DSS, (B) presença de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS e (C) presença de $8,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$ 128

Figura 51 - Voltamogramas de: (A) varredura linear (B) pulso diferencial e (C) onda quadrada registrados para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: (VVL) $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$; (VOQ): $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$. (VPD): $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$, tempo de pulso (t_p) = 20 ms e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ 129

Figura 52 - Voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes valores de pH para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ 131

Figura 53 - Influência do pH na resposta da corrente de pico (A) e do potencial de pico (B) para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ 131

Figura 54 - Voltamograma de onda quadrada registrado para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 2,50 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. (a) corrente direta, (b) corrente inversa e (c) corrente resultante. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$ 132

Figura 55 - Influência da variação da f sobre os valores de I_{pc} para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $E_{sw} = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. . 133

Figura 56 - Variação da razão $I_{reversa}/I_{direta}$ em função da frequência para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $E_{sw} = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ 134

Figura 57 - Influência da variação da E_{sw} sobre os valores de I_{pc} para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. 135

Figura 58 - Influência da variação da ΔE_s sobre os valores de I_{pc} para redução de $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$ 136

Figura 59 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS para diferentes concentrações do corante SB-14 ($2,00\text{-}40,0$) $\times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Dependência da I_{pc} em função da concentração do SB-14. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$ 137

Figura 60 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. (a) Amostra de álcool contendo o corante SB-14 e (b-d) adições sucessivas de $10,0 \mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do SB-14. (B) Curva de adição do padrão obtida. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$ 138

Figura 61 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. (a) Amostra de querosene contendo o corante SB-14 (seção 2.3.1.8), (b) adição de $20,0 \mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do SB-14, (c-e) adições sucessivas de $10,0 \mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição do padrão. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$ 139

Figure 62 - Cromatograma obtido para separação em coluna C-18 dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 ($12,0 \text{ mg L}^{-1}$) e QNZ ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) eluídos em fase móvel ACN / H_2O . Condições: Gradiente 60,0 - 100% de ACN em 60 min, vazão = $1,00 \text{ mL min}^{-1}$ e $\lambda = 254 \text{ nm}$ 143

Figure 63 - Cromatogramas obtidos para separação em coluna C-18 de $12,0 \text{ mg L}^{-1}$ dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ QNZ eluídos em fase móvel ACN / H_2O 85:15 (v/v). Condições: Vazão = $1,00 \text{ mL min}^{-1}$ e $\lambda = 254 \text{ nm}$ 145

Figure 64 - Cromatogramas obtidos para separação em coluna C-18 dos corantes SB-14 ($12,0 \text{ mg L}^{-1}$), SR-24 ($12,0 \text{ mg L}^{-1}$) e SO-7 ($8,30 \text{ mg L}^{-1}$) e eluídos em fase móvel ACN / H_2O sob vazão de $0,80 \text{ mL min}^{-1}$ e $\lambda = 254 \text{ nm}$. Condição de análise: (A) 0-5 min 80,0% de ACN, 5-6 min 100% de ACN, 6-12 min 100% de ACN; (B) 0-3 min 85,0% de ACN, 3-4 min 100% de ACN, 4-9 min 100% de ACN; (C) 0-3 min 90% de ACN, 3-4 min 100% de ACN e 4-9 min 100% de ACN. 146

Figure 65 - Cromatogramas obtidos para separação em coluna C-18 de $12,0 \text{ mg L}^{-1}$ dos corantes SB-14 e SR-24 e $8,30 \text{ mg L}^{-1}$ do corante SO-7 eluídos em fase móvel ACN / H_2O . Condição: $\lambda = 254 \text{ nm}$, (I) vazão = $0,80 \text{ mL min}^{-1}$, (II) vazão = $1,00 \text{ mL min}^{-1}$ e (III) vazão = $1,20 \text{ mL min}^{-1}$. Fase móvel: 0 - 3 min 85,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 10 min 100% de ACN. 147

Figure 66 - Cromatogramas obtidos para separação dos corantes SB-14 e SR-24 ($12,0 \text{ mg L}^{-1}$) e SO-7 ($8,30 \text{ mg L}^{-1}$) separados em: (A) Prontosil Enviro PHE: fase móvel ACN / H_2O 0 - 3 min 75,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 8 com 100% de ACN. (B) Prontosil 120-5-C18-H: fase móvel ACN / H_2O 0 - 3 min 85,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 11 com 100% de ACN. Outras condições: $\lambda = 254 \text{ nm}$, vazão = $0,80 \text{ mL min}^{-1}$ 148

Figure 67 - Cromatogramas obtidos para separação em coluna C-18 de $15,0 \text{ mg L}^{-1}$ dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 eluídos em fase móvel ACN / H_2O . (I) $\lambda = 640 \text{ nm}$ entre 0 e 3,5 min e $\lambda = 490$

nm entre 3,5 e 9 min, (II) $\lambda = 254$ nm. Fase móvel: 0 - 3 min 85,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 9 min 100% de ACN. Condição: vazão = 1,00 mL min⁻¹. 149

Figure 68 - Cromatogramas obtidos para separação dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 em diferentes concentrações usando $\lambda = 640$ nm entre 0 e 3,5 min e $\lambda = 490$ nm entre 3,5 e 9 min. Outras condições: Fase móvel: 0 - 3 min 85,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 9 min 100% de ACN sob vazão de 1,00 mL min⁻¹. 151

Figure 69 - (A) Curva analítica obtida para a detecção dos corantes em diferentes concentrações tal como mostrado na Figura 68. (B) detecção em 254 nm. Outras condições como na Figura 68. 151

Figure 70 - Cromatogramas registrados para análise de amostras de gasolina depois de submetidas à extração como mencionada no procedimento II (seção 2.3.2.2). (A) amostra de gasolina isenta dos corantes e (B) amostra C contendo 2,00 mg L⁻¹ dos corantes. Condições como descrito na Figura 68. 154

Figura 71 - Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ dos corantes QNZ, SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 em meio de ACN / acetato de amônio 0,10 mol L⁻¹ (70:30, v/v). $\nu = 100$ mV s⁻¹. 156

Figure 72 - Cromatogramas obtidos para detecção eletroquímica em +0,80 V dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 (0,51 mg L⁻¹) e QNZ (0,43 mg L⁻¹) separados em coluna C-8 e eluídos em fase móvel ACN / acetato de amônio (2,00 mmol L⁻¹) em diferentes proporções: (I) 85:15, (II) 80:20, (III) 75:25 e (IV) 70:30. Condições: vazão = 0,75 mL min⁻¹. 159

Figura 73 - Cromatogramas obtidos para detecção eletroquímica em +0,80 V dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 (0,51 mg L⁻¹) e QNZ (0,43 mg L⁻¹) separados em coluna C-8 e eluídos em fase móvel ACN / acetato de amônio (5 mmol L⁻¹). Condições: (I) composição fase móvel 70:30 e vazão = 0,75 mL min⁻¹; (II) 75:25 e vazão = 0,55 mL min⁻¹; (III) 70:30 e vazão iniciando em 0,60 mL min⁻¹ até 4 min e 1,20 mL min⁻¹ entre 6 e 12 min; (IV) 75:25 e vazão de 0,60 mL min⁻¹ entre 0 - 4 min e 1,20 mL min⁻¹ entre 6 e 12 min. 163

Figura 74 - Cromatogramas obtidos para detecção eletroquímica em +0,80 V dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 (0,51 mg L⁻¹) e QNZ (0,43 mg L⁻¹) separados em coluna C-8 e eluídos em fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) 75:25 (v/v). Condições: vazão de 0,60 mL min⁻¹ entre 0 - 4 min e 1,20 mL min⁻¹ entre 6 e 11 min. 166

Figure 75 - Cromatogramas obtidos para detecção eletroquímica em +0,80 V dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 e QNZ (1,00 mg L⁻¹) em presença da matriz após processo de extração tal como seção 2.3.2.3 (procedimento I). Condições: Fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) 75:25 (v/v), vazão de 0,60 mL min⁻¹ entre 0 - 4 min e 1,20 mL min⁻¹ entre 6 e 11 min. Coluna C-8. 167

Figura 76 - Cromatogramas registrados para detecção de 0,50 mg L⁻¹ dos corantes QNZ, SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 em diferentes potenciais. Condições: Fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) 75:25 (v/v) e vazão de 0,60 mL min⁻¹ entre 0 - 4 min e 1,20 mL min⁻¹ entre 6 e 10 min. Coluna C-8. 170

Figure 77 - Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para oxidação eletroquímica dos corantes como mostrado na Figura 76. 171

Figure 78 - Cromatogramas obtidos para detecção dos corantes em concentrações entre 0,08 e 2,00 mg L⁻¹ separados em coluna C-8 e eluídos em fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) na proporção de (75:25 v/v) e detecção em +0,80 V. Outras condições: Vazão: 0 - 4 min 0,60 mL min⁻¹, 4 - 6 min 1,20 mL min⁻¹ e 6 - 10,30 min 1,20 mL min⁻¹. 173

Figure 79 - Curva analítica obtida para detecção dos corantes em diferentes concentrações como mostrado na Figura 78..... 173

Figure 80 - Cromatogramas obtidos para detecção dos corantes no intervalo de concentração de 0,15 a 1,00 mg L⁻¹ diretamente adicionados sobre amostra de gasolina após extração (procedimento I, seção 2.3.2.3). Condições: Fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) na proporção de 75:25 (v/v), detecção em +0,80 V. Vazão: 0 - 4 min 0,60 mL min⁻¹, 4 - 6 min 1,20 mL min⁻¹ e 6 - 10,30 min 1,20 mL min⁻¹. 175

Figura 81 - Curva analítica obtida para detecção dos corantes em diferentes concentrações como mostrado na Figura 80..... 176

Figura 82 - Cromatogramas obtidos para: (A) amostra gasolina isenta de corante, (B) análise de amostra gasolina após extração usando o procedimento experimental I (seção 2.3.2.3). Condições: Fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) na proporção de 75:25 (v/v), detecção em +0,80 V. Vazão: 0 - 4 min 0,60 mL min⁻¹, 4 - 6 min 1,20 mL min⁻¹ e 6 - 10,30 min 1,20 mL min⁻¹.. 179

Figura 83 - Cromatogramas registrados para análise de: (a) amostra de gasolina depois de submetidas à extração como mencionada no procedimento II (seção 2.3.2.3), (b-d) adição dos padrões 0,15 a 1,00 mg L⁻¹. Condições como descrito na Figura 82..... 181

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características estruturais de corantes empregados em sistemas de marcação de combustíveis.....	28
Tabela 2 - Fórmula estrutural e propriedades físico-químicas dos principais corantes estudados neste trabalho.....	33
Tabela 3 - Dados de especificações de qualidade dos combustíveis automotivos líquidos comercializados no Brasil [1, 15, 18-20].	34
Tabela 4 - Resumo de métodos cromatográficos disponíveis na literatura para determinação de alguns corantes marcadores em amostras de combustíveis.	41
Tabela 5 - Parâmetros voltamétricos obtidos na oxidação eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ QNZ em meio de tampão B-R 0,10 mol L ⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN (Figura 4).	67
Tabela 6 - Parâmetros obtidos da curva analítica mostrada na Figura 12.	76
Tabela 7 - Determinação de QNZ utilizando o método proposto comparado com o reportado na literatura.	78
Tabela 8 - Parâmetros voltamétricos obtidos para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de QNZ em diferentes valores de ν representados na Figura 20.....	88
Tabela 9 - Parâmetros estudados e otimizados usando eletrodos de carbono impresso para redução eletroquímica da QNZ na obtenção da curva de calibração analítica mostrada na Figura 28.....	96
Tabela 10 - Avaliação estatística dos resultados obtidos para a determinação de QNZ em amostras de querosene e óleo diesel.....	99
Tabela 11 - Parâmetros voltamétricos obtidos para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ do corante SB-14 em tampão B-R (0,10 mol L ⁻¹) pH 2,40; 5,10 e 8,00 contendo 50,0% de DMF.	105
Tabela 12 - Parâmetros experimentais otimizados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ do corante SB-14 sobre a superfície de carbono vítreo em meio de tampão B-R 0,10 mol L ⁻¹ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF.	111
Tabela 13 - Parâmetros analíticos obtidos da curva analítica mostrada na Figura 38 comparado com o método espectrofotométrico desenvolvido como referência e apresentado na seção 3.4.	112
Tabela 14 - Resultados de eficiência de extração obtidos para adição do corante SB-14 em amostras de álcool e querosene usando o método proposto comparado com um método de referência.....	115
Tabela 15 - Parâmetros voltamétricos obtidos para redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ do corante SB-14 em diferentes valores de ν (Figura 47).	125
Tabela 16 - Parâmetros estudados e otimizados usando ECI para redução eletroquímica do corante SB-14 na obtenção da curva analítica comparados com método de referência (seção 3.4).	137
Tabela 17 - Resultados obtidos para medidas de eficiência de extração do padrão de SB-14 adicionado na amostra de combustíveis pelo método proposto comparado com o método espectrofotométrico.	140

Tabela 18 - Parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico calculados a partir dos cromatogramas na Figure 64.....	146
Tabela 19 - Parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico calculados a partir dos cromatogramas na Figure 65.....	148
Tabela 20 - Parâmetros analíticos obtidos da curva analítica representada na Figura 69.	152
Tabela 21 - Resultados de eficiência de extração obtidos para quantificação dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 em amostras de gasolina.....	154
Tabela 22 - Parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico obtidos para eluição dos corantes em diferentes proporções de fase móvel como na Figura 72.	160
Tabela 23 - Parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico obtidos para eluição dos corantes em diferente otimização da vazão da fase móvel como na Figura 73.	164
Tabela 24 - Parâmetros cromatográficos obtidos para detecção dos corantes em presença e ausência da matriz.....	167
Tabela 25 - Parâmetros cromatográficos obtidos para estudos de precisão a partir da análise de repetibilidade.....	172
Tabela 26 - Parâmetros analíticos extraídos da curva analítica apresentada na Figura 79.....	174
Tabela 27 - Parâmetros analíticos extraídos da curva analítica apresentada na Figura 81.....	176
Tabela 28 - Resultados de eficiência de extração obtidos para quantificação dos corantes em amostras de gasolina após extração (Procedimento I, seção 2.3.2.3).....	179
Tabela 29 - Resultados de eficiência de extração obtidos para quantificação dos corantes em amostras de gasolina após extração (Procedimento II, seção 2.3.2.3).....	180
Tabela 30 - Resultados de eficiência de extração obtidos para avaliar a robustez do método empregando extração como descrito no procedimento II (seção 2.3.2.3) e detecção em +0,70 V.	180
Tabela 31 - Resultados de eficiência de extração obtidos para quantificação dos corantes em amostras de gasolina após extração (Procedimento II, seção 2.3.2.3) usando método de adição do padrão.	182
Tabela 32 – Análise comparativa dos diferentes métodos e sistema de detecção empregados para determinação dos corantes em amostras de combustíveis.....	185

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Procedimento utilizado para extração de QNZ em amostras de gasolina e óleo diesel como apresentado nas seções (2.3.1.2 e 2.3.1.3).....	56
Esquema 2 - Procedimento utilizado para extração dos corantes em amostras de gasolina, como apresentado nas seções (2.3.2.2 e 2.3.2.3).....	62
Esquema 3 - Esquema de oxidação eletroquímica previsto para a QNZ em diferentes meios [98, 102].	68
Esquema 4 - Esquema de redução eletroquímica previsto para compostos antraquinonas em diferentes meios [98, 103, 104]. X pode ser diferentes grupos substituintes.	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN = acetonitrila
B-R = tampão Britton-Robinson
CLAE = Cromatografia líquida de alta eficiência
CMC = concentração micelar crítica
CN = cianopropil
C_{QNZ} = concentração de quinizarina
C_{SB-14} = concentração do Solvente Azul 14
CTAB = brometo de cetiltrimetilamônio
DMF = dimetilformamida
DSS = dioctil sulfosuccinato de sódio
ECI = eletrodo de carbono impresso
ECV = eletrodo de carbono vítreo
EFS = extração em fase sólida
LD = limite de detecção
LQ = limite de quantificação
nd = não detectado
QNZ = Quinizarina
DPR = desvio padrão relativo
SB-14 = Solvente Azul 14
SB-35 = Solvente Azul 35
DP = desvio padrão
SDS = dodecil sulfato de sódio
Si = sílica
SO-7 = Solvente Laranja 7
SR-24 = Solvente Vermelho 24
UV-Vis = ultravioleta-visível
VC = voltametria cíclica
VOQ = voltametria de onda quadrada
VPD = voltametria de pulso diferencial
VVL = voltametria de varredura linear

LISTA DE SÍMBOLOS

λ = comprimento de onda

α = seletividade em cromatografia

v = velocidade de varredura de potencial

ΔpH = variação do pH

ΔE_p = variação do potencial de pico

$\Delta E_{p/2}$ = largura do pico a meia altura em voltametria de onda quadrada

ΔE_s = incremento de aplicação dos pulsos de potencial

$\mu\text{g L}^{-1}$ = micrograma por litro

μA = microampere

μL = microlitro

Abs = absorbância

Ag/AgCl = eletrodo de referência prata cloreto de prata

b = coeficiente angular

C-18 = octadecilsilano

C-8 = octilsilano

C_{impresso} = pseudo-referência de carbono impresso

d = diâmetro interno da coluna

$E_{\text{det.}}$ = potencial de detecção

E_p = potencial de pico

E_r = erro relativo

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

f = frequência de aplicação dos pulsos

Hz = hertz

I = corrente

I_d = corrente direta

I_i = corrente inversa

I_{pa} = corrente de pico anódica

I_{pc} = corrente de pico catódica

$I_{\text{pc}} v^{-1/2}$ = função corrente

I_r = corrente resultante

k = fator de retenção

L = comprimento da coluna

mg = miligrama

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

mmol L⁻¹ = milimol por litro

mV = milivolts

n = número de elétrons envolvido na etapa eletroquímica

nm = nanometro

r = coeficiente de correlação

R_s = resolução

s = segundos

T = fator de cauda (simetria)

t_o = tempo morto

t_r = tempo de retenção

V = volts

V_m = volume morto

vs. = versus

$W_{1/2}$ = largura do pico a meia altura em cromatografia

X_m = média de um conjunto de medidas repetidas

X_t = valor aceito da quantidade que está sendo medida

v = velocidade de varredura de potencial

$v^{1/2}$ = raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	25
1.1. Considerações Gerais	25
1.1.1. Corantes em Combustíveis	27
1.1.2. Atuação no Mercado de Combustíveis.....	29
1.2. Métodos oficiais de Análises de Corantes em Combustíveis	34
1.3. Métodos Alternativos de Análises de Corantes em Combustíveis	35
1.3.1. Considerações Gerais Sobre Métodos Analíticos de Análises e Pré-tratamento de Amostras.....	35
1.3.2. Métodos Espectrofotométricos de Análises	37
1.3.3. Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	38
1.3.4. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Com Detecção Eletroquímica	42
1.3.4. Métodos Eletroanalíticos de Análises	43
1.3.4.1. Eletrodos Impressos.....	44
1.3.4.2. Aplicações de ECI em Eletroanálise	46
1.3.4.3. Uso de Surfactantes em Análises Eletroanalíticas.....	47
1.4. Objetivos.....	49
2. PARTE EXPERIMENTAL	50
2.1. Reagentes, Soluções, Solventes e Amostras.....	50
2.1.1. Reagentes.....	50
2.1.2. Soluções e Solventes	50
2.1.2.1. Experimentos Voltamétricos	50
2.1.2.2. Experimentos Cromatográficos	51
2.1.2.3. Amostras de Combustíveis	52
2.2. Equipamentos	52
2.2.1. Experimentos Voltamétricos	52
2.2.2. Experimentos Cromatográficos	53
2.2.3. Experimentos Espectrofotométricos UV-Vis	54
2.3. Procedimento Experimental	54
2.3.1. Experimentos Voltamétricos	54
2.3.1.1. Estudo das Condições Experimentais e Obtenção da Curva Analítica	54
2.3.1.2. Determinação de QNZ em Amostra de Gasolina Usando Eletrodo de Carbono Vítreo.....	55

2.3.1.3. Determinação de QNZ em Amostra de Óleo Diesel Usando Eletrodo de Carbono Vítreo	56
2.3.1.4. Determinação de QNZ em Amostra de Diesel e Querosene "JET A1" Usando Eletrodos de Carbono Impressos	57
2.3.1.5. Determinação de SB-14 em Amostra de Álcool Combustível Usando Eletrodo de Carbono Vítreo	57
2.3.1.6. Determinação de SB-14 em Amostra de Querosene "JET A1" Usando Eletrodo de Carbono Vítreo.....	57
2.3.1.7. Determinação de SB-14 em Amostra de Álcool Combustível Usando Eletrodos de Carbono Impressos	58
2.3.1.8. Determinação de SB-14 em Amostra de Querosene "JET A1" Usando Eletrodos de Carbono Impressos	58
2.3.2. Experimentos Cromatográficos	59
2.3.2.1. Estudo das Condições Experimentais e Obtenção da Curva Analítica	59
2.3.2.2. Determinação dos Corantes SB-14, SO-7 e SR-24 em Amostra de Gasolina (Benzin 95) por CLAE-UV-Vis	59
2.3.2.3. Determinação dos Corantes SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 em Amostras de Gasolina (Benzin 95) por CLAE-DE	61
2.3.3. Experimentos Espectrofotométricos.....	62
2.3.3.1. Obtenção da Curva Analítica e Determinação do Corante SB-14 em Amostra de Álcool	62
2.3.3.2. Determinação de SB-14 em Amostra de Querosene por Espectrofotometria UV-Vis	63
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
3.1. Oxidação Eletroquímica da QNZ Sobre Eletrodo de Carbono Vítreo	64
3.1.1. Oxidação Eletroquímica da QNZ por Voltametria de Onda Quadrada e Pulso Diferencial	68
3.1.2. Efeito do pH	71
3.1.3. Otimização dos Parâmetros Instrumentais e Obtenção da Curva de Calibração Analítica	72
3.1.4. Determinação de QNZ em Amostras de Combustíveis.....	76
3.2. Redução Eletroquímica da QNZ Usando Eletrodos de Carbono Impressos	79
3.2.1. Efeito do pH	84
3.2.2. Influência da Velocidade de Varredura de Potencial	86
3.2.3. Detecção Eletroquímica por VOQ.....	89
3.2.4. Otimização dos Parâmetros Instrumentais e Obtenção da Curva de Calibração Analítica	94
3.2.5. Determinação de QNZ em Amostras de Combustíveis.....	97

3.2.6. Considerações Finais Sobre a Eletroanálise de QNZ em Amostras de Combustíveis	100
3.3. Redução Eletroquímica do Corante SB-14 Sobre Eletrodo de Carbono Vítreo.....	101
3.3.1. Redução Eletroquímica do Corante SB-14 por Voltametria de Onda Quadrada .	106
3.3.2. Efeito do pH	108
3.3.3. Otimização dos Parâmetros Instrumentais e Obtenção da Curva de Calibração Analítica	110
3.3.4. Determinação de SB-14 em Amostras de Combustíveis.....	113
3.4. Estudos Espectrofotométricos na Região do UV/Vis.....	116
3.5. Redução Eletroquímica do corante SB-14 Usando Eletrodos de Carbono Impressos	118
3.5.1. Influência da Velocidade de Varredura de Potencial	123
3.5.2. Redução Eletroquímica do Corante SB-14 por Voltametria de Onda Quadrada .	126
3.5.2.1. Influência da Concentração do Surfactante DSS.....	126
3.5.2.3. Efeito do pH	130
3.5.3. Otimização dos Parâmetros Instrumentais e Obtenção da Curva de Calibração Analítica	132
3.5.4. Considerações Finais Sobre Eletroanálise do Corante SB-14 em Amostras de Combustíveis	140
3.6. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção no UV/Vis	142
3.6.1. Otimização dos Parâmetros Cromatográficos	142
3.6.2. Curva Analítica e Aplicação do Método	150
3.7. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção Eletroquímica	155
3.7.1. Caracterização Voltamétrica dos Corantes.....	155
3.7.2. Otimização dos Parâmetros Cromatográficos	156
3.7.3. Efeito do Potencial na Detecção Eletroquímica	168
3.7.4. Curva Analítica e Aplicação do Método	172
3.7.5. Considerações Finais Sobre Análise dos Corantes em Combustíveis Empregando Técnicas Cromatográficas	182
4. CONCLUSÕES.....	184
REFERÊNCIAS	186

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações Gerais

O segmento de petróleo tem introduzido nos últimos anos novas regras de consumo de combustíveis no mercado brasileiro, as quais, juntamente com restrições ambientais mais rígidas, têm exigido cada vez mais produtos com qualidade, aumentando ainda mais a competitividade no mercado nacional.

Recentemente, os programas de melhoria da qualidade dos combustíveis no Brasil são espelhados principalmente naqueles lançados pela União Europeia e Estados Unidos, os quais têm previsto, dentre várias medidas, o desenvolvimento de combustíveis cada vez mais nobres com baixíssimos teores de enxofre, o que acarreta diferenças significativas de preços, compatíveis com o alto grau de qualidade desses produtos [1-4]. Atualmente, a especificação dos combustíveis tem tido impacto direto no mercado e no meio ambiente, pois sua produção obrigatoriamente deve atender às exigências de qualidade que visam proporcionar um bom funcionamento aos motores, a saúde dos que os manipulam, a preservação do meio ambiente, além de evitar práticas de adulteração e sonegação fiscal. Isso contribuiu não só para investimentos em tecnologia de combustíveis para a produção de combustíveis limpos de alta qualidade, como também tem sido fator primordial para o desenvolvimento de veículos ambientalmente corretos (menos poluentes).

Outro aspecto envolvendo o controle de qualidade de petróleos e seus derivados diz respeito aos esforços a nível mundial que, a partir da década de 70, têm sido intensificados, para diminuir a poluição causada pelos gases de escape dos veículos. As entidades governamentais de proteção ao meio ambiente estabeleceram limites para a emissão dos principais poluentes: o CO (monóxido de carbono), os HC (hidrocarbonetos não queimados) e os NOx (óxidos de nitrogênio). Esses limites, cada vez mais severos, obrigaram os fabricantes de veículos a aprimorarem os projetos de seus motores e a lançarem mão de dispositivos especiais, os conversores catalíticos, para reduzir a emissão de poluentes na atmosfera [5,6]. No entanto, os principais poluentes encontrados nesses combustíveis são os compostos de enxofre, que, atualmente, demandam grandes esforços das entidades reguladoras para atender

a legislação ambiental no que se refere à redução da emissão desses gases provenientes da combustão de combustíveis em grandes centros urbanos.

Atualmente, as distribuidoras desenvolvem programas de controle de qualidade, no qual marcadores químicos e/ou corantes são adicionados aos combustíveis, de tal modo, que laboratórios móveis visitam periodicamente os postos e analisam os combustíveis para verificar sua qualidade e origem. Além disso, todas as distribuidoras são obrigadas pela Agência Nacional de Petróleo (ANP) a fornecer um Boletim de Conformidade (para cada fornecimento) que atesta a qualidade do combustível entregue nesses postos. Assim, o controle do petróleo e seus derivados pela ANP têm viabilizado uma melhora significativa na qualidade desses produtos, uma vez que a comercialização de solventes no país e a utilização de marcadores químicos e/ou corantes nestes solventes têm inibido de forma mais eficiente a adulteração. Hoje, grande parte dos postos de combustíveis do país é monitorada de acordo com as diretrizes da política de qualidade de produtos da ANP, que protegem os interesses do consumidor, garantindo derivados de petróleo, gás natural e álcool combustível adequados ao uso, além de proporcionar à sociedade boa qualidade de vida, ocasionada pela diminuição do ataque ao meio ambiente. Além disso, este procedimento promove a livre concorrência por intermédio das especificações dos produtos, conferindo uma maior credibilidade à qualidade dos produtos consumidos no país [1,4].

Este controle tem sido preponderantemente importante para o comércio principalmente do diesel, pois este é um dos derivados do petróleo considerado mais crítico em termos de poluentes e, do ponto de vista ambiental, o diesel vendido nas grandes cidades deve necessariamente conter menos enxofre para diminuir a poluição urbana, enquanto que, nas áreas rurais e em pequenas cidades, essa liberdade é maior. A ANP tem buscado uma ação para identificar o diesel com maior teor de enxofre por meio do uso de corante, o que certamente diminuirá bastante a não conformidade neste combustível. Outro problema enfrentado é o álcool combustível, cujas estimativas revelam que milhões de litros de álcool são comercializados irregularmente. Alguns produtores, distribuidores e revendedores vêm infringindo a lei, ao venderem o combustível de forma ilegal, sonegarem impostos e adulterarem o combustível com água. A utilização do combustível altamente hidratado provoca perda de potência, maior consumo e corrosão nos automóveis. Para combater essas fraudes, o uso de marcadores químicos e corantes tem se tornado uma prática comum no Brasil como garantia de procedência e qualidade do produto [1-3].

Assim, as diferenças de tratamentos fiscais entre inúmeras utilizações de combustíveis derivados do petróleo, “segmentos como pesca, mineração, geração de energia elétrica,

aquecimento de residências, agricultura, transportes e lazer” deram origem a um imenso mercado de corantes para marcação destes produtos. Atualmente, grandes companhias com altos faturamentos mensais oferecem os mais variados tipos de corantes para uma enorme gama de produtos petrolíferos. Deste modo, este sistema de marcação para prevenir fraudes fiscais tem sido bastante notável, como por exemplo, em países da África que lutam contra o contrabando de derivados de petróleo, até países da União Europeia e Estados Unidos que proporciona tratamento fiscal diferenciado a produtos como óleo para aquecimento de residências (heating oil) e diesel a ser usado fora de rodovias (off highway diesel), como por exemplo, na agricultura [1,7].

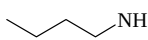
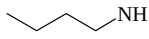
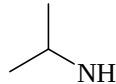
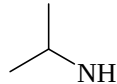
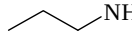
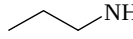
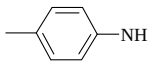
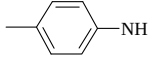
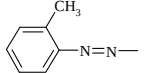
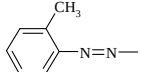
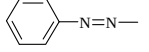
1.1.1. Corantes em Combustíveis

Corantes marcadores de combustível caracterizam-se como substâncias coloridas com extensa ressonância de aromáticos portando grupos substituintes que não se ionizam quando adicionados aos materiais designados que, comumente, são apolares. Esta denominação “marcadores visíveis” ou “corantes marcadores” atualmente empregada refere-se a uma terminologia adequada para diferenciação visual entre produtos com qualidades diferentes. Como citado anteriormente, o objetivo de marcação de um produto é variável e pode ser destinado desde a proteção de lençóis freáticos até a prevenção de fraudes fiscais, como, por exemplo, diferenciar combustíveis contendo altos teores de enxofre [7-9].

Estes compostos são compostos orgânicos sintéticos com caráter não iônico, cuja classificação segue as normas estabelecidas pelo Colour Index, no qual o corante é catalogado de acordo com suas características e atende a um padrão “solvente + cor + número”, ou seja, tipo de corante, cor e grau de coloração, como, por exemplo: Solvente Vermelho 24, Solvente Vermelho 26, Solvente Vermelho 164, solvente amarelo 124, Solvente Azul 35, etc., cujas algumas dessas estruturas podem ser visualizadas na Tabela 1. Outros nomes também podem ser encontrados na literatura, mas são bem menos empregados comercialmente, e seu uso em combustíveis atende aos corantes solventes (solvent dye). Esta denominação “Corante solvente ou solvent dye” usualmente se dá devido a sua solubilidade em solventes orgânicos, o qual é geralmente introduzido nos combustíveis na forma de uma solução em solventes orgânicos apolares ou moderadamente polares. Estes corantes são usados para colorir (marcar) não só os solventes, como também os derivados do petróleo, como ceras, lubrificantes, plásticos, e outros materiais de natureza apolar [4,10]. Em geral, os corantes

com denominação “Solvente Vermelho” e “Solvente Amarelo” são portadores de grupos azo, tais como aqueles mostrados na Tabela 1, enquanto aqueles com denominação “Solvente Verde” e “Solvente Azul” são comumente portadores de grupo antraquinona, (Solvente Verde 3, Solvente Azul 35 and Solvente Azul 36) Tabela 1. Entre as diversas classes de corantes existentes no mercado mundial de tinturas, os azocompostos e antraquinonas, não surpreendentemente, são os mais empregados no segmento de tingimento de combustíveis [12].

Tabela 1 - Características estruturais de corantes empregados em sistemas de marcação de combustíveis.

Substâncias	Substituições no anel					
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₈
Antraquinonas						
Solvente Azul 14		H	H		H	H
Solvente Azul 36		H	H		H	H
Solvente Azul 35		H	H		H	H
Solvente Verde 3		H	H		H	H
Azocorantes						
Solvente Vermelho 24	OH	H		H	-	-
Solvente Vermelho 26	OH	CH ₃		CH ₃	-	-
Solvente Vermelho 164	OH	H		H	-	-
Solvente Amarelo 14	OH	H	H	H	-	-

O que difere um corante de um marcador, propriamente dito (marcador invisível), é que os marcadores invisíveis são substâncias características de cada distribuidora, cujas fórmulas e informações técnicas mais detalhadas constituem segredo industrial do fabricante, sendo estas informações abertas mediante contrato de confidencialidade entre fornecedores e os usuários. Neste caso, a detecção só é possível por métodos específicos adotados por cada distribuidora, nos quais alguns destes métodos são realizados por reações com produtos químicos que só reagem quando o pH do meio altera-se de ácido para básico, ou vice-versa, até os processos mais sofisticados, como o uso de isótopos não radioativos, técnicas cromatográficas, etc.

1.1.2. Atuação no Mercado de Combustíveis

Ao contrário do que se busca na indústria têxtil, cosmética, fotográfica, farmacêutica, de papel e alimentícia, na qual relaciona-se o processo de tintura como um dos fatores fundamentais para o sucesso comercial de seus produtos [12,13], o uso de corantes na indústria de combustíveis, normalmente, não estão relacionados aos apelos estéticos ou ao melhoramento na performance do combustível. Assim, corantes são usados nestas matrizes particularmente para identificar tipos específicos de combustíveis para fins de controle e fiscalização do fabricante ou das instituições responsáveis pelo controle da procedência e/ou destino do combustível gerado [1-4]. Na literatura podem ser encontrados diversos exemplos típicos de aplicação de corantes relacionados aos combustíveis, tais como: uso como “marcadores” para identificar e diferenciar combustíveis com altos teores de enxofre, garantir a identidade a um produto específico de determinado fabricante e, assim, desencorajar adulterações.

Deste modo, o controle de combustíveis não autorizados ao uso convencional, tais como aqueles subsidiados em alguns países, por exemplo, os usados exclusivamente em tratores, barcos, veículos para fazendas e outros, tem contribuído para o aumento na atuação de corantes no mercado de combustíveis [7].

Como citado anteriormente, os corantes usados para adição aos combustíveis normalmente são insolúveis em água e muito solúveis em hidrocarbonetos derivados do petróleo. Além disso, eles devem ser fáceis de manusear, não apresentar efeitos adversos significativos em qualquer das propriedades dos combustíveis em que são inseridos e, particularmente, devem apresentar relativa resistência quando submetidos às técnicas usuais

de remoção, tal que proteja a integridade do combustível e impeça o mal uso de um corante facilmente detectável ou removível. Devido à essa última propriedade, embora o custo de fabricação do corante seja baixo, seu custo comercial geralmente é elevado, devido às patentes que os protegem.

Em vários países, principalmente os que integram a Comunidade Europeia, os distribuidores de combustíveis utilizam um sistema de marcação do diesel, o "red diesel", óleo de aquecimento, significativamente mais barato que os combustíveis dieiseis mais pesados, com um maior teor de enxofre, cujo uso em motores à diesel danifica tanto o ambiente, quanto o motor. Em vista de tais problemas, as agências fiscalizadoras adotaram a adição de corantes como método de prevenção, como uma forma para coibir a adulteração destes tipos de combustíveis. Entre esses corantes, destacam-se os corantes vermelhos que são frequentemente portadores de grupos azo, como por exemplo, Solvente Vermelho 19, Solvente Vermelho 24 e Solvente Vermelho 26.

O querosene de aviação, bem como óleos de aquecimento etc., também tem sido marcados com corantes, cuja finalidade é impedir sua mistura com produtos de má qualidade o que, conseqüentemente, tem um custo mais elevado. Esta iniciativa tem sido uma forma de proteção à marca da distribuidora e aos interesses dos consumidores.

Porém, depois de agosto de 2002, todos os países da União Europeia estão sendo obrigados, a adotarem um corante em comum entre eles, o chamado "Solvente Amarelo 124" (Figura 1), cuja concentração adicionada deve ser de, aproximadamente, $6,00 \text{ mg L}^{-1}$, a fim de que seja um marcador universal entre estes países. Este corante pode ser facilmente hidrolisado com ácidos e pode dividir o grupo acetal, responsável pela sua solubilidade em solventes apolares, transformando-o em uma forma solúvel em água. Além disso, pode ser facilmente detectado em combustíveis adulterados por diluição com solventes ou em produtos de má qualidade, a níveis baixíssimos (da ordem de $0,30 \text{ mg L}^{-1}$) após a extração por procedimentos adequados [14].

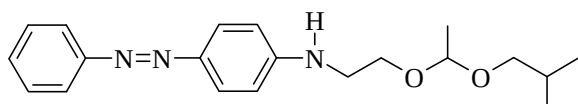


Figura 1 - Fórmula estrutural do corante "Solvente Amarelo 124" N-etil-N-[2-(1-isobutoxi)etil](4-fenilazofenil)amina.

Nos Estados Unidos da América, a Agência de Proteção Ambiental (EPA), designa o uso de um corante vermelho, o “Solvente Vermelho 26”, para identificar e marcar combustíveis com altos teores de enxofre para não serem usados em áreas urbanas. Este corante é utilizado nos Estados Unidos como um marcador padrão, entretanto, ele tem sido substituído por um outro corante, o “Solvente Vermelho 164”, que é um composto com coloração semelhante, mas com cadeia alquílica mais longa. O uso destes corantes vermelhos geralmente é feito em concentrações mais elevadas, de tal forma que eles podem ser detectados até mesmo quando diluídos em solventes e em outros combustíveis de má qualidade [11].

No Brasil, devido ao contrato de confidencialidade entre os fornecedores e os órgãos que controlam e demarcam os diversos tipos de combustíveis, as informações referentes às fórmulas e demais tipos de informações relevantes para identificação destas substâncias não são reveladas. Assim, como grande maioria dos corantes marcadores para este fim são portadores de grupos azo e antraquinona, tais como aqueles listados na Tabela 1. Assim, os produtos mais nobres e caros, devido a sua alta qualidade, comercializados no Brasil, cujas cores variam de azul, amarela, verde, vermelha, entre outras, também seguem uma tendência do mercado Norte-Americano e Europeu.

Nos últimos anos, tem sido adotado um sistema de marcação do álcool combustível [15], cuja finalidade é de garantir sua qualidade, bem como livrá-lo de fraudes de adulteração por adição de água. A adulteração do álcool combustível no Brasil tem sido maior do que a adulteração da gasolina. De acordo com boletins de qualidade emitidos pela ANP, este índice de não conformidade do álcool no Brasil ficou ao redor de 7,00%, enquanto que, para a gasolina, o mesmo índice ficou em 2,90% e, para o diesel, em 1,70%. Assim, a adição do corante no álcool combustível, teoricamente, evitaria a principal forma de adulteração, que consome milhões de Reais/ano dos cofres públicos.

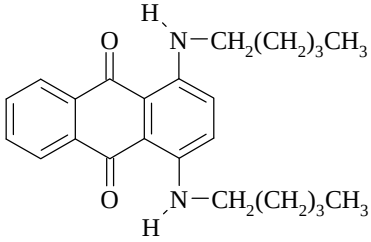
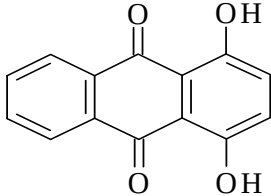
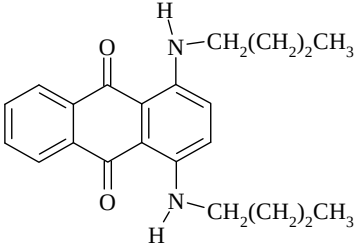
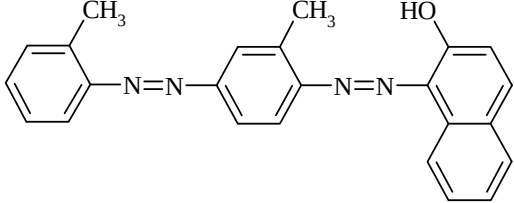
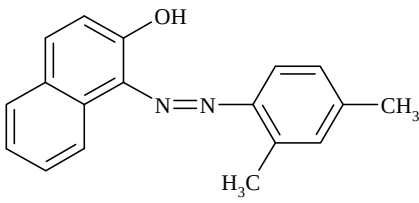
Na Tabela 2, observam-se as estruturas moleculares e as respectivas propriedades físico-químicas dos corantes Quinizarina (QNZ), Solvente Azul 14 (SB-14), Solvente Azul 35 (SB-35), Solvente Laranja 7 (SO-7) e Solvente Vermelho 24 (SR-24), compostos, cuja presença em combustíveis e/ou solventes hidrocarbonetos pode ser justificada ora legalmente, quando adicionados com o propósito de atender as exigências da ANP, ora ilegalmente, devido a sua adição irregular por revendedores com o objetivo de burlar os órgãos fiscalizadores.

Analisando estruturalmente os corantes apresentados nas Tabelas 1 e 2, verifica-se que estes, embora portadores de grupos azos e antraquinonas, são diferentes dos corantes têxteis e

alimentícios, devido as mudanças introduzidas em suas estruturas, buscando uma melhor interação com solventes apolares e ao meio ao qual são adicionados. Assim, as moléculas desses corantes apresentam baixa polaridade por causa desse processo de reestruturação molecular, que evita sua fácil ionização, mesmo quando são adicionados a meios aquosos/orgânicos. Entretanto, estes grupos substituintes com grupos apolares, geralmente, são acompanhados de átomos com a propriedade de doar elétrons para o anel aromático, fornecendo um sistema estendido de deslocamento de elétrons π , o que permite, assim, estender a absorção de radiação na região do visível [12, 16, 17]. Além disso, a presença desses grupos substituintes com átomos doadores ou aceitadores de elétrons, bem como, grupos cromóforos e também grupos auxocrômicos em algumas moléculas, torna essas substâncias acessíveis para detecção por diversas técnicas analíticas.

A determinação destes corantes por técnicas analíticas é bastante relevante, uma vez que a detecção não necessita de adaptações estruturais, tais como reações de derivação ou, ainda, alteração de alguma propriedade físico-química que possa ser relacionada à quantidade do corante na amostra. A baixa polaridade conferida à maioria destas substâncias em função destes grupos substituintes com grupos apolares permite maior acessibilidade na escolha do material sorvente quando comparados com corantes têxteis iônicos. Sendo assim, o desenvolvimento de métodos de extração em fase sólida (EFS), bem como a posterior análise por métodos analíticos de quantificação, é promissor em função dessas características estruturais favoráveis.

Tabela 2 - Fórmula estrutural e propriedades físico-químicas dos principais corantes estudados neste trabalho.

	1,4-bis(pentilamina)antraquinona (SB-14) Massa molar = 378 g mol⁻¹ Absorção: λ_{max} 254, 596 e 644 nm Pureza: 97,0%
	
1,4-diidroxiantraquinona (QNZ) Massa molar = 240 g mol⁻¹ Absorção: λ_{max} 237 e 395 nm Pureza: 96,0%	1,4-bis(butilamina)antraquinona (SB-35) Massa molar = 350 g mol⁻¹ Absorção: λ_{max} 604 e 652 nm Pureza: 98,0%
	
1-[2-metil-4-(2-metilfenilazo)fenilazo]-2-naftol (SR-24) Massa molar = 380 g mol⁻¹ Absorção: λ_{max} 357 e 520 nm Pureza: 80,0%	1-(2,4-Xililazo)-2-naftol (SO-7) Massa molar = 276 g mol⁻¹ Absorção: λ_{max} 493 e 604 nm Pureza: 90,0%

1.2. Métodos Oficiais de Análises de Corantes em Combustíveis

Algumas das especificações dos derivados do petróleo comercializadas em todo território nacional são estabelecidas pelo Regulamento Técnico da ANP, pelo qual a determinação da cor destes produtos segue procedimentos estipulados pelas Normas Brasileiras (NBR), Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) ou normas da American Society for Testing and Materials (ASTM).

Os limites de concentração desses corantes requeridos para adição em combustíveis em geral são bem altos, certamente em função do modo de detecção da cor que, comumente, é realizado por métodos visuais ou colorimétricos (Tabela 3). Esses métodos são demasiadamente simples e não oferecem qualquer confiabilidade analítica, principalmente pelo fato de não diferenciar a presença de corantes de coloração semelhante, mas estruturalmente diferentes. Deste modo, uma breve revisão sobre métodos de pré-tratamento de amostras de combustíveis e sobre métodos analíticos quantitativos para análise de uma diversidade de corantes em diferentes amostras de combustíveis encontrados na literatura é apresentada a seguir.

Tabela 3 - Dados de especificações de qualidade dos combustíveis automotivos líquidos comercializados no Brasil [1, 15, 18-20].

Combustível	Métodos de detecção da cor				Teor máximo adicionado (mg L ⁻¹)
	Visual ^[d]		Instrumental ^[e]		
	Norma	Norma	Norma	Norma	
	Nacional	Internacional	Nacional	Internacional	
Álcool ^[a]	NBR 7148	ASTM D 1298			15,0
Gasolina	NBR 7148	ASTM D 1298	-	-	50,0
Querosene ^[b]	-	-	NBR 14921	-	-
Diesel ^[c]	NBR 7148	ASTM D 1298	NBR 14483	ASTM D 1500	30,0 a 40,0

^[a] Visual e método espectrofotométrico; ^[b] Querosene de aviação; ^[c] Óleo diesel D (Metropolitano);

^[d] A visualização é realizada em proveta de vidro conforme utilização nos métodos; ^[e] Métodos colorimétricos.

1.3. Métodos Alternativos de Análises de Corantes em Combustíveis

1.3.1. Considerações Gerais Sobre Métodos Analíticos de Análises e Pré-tratamento de Amostras

Devido ao grande número de corantes disponíveis comercialmente com estruturas diferentes, mas com similaridade de coloração e propriedades físico-químicas diferenciadas, aliadas à complexidade das matrizes oriundas de combustíveis derivados do petróleo, os métodos analíticos capazes de se adequar a estas diversidades são bastante restritos. De acordo com isso, a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido uma das ferramentas analíticas mais utilizadas na identificação e quantificação destes marcadores, cujos procedimentos têm apresentado longos tempos de preparo das amostras antes das análises. A seguir é apresentada uma breve revisão de alguns dos trabalhos envolvendo o desenvolvimento de métodos de extração e quantificação de diversos marcadores por diferentes técnicas analíticas.

A composição geralmente complexa de matrizes como combustíveis inviabiliza a quantificação direta de analitos orgânicos por grande parte das técnicas analíticas. Entre os maiores problemas encontrados na análise quantitativa de compostos orgânicos presentes nestas matrizes, pode-se destacar a presença de diversas substâncias contendo compostos sulfurados [21], nitrogenados [22, 23] e oxigenados [6], além de produtos químicos introduzidos como aditivos, tais como, detergentes-dispersantes, que constituem-se em componentes interferentes que podem ser detectados juntamente com o analito de interesse, se a técnica analítica empregada não apresentar seletividade apropriada.

Deste modo, procedimentos rigorosos de extração e purificação do analito nestas matrizes são normalmente requeridos, os quais muitas vezes exigem longas etapas de pré-tratamento, bem como o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos. Estes procedimentos de clean-up da amostra, além de purificar o analito de interesse, deixando-o adequado para análise quantitativa, permite ainda obter-se uma sub-fração da amostra original enriquecida com o composto de interesse, de forma que a detecção seja realizada com o mínimo de interferência em um curto intervalo de tempo.

Assim, métodos recentes de pré-tratamento de amostras com características de separar compostos orgânicos com propriedades muito parecidas em um curto intervalo de tempo têm despertado grande interesse dos pesquisadores. Este empenho deve-se ao fato de que

geralmente o analito de interesse tende a ser co-extraído com substâncias interferentes por grande parte dos métodos convencionais de extração. Compostos com estruturas similares, além de serem extraídos juntamente com componentes interferentes presentes nestas matrizes, podem ser co-eluídos, necessitando-se, assim, de técnicas de pré-tratamento que consigam separá-los previamente sem perda considerável da substância analisada.

Dentre os métodos de extração normalmente utilizados para purificar e concentrar analitos orgânicos, destacam-se a extração líquido-líquido (ELL) e a extração em fase sólida (EFS). Atualmente, a técnica de EFS tem sido a mais empregada para separação de componentes interferentes em matrizes, como combustíveis, uma vez que esta oferece grandes vantagens em relação à ELL, por um lado, por envolver menor tempo de manipulação do analito (entre 5,00 e 10,0 minutos), por outro, pelo uso de quantidades reduzidas de solventes orgânicos (cerca de 20 mL) contra aproximadamente 500 mL para ELL [24]. Além disso, a EFS pode ser facilmente automatizada, o que permite realizar *clean-up* de dezenas de amostras simultaneamente. O emprego de cartuchos tipo seringa (formados por tubos de polipropileno) recheados com o material sorvente apropriado com quantidades que varia de 50,0 a 1000 mg permite realizar ótimas adaptações ao sistema de análise, melhorando significativamente a eliminação de interferentes. A semelhança no mecanismo de retenção com aqueles envolvidos na cromatografia líquida em coluna permite, ainda, variar o material sorvente, bem como a possibilidade de ajuste do solvente de eluição que, conseqüentemente, melhora a separação do analito/interferente, quando ambos possuem características estruturais semelhantes.

A literatura dispõe de uma variedade de publicações específicas envolvendo EFS em diversas matrizes, descrevendo métodos de extração, purificação e concentração de analitos orgânicos, além de fornecer uma variedade de informações sobre materiais sorventes usados em EFS [24-27], os quais, com algumas adaptações, podem perfeitamente ser adequados para o uso em tratamento de amostras mais complexas, como os derivados do petróleo. Diante disso, os métodos analíticos encontrados na literatura para quantificação de diversos tipos de corantes são baseados principalmente na separação dos vários constituintes presentes nas amostras de combustíveis através do uso de colunas de extração em fase sólida contendo um material sorvente adequado. Neste caso, alguns estágios para desenvolvimento do procedimento experimental são requeridos, sendo estes ordenados da seguinte maneira:

(i) Inicialmente, realiza-se uma etapa de disponibilização dos sítios ativos do material sorvente por ativação com um solvente adequado, (ii) em seguida, um solvente ou mistura de solventes é passado pelo cartucho a fim de condicioná-lo, obtendo um meio semelhante ao da

amostra, (iii) etapa na qual envolve a concentração do corante através da retenção em cartucho de extração em fase sólida (EFS) contendo um material sorvente apropriado, geralmente sílica ou sílica quimicamente ligada. Esta etapa é de fundamental importância, pois possibilita passar um maior volume de amostra que, conseqüentemente, permite obter uma alíquota final mais concentrada do que a encontrada inicialmente na amostra. (iv) Etapa na qual se realiza a limpeza total do material retido na coluna, onde o corante é separado dos interferentes por passagem de quantidades apropriadas de um solvente apolar ou de baixa polaridade (geralmente hexano), para remover os hidrocarbonetos e as espécies químicas interferentes menos retidas no sorvente. (v) Finalmente, nesta etapa, realiza-se a eluição do analito retido no material sorvente por meio da passagem de um solvente com polaridade semelhante a do analito. Deste modo, a quantificação do corante é feita pela detecção do analito em concentração e pureza já apropriados para análise.

Um dos primeiros métodos encontrado na literatura envolve a identificação e determinação visual da Quinizarina (QNZ) em óleo diesel através da extração líquido-líquido [28]. Neste caso, a detecção é realizada a partir da extração líquido-líquido da QNZ na amostra de óleo diesel marcada com níveis de concentração de $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ com NaOH após testes em diferentes proporções. Assim, a QNZ apresenta uma coloração azul-violeta na fase aquosa básica, cuja estabilidade de, aproximadamente, 30 minutos permite tempo suficiente para testes visuais de detecção.

1.3.2. Métodos Espectrofotométricos de Análises

A aplicação dos métodos espectrofotométricos com absorção na região do ultravioleta e visível representa a classe de técnicas analíticas mais simples, de baixo custo e relativamente fáceis de serem executadas quando o objetivo é a quantificação de analitos orgânicos. No entanto, devido à complexidade da matriz e a falta de seletividade destas técnicas, as análises envolvendo amostras de combustíveis têm apresentado grandes problemas de sobreposição espectral, sendo que longas etapas de separação dos analitos destas matrizes têm sido requeridas, além da utilização de métodos quimiométricos para discriminação das bandas de absorção espectrais [29]. Assim, essas técnicas espectrofotométricas apresentam uma larga aplicação no desenvolvimento de métodos de análises para um único composto orgânico em uma variedade de amostras. Adicionalmente, sua capacidade de fornecer espectros em poucos segundos de análises torna-as insubstituíveis em certos ramos da química analítica.

Entretanto, em sistemas mais complexos, como os apresentados pelas amostras de combustíveis, além de apresentarem bandas de absorção largas e alta sobreposição espectral, as análises também são dificultadas em sistemas com multicomponentes. Assim, para contornar os problemas decorrentes de sobreposição espectral entre analito/interferente, são necessários métodos de extração mais eficientes, além de aplicações de cálculos matemáticos (espectroscopia derivativa). Além disso, os métodos espectrofotométricos apresentam altos limites de detecção, o que inviabiliza sua aplicação na análise de amostras contendo baixos teores do analito de interesse, principalmente em matrizes diluídas adulteradas por outros tipos de solventes hidrocarbonetos.

Diante disso, a técnica de espectroscopia derivativa foi utilizada por Leung e Tam [29] para a análise do corante Solvente Vermelho 24 (SR-24) em amostra de óleo diesel industrial. Os autores observaram que a segunda derivada do espectro de absorção do corante exibe um máximo em 555 nm, o que, segundo os autores, permite quantificação do corante SR-24 em amostras de óleo diesel industrial em níveis de concentração entre 2,00 e 6,00 mg L⁻¹.

Nowak [30] desenvolveu um método de extração e análise espectrofotométrica para análise quantitativa do corante “Oil blue Liq.”, o marcador do tipo antraquinona, comercializado pela Du Pont, em combustível destilado do petróleo envelhecido. O método consiste na extração do analito em coluna de sílica e eluição com diclorometano ou tolueno, cuja análise permite detecção do analito na amostra da ordem de 5,00 mg L⁻¹.

1.3.3. Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Em meio a diversas ferramentas que podem ser usadas para o controle de qualidade destes combustíveis, os métodos cromatográficos têm sido a metodologia alternativa mais eficiente, pois possuem grandes vantagens em separar e quantificar um maior número de substâncias em matrizes relativamente complexas. Ainda que as técnicas cromatográficas necessitem de uma longa etapa de separação e purificação do analito da matriz, esta tem sido destacada em relação às demais, pois, embora algumas espécies interferentes possam estar presentes durante a purificação do analito, pode-se ter resultados confiáveis em função da possibilidade de separação destes interferentes usando uma coluna adequada. Este tem sido o ponto de partida e um requisito básico para o controle da qualidade, uma vez que estas matrizes são de grande complexidade, e o objetivo final é detectar e quantificar com confiabilidade um determinado corante em matrizes supostamente adulterada e/ou diluída.

Dentre esses trabalhos, May e colaboradores [31] descrevem um método por CLAE com detecção espectrofotométrica em 485 nm, para propiciar a detecção e a quantificação de resíduos desses corantes marcadores em combustíveis diesel lavados (laundered). Neste caso, o procedimento envolve uma etapa de concentração dos analitos sobre coluna pré-empacotada com sílica, na qual os marcadores são separados da amostra e ao mesmo tempo concentrados na coluna, com a passagem de um maior volume de amostra pela coluna. Nesta condição, o método permite a quantificação de 0,20 mg L⁻¹ de quinizarina e de 0,40 mg L⁻¹ do Solvente Vermelho 24.

Sundberg e colaboradores [32] apresentaram uma metodologia analítica para análise do corante “Solvente Amarelo 124”, um corante marcador que a partir de Agosto de 2002 passou a ser de uso comum entre os países da Comunidade Europeia. O método baseia-se no uso da técnica de CLAE com detecção em arranjo de diodo ($\lambda = 410$ nm) após separação em coluna de sílica e eluição, cuja análise envolve apenas diluição da amostra de óleo diesel refinado e posterior filtração em filtro apropriado antes das análises. A quantificação foi mais eficiente com uso de um padrão interno (pigment yellow 3), permitindo detecção da ordem de 0,05 mg L⁻¹ do corante.

Henricsson e Westerholm [33] também utilizaram a técnica de CLAE com detector de arranjo de diodos (detecção em 420 nm) para a análise quantitativa do marcador “Solvente Amarelo 124” em amostras de diesel. Neste método, os autores realizaram um procedimento de pré-tratamento das amostras, extraíndo o corante da matriz antes de cada análise em cartuchos de extração em fase sólida contendo 500 mg de sílica. Nesta condição, o método foi aplicado com sucesso para a determinação do corante em diferentes amostras de diesel permitindo uma quantificação da ordem de 0,20 ng mL⁻¹.

Em outro trabalho, Barwick e colaboradores [34] descreveram uma metodologia analítica para determinação de três corantes marcadores “Solvente Vermelho 24”, “quinizarina” e “Solvente Amarelo 124” em amostras de óleo combustível baseado na técnica de CLAE com detector de arranjo de diodos operando entre 475 e 500 nm. As incertezas para a determinação dos marcadores foram avaliadas a partir de dados obtidos com estudos de precisão e exatidão usando amostras fortificadas em certo intervalo de concentração e dos estudos de extração e robustez. Os autores mostram que, após a extração dos analitos em coluna de sílica, o método pode ser aplicado com sucesso na determinação dos corantes em amostras de óleo diesel, querosene e óleo lubrificante em níveis de concentrações de 0,041 a 4,06 mg L⁻¹ para o “Solvente Vermelho 24”, 0,04 a 1,99 mg L⁻¹ para a “quinizarina” e 0,04 a 4,99 mg L⁻¹ para o “Solvente Amarelo 124”.

Recentemente, o corante Solvente Amarelo 124 foi quantificado em amostras de gasóleo e querosene a partir de uma metodologia desenvolvida por Linsinger e colaboradores [14]. Neste trabalho, os autores empregaram a CLAE com detector operando no visível, nos comprimentos de onda de 410 e 450 nm, para testar a seletividade do método. A metodologia foi direcionada na tentativa de propiciar a detecção e a quantificação direta do corante após diluição e posterior filtração das amostras de gasóleo e querosene em filtros apropriados. Este procedimento foi eficiente o bastante para analisar o corante nestas matrizes em níveis de 0,020 e 0,065 mg L⁻¹, para limite de detecção e quantificação, respectivamente.

Além disso, é possível encontrar na literatura um trabalho desenvolvido por Timkovich [35] que apresenta um método analítico empregando a CLAE-UV-Vis e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa para determinação e identificação do corante “Solvente Vermelho 26” em amostra de óleo diesel. Neste trabalho, o autor melhora a detecção do sinal do corante marcador, realizando uma etapa prévia de pré-concentração baseada na retenção do analito em coluna de extração em fase sólida contendo sílica gel antes de cada análise. Este método também foi bastante eficiente, no entanto, permitiu detecção do corante nesta matriz somente em um nível de concentração da ordem de 10,0 ng mL⁻¹.

A Tabela 4 apresenta um resumo com informações adicionais referentes aos métodos cromatográficos disponíveis na literatura, desenvolvidos para identificação e quantificação de alguns corantes em amostras de combustíveis.

Tabela 4 - Resumo de métodos cromatográficos disponíveis na literatura para determinação de alguns corantes marcadores em amostras de combustíveis.

Corante	Matriz	Coluna	Fase Móvel	Detector	LQ (mg L ⁻¹)	Ref.
SY-124	Gasóleo Querosene	Si (5 µm) 250x4,6 mm	Tolueno/Acetato de etila (98:2, v/v)	UV-Vis, λ = 410 e 450 nm	0,07	14
QNZ, SR-24	Óleo diesel	Hipersil C18 (5 µm) 200x4,6 mm	ACN/Formiato de amônio, pH 7,6 (90:10, v/v)	UV-Vis, λ = 485 nm	-	31
SY-124	Óleo diesel	Nucleosil Si (5 µm) 200x4,6 mm	Hexano/Acetato de etila (gradiente)	DAD, λ = 250- 600 nm	0,05	32
QNZ, SR-24, SY-124	Óleo diesel Querosene	Fenil-Hexil (5 µm) 250x4,6 mm	ACN/Água (gradiente)	DAD, λ = 475 e 500 nm	-	34
SR-26	Óleo diesel	Partsil Si (5µm) 250x4,6 mm	Hexano/clorofórmio (1:1, v/v)	UV-Vis, λ = 519 nm	-	35
SY-124	Óleo diesel	YMC C8 (5 µm) 250x4,6 mm	ACN/acetato de amônio (25 mmol L ⁻¹), pH 4,8 (72:28, v/v)	DAD, λ = 420 nm	0,02	33

SY-124: Solvente Amarelo 124; SR-24: Solvente Vermelho 24; QNZ: Quinizarina; SR-26: Solvente Red 26; Si: sílica; DAD: detector de arranjos de diodo

1.3.4. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Com Detecção Eletroquímica

Como anteriormente citado, a técnica de CLAE tem sido uma das técnicas analíticas mais utilizadas e eficientes como metodologia alternativa na identificação, separação e quantificação de substâncias orgânicas, operando com fase móvel adequada e com métodos de detecção que podem oferecer seletividade, sensibilidade, exatidão e rapidez de análise. Com o avanço tecnológico, tem-se ampliado a disponibilidade dos métodos de detecção acoplados a CLAE, podendo ser utilizados detectores fotométricos baseados em absorção na região do UV-Visível, fluorescência, índice de refração, eletroquímico, entre outros. Assim, uma melhor detectibilidade e separação dos componentes da amostra dependem fundamentalmente da seleção apropriada do detector e da coluna cromatográfica, respectivamente [36, 39].

Em meio aos detectores citados, o acoplamento de detectores eletroquímicos em sistemas CLAE tem demonstrado grande potencialidade na quantificação de componentes orgânicos, em nível de traços, em diversas matrizes [40]. A grande maioria das aplicações envolvendo CLAE com detecção eletroquímica tem utilizado colunas de fase reversa e detectores amperométricos. A detecção amperométrica consiste no monitoramento de reações eletroquímicas que ocorrem na superfície do eletrodo de trabalho, operando em modo de corrente direta. Para isso, a espécie a ser determinada necessita apresentar grupos funcionais redutíveis ou oxidáveis ou ser derivada com grupos passíveis destas transformações eletroquímicas. Esses detectores usam eletrodos de trabalho constituídos de diversos materiais, tais como: carbono vítreo, ouro, platina e eletrodos com a superfície quimicamente modificada por grupos específicos que possuem alta seletividade na identificação dos componentes da amostra. Embora, a técnica de CLAE com detecção na região do ultravioleta e visível seja amplamente utilizada para detecção de uma grande variedade de corantes em diversas matrizes, a quantificação de corantes em matrizes como combustíveis por técnicas cromatográficas usando detectores eletroquímicos é um campo ainda não explorado.

Ainda que a técnica cromatográfica com detecção eletroquímica não seja utilizada no desenvolvimento de métodos analíticos para a quantificação de corantes em amostras de combustíveis [41-43], são encontrados diversos trabalhos na literatura reportando o uso desta técnica na detecção e quantificação de uma grande variedade de outros analitos orgânicos em matrizes biológicas [44-52], ambientais [53-55], farmacêuticas [56, 57], alimentícias [58-63]. Estes trabalhos têm mostrado que as técnicas de CLAE acopladas ao sistema de detecção

eletroquímico são, de fato, um dos métodos mais convenientes para a quantificação de compostos orgânicos eletroativos em níveis baixíssimos de concentração [40]. A seletividade, sensibilidade e limite de quantificação dos métodos tendem a ser melhorados, quando técnicas de separação mais eficientes são usadas. Portanto, CLAE e detector eletroquímico têm sido uma ótima combinação, de modo que pode ser explorada para a determinação quantitativa de corantes em amostras de combustíveis quando limites muito baixos de concentração são objetivados.

1.3.4. Métodos Eletroanalíticos de Análises

Estudos prévios encontrados na literatura mostram que as técnicas eletroanalíticas têm se mostrado altamente propícias na quantificação de diversos tipos de azocorantes e antraquinona como grupos cromóforos [64-70]. Estes trabalhos têm apresentado resultados satisfatórios, uma vez que estes corantes apresentam estruturas contendo grupos funcionais facilmente redutíveis e/ou oxidáveis, além disso, essas matrizes são menos complexas e não oferecem tantos problemas de interferências. Entretanto, estes estudos envolvem apenas classes de corantes utilizados na indústria têxtil ou de curtume em matrizes aquosas, cuja aplicação não pode ser generalizada para classes de corantes marcadores de combustíveis em função da alta complexidade dessas matrizes e a fraca solubilidade destes em meio aquoso.

A demanda por métodos analíticos confiáveis, rápidos e sensíveis capazes de atender tanto a demanda de fabricantes e distribuidores de combustíveis quanto os órgãos responsáveis pela fiscalização do sistema de marcadores usados em combustíveis com taxas reduzidas tem despertado grande interesse de pesquisadores da área. Entretanto, mesmo tendo sido verificado que as técnicas eletroanalíticas tem se mostrado potencialmente interessante na análise de outros tipos de corantes [64-70], atendendo os requisitos básicos em análise quantitativa, os métodos envolvendo matrizes como combustíveis tem sido bastante restrito. Neste contexto, o desenvolvimento de metodologias analíticas empregando as técnicas eletroquímicas tem tido grande potencialidade e sido bastante promissora, principalmente, considerando os aspectos positivos de possibilidades de miniaturização de equipamentos e eletrodos, baixo custo instrumental e analítico etc.

1.3.4.1. Eletrodos Impressos

Atualmente, a busca por metodologias cada vez mais simplificadas tem propiciado o desenvolvimento de dispositivos com grande diversidade de materiais eletródicos, os quais permitem maior praticidade nas determinações eletroanalíticas. Neste caso, as adaptações no tamanho e arranjo desses materiais de eletrodos têm permitido sua utilização principalmente para análises em campo, bem como, na coleta do analito de interesse para posterior determinação. Estes procedimentos têm oferecido ao operador não só instrumentos mais versáteis e econômicos, como também respostas sensíveis e seletivas, além da facilidade de uso e simplicidade na medida da resposta.

Devido a sua simplicidade, a eletroanalítica tem se revelado o ramo da química analítica com maior diversidade de técnicas disponíveis com inúmeras vantagens na determinação de compostos orgânicos, inorgânicos e organometálicos, nas mais diversas matrizes, com possibilidade de monitoramento do analito em solventes aquosos e não aquosos. Deste modo, a aplicação das técnicas eletroanalíticas convencionais na análise de corantes pode ser bastante relevante para a área, uma vez que esta atende a demanda por testes analíticos simples, sensíveis, econômicos e rápidos na indústria mundial. Além disso, a eletroanalítica tem se adaptado com muito sucesso para atender esta necessidade, oferecendo sensores eletroquímicos versáteis com capacidade de identificar e determinar os mais diversos produtos em tempo real e em concentrações bastante variáveis [71-73].

Dentre a grande diversidade sobre o assunto, o desenvolvimento de eletrodos de carbono impressos (usualmente chamado, screen-printed carbon electrode) como eletrodo descartável tem merecido muita atenção nos anos mais recentes [74, 75]. O eletrodo de carbono impresso consiste basicamente no depósito de um filme de carbono ou outro material condutor sobre um suporte inerte, geralmente de PVC ou cerâmica de alumina. Este filme é parcialmente coberto por uma segunda camada fina de um material isolante para definir uma área de contato elétrico numa extremidade e outra área para ser a superfície do eletrodo na outra extremidade, como exemplifica a Figura 2.

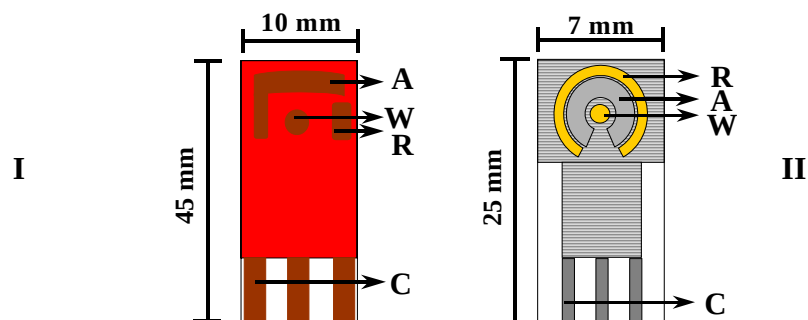


Figura 2 - Ilustração de dois modelos de eletrodos de carbono impressos em cerâmica “screen-printed”. A = eletrodo de referência (tinta de Carbono ou Ag/AgCl), R = eletrodo auxiliar (tinta de Carbono), W = eletrodo de trabalho (tinta de Carbono) e C = contato elétrico.

O eletrodo de carbono impresso (ECI) representado acima consiste em pequenas placas de cerâmica recobertas por camadas de tinta de carbono e material isolante com altura entre 2,50 e 4,50 cm e largura entre 0,70 e 1,00 cm. O eletrodo apresenta um arranjo de eletrodos planares composto por: W, que representa um eletrodo circular ($2,00 \text{ mm}^2$) de tinta de carbono como eletrodo de trabalho; A, um eletrodo de tinta de carbono com área aproximada de $10,0 \text{ mm}^2$, usado como eletrodo auxiliar; e R, um eletrodo de tinta de carbono com área de $4,00 \text{ mm}^2$, usado como eletrodo de pseudo-referência. Estes eletrodos estão disponíveis comercialmente em diversas companhias, no entanto, são passíveis de fabricação em máquinas de screen também comercializadas. Contudo, a maioria dos modelos de eletrodos com tintas condutoras e isolantes comerciais são de custo relativamente baixo e quase sempre patenteadas, cuja fabricação não é revelada apropriadamente.

Uma das principais atrações destes tipos de eletrodos é a facilidade de utilização, com apresentação de um sistema completo, contendo os eletrodos de trabalho, auxiliar e referência, impressos no mesmo suporte em área bastante reduzida. Adicionalmente, estes eletrodos são de fácil fabricação, possibilitando a produção de um grande número em tempo curto a um custo extremamente baixo. A tecnologia é simples e apropriada para a produção de eletrodos descartáveis, fatores determinantes no desenvolvimento de versões comercializáveis para o público menos especializado. Além disso, estes eletrodos têm apresentado sensibilidade, seletividade, estabilidade, precisão, resposta rápida, facilidade de uso e robustez, requisitos básicos para análise rotineira num processo industrial.

1.3.4.2. Aplicações de ECI em Eletroanálise

Observando os trabalhos existentes na literatura, pode-se constatar que os eletrodos impressos apresentam grande potencialidade analítica para a determinação de diferentes espécies, orgânicas e inorgânicas, cujos resultados demonstram vários aspectos positivos que estimulam estudos visando disseminar sua aplicação como novos sistemas de detecção e desenvolvimento de métodos de análises. Alguns trabalhos foram escolhidos e, uma breve revisão é apresentada a seguir.

Dentre esses trabalhos, Bergamini e colaboradores [76] desenvolveram um método para quantificação de levodopa (L-dopa) em formulações farmacêuticas usando técnicas eletroquímicas. Os autores usam eletrodos de ouro impresso para detecção de L-dopa em solução estacionária e em um sistema em fluxo. Nesta condição, o método foi aplicado com sucesso para determinação deste analito em formulações farmacêuticas com limite de detecção de $6,80 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $9,90 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para eletrooxidação de L-dopa em solução e em fluxo, respectivamente.

Bergamini e colaboradores [77] também desenvolveram um método baseado em detecção amperométrica, sob eletrodos de carbono impressos, para determinação de procaína em formulações farmacêuticas. Usando um sistema de injeção em fluxo, valores de eficiência de extração entre 94,8 e 102% foram obtidos, e uma frequência analítica de 36 injeções por hora foi alcançada. O método foi aplicado com sucesso para a determinação de procaína em formulações farmacêuticas, cuja análise não envolve tratamento prévio da amostra. Neste caso, a comparação deste método com um método oficial mostrou que houve concordância entre os resultados obtidos e os valores declarados.

Em outro trabalho Bergamini e Zanoni [78] desenvolveram um método eletroanalítico para determinação de aurotiomalato em amostras de urina humana usando voltametria de varredura linear e detecção em eletrodos de carbono impresso. Os autores mostram que, após acúmulo do analito em -1,50 V vs. (carbono impresso), o método pode ser aplicado com sucesso na determinação do aurotiomalato na matriz, com um limite de detecção da ordem de $6,50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Bergamini e colaboradores [79] também mostraram que, o corante reativo “Reactivo Azul” (RB4), que possui antraquinona como grupo cromóforo e um grupo diclorotriazina como grupo reativo, pode ser determinado em níveis de micromol aplicando a técnica de voltametria de pulso diferencial com detecção em eletrodos de carbono impresso.

Monitorando-se o pico de redução em -0,70 V vs. (carbono impresso) em meio eletrolítico contendo solução de KCl com pH ajustado para 1,0 com HCl, o limite de detecção obtido foi de $7,10 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

A literatura disponibiliza ainda outros trabalhos que reportam o desenvolvimento de métodos de análise quantitativa utilizando este tipo de material eletródico, nos quais mostram que o uso deste dispositivo traz grandes progressos em aplicações eletroanalítica [80-82]. Ademais, várias vantagens são observadas com o uso desse tipo de eletrodo, as quais se devem pelo baixo custo, portabilidade, simplicidade de operação e, principalmente, pelo arranjo instrumental que contém os eletrodos de trabalho, auxiliar e de referência impressos diretamente sobre uma chapa polimérica, permitindo fácil adaptação a uma variedade de sistemas eletroanalíticos.

Todavia, os trabalhos até aqui apresentados, mostram que estes materiais eletródicos são aplicáveis apenas em analitos solúveis em meio aquoso, pois sua utilização em meio orgânico e/ou misto com alta proporção de solventes orgânicos pode atacar e afetar a composição do material impresso. Assim, sua aplicação para detecção de corantes marcadores de combustíveis fica comprometida em função da fraca solubilidade destes em meio aquoso e da alta hidrofobicidade dessas matrizes. Além disso, análises envolvendo técnicas eletroanalíticas em meios altamente resistivos (devido à baixa constante dielétrica), como os solventes orgânicos, principalmente os apolares, têm se constituído um grande obstáculo experimental a ser contornado. No caso dos eletrodos impressos, este caso é ainda mais crítico, devido à baixa resistência desses materiais a solventes orgânicos, tais como acetonitrila, dimetilformamida, acetona etc. Outra desvantagem desses materiais eletródicos (carbono impresso) é a maior rugosidade, os quais oferecem maiores superfícies de contato com o analito e/ou produto eletrogerado, que tem se tornado problemas de inativação rápida do eletrodo pela forte adsorção. De qualquer forma, as informações contidas nos trabalhos prévios envolvendo determinação de analitos orgânicos em amostras aquosas usando estes eletrodos servem de suporte para estudos futuros envolvendo corantes de natureza apolar, cuja produção científica neste contexto é inexistente.

1.3.4.3. Uso de Surfactantes em Análises Eletroanalíticas

A literatura dispõe de uma variedade de trabalhos que envolvem estudos eletroquímicos da interação que ocorre entre surfactante e a espécie eletroativa, bem como as interações entre

eletrodo/surfactante [83-95]. Dentre esses trabalhos, alguns também reportam a importância do uso de surfactantes para minimizar, ou até suprimir, a inativação da superfície eletródica ocasionada pela adsorção na superfície de produtos eletrogerados ou, até mesmo, do próprio reagente [83-87]. Este problema é ainda mais grave quando espécies interferentes presentes em matrizes mais complexas também adsorvem na superfície eletródica, inativando-a totalmente ou parcialmente. Com isso, entre os métodos utilizados para suprimir a perda da atividade de eletrodos sólidos pela adsorção destacam-se o uso de agentes tensoativos [83-87].

O uso de um agente tensoativo tem se tornado uma das estratégias mais simples adotadas e reportadas em diversos trabalhos na literatura, cujo efeito pode ser facilmente conseguido pelo uso de surfactantes catiônicos, aniônicos e/ou neutros [83-90]. O uso de surfactante para este fim tem se tornado bastante viável, oferecendo diversas vantagens, pois manipulações externas são menos requeridas, e, quando são, exigem apenas adições na célula eletroquímica e termostatização da mesma, quando necessário [83-87]. Sob o ponto de vista analítico, uma das maiores e mais importantes propriedades inerentes ao uso dos surfactantes é sua capacidade de solubilizar analitos com diferenças características e propriedades físico-químicas. Estes surfactantes podem interagir eletrostaticamente, hidrofobicamente ou pela combinação desses dois efeitos e formar estruturas organizadas, conferindo grande melhora na solubilidade [92].

Adicionalmente, o uso de substâncias neutras e/ou iônicas com propriedades tensoativas comumente empregadas em estudos eletroquímicos [83-95] tem promovido alterações significativamente favoráveis no processo eletródico e no perfil voltamétrico dos picos. Essas alterações são geralmente explicadas por meio da alteração da formação da dupla camada elétrica e/ou da formação de par-iônico entre analito/surfactante [91]. Assim, estudos eletroquímicos da interação que ocorre entre surfactante e a espécie eletroativa, espécies interferentes, bem como, as interações entre eletrodo/surfactante são bem documentados [83-91]. Nesse contexto, os resultados revelam que a adsorção de surfactantes na superfície do eletrodo altera significativamente o comportamento voltamétrico e eletroquímico da espécie eletroativa em estudo, cujas mudanças nas características do eletrodo em alguns casos têm sido enumeradas da seguinte forma: i) mudança na estrutura da dupla camada elétrica; ii) mudança na velocidade de transferência eletrônica através de ambos os casos, inativação ou aceleração do processo de transferência de carga; iii) mudança no valor do $E_{1/2}$ da espécie eletroativa pela presença de surfactante. O uso de surfactante em estudos eletroquímicos também tem possibilitado melhora na estabilidade do material eletródico e, ao mesmo tempo, um aumento da velocidade de transferência de carga [90].

1.4. Objetivos

O objetivo do presente trabalho foi investigar novos métodos analíticos para determinação dos corantes QNZ, SB-14 e SR-24 (Tabela 2), usados em sistema de marcação de derivados do petróleo, empregando técnicas eletroanalíticas e cromatografia líquida com detecção eletroquímica.

Para atender estes objetivos, estudou-se a redução e a oxidação eletroquímica dos corantes selecionados, portadores dos grupos cromóforos azo e antraquinona, usando técnicas voltamétricas sobre eletrodos convencionais de carbono vítreo. Após caracterização voltamétrica desses corantes, foi desenvolvidos métodos eletroanalíticos, monitorando-se a redução/oxidação destes corantes em meio aquoso/orgânico, em condições experimentais compatíveis com aquelas requeridas na determinação de corantes em amostras de combustíveis.

Considerando que os eletrodos impressos oferecem à possibilidade de instrumentações mais simples e facilmente adaptáveis as medidas de campo e processos industriais, o presente trabalho também teve por objetivo desenvolver métodos eletroanalíticos alternativos, baseados no uso de eletrodos de carbono impresso para detecção e quantificação de corantes em amostras de combustíveis.

Finalmente, após caracterização voltamétrica destes corantes, foi desenvolvidas metodologias analíticas empregando-se a técnica de CLAE com detecção eletroquímica (via oxidação, utilizando eletrodo de carbono vítreo) para monitorar estes corantes em amostras de combustíveis e comparar sua eficiência com a técnica de CLAE com detecção UV-Vis.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Reagentes, Soluções, Solventes e Amostras

2.1.1. Reagentes

Os padrões dos corantes (grau analítico) utilizados nos experimentos foram: Solvente Vermelho 24 (SR-24), Solvente Laranja 7 (SO-7), Quinizarina (QNZ) obtidos da Sigma-Aldrich, com grau de pureza de 80,0; 90,0 e 96,0%, respectivamente, e Solvente Azul 14 (SB-14), Solvente Azul 35 (SB-35) obtidos da Acros organics, com grau de pureza de 98,0 e 97,0%, respectivamente. Todos estes corantes foram usados sem purificação prévia.

Utilizou-se os reagentes de grau analítico cloreto de lítio (Mallinckrodt), acetato de amônio (Merck), ácido fórmico (Merck), ácido trifluoroacético (Merck) e ácido acético (Merck) como solução de eletrólito suporte.

Os surfactantes dioctil sulfosuccinato de sódio e dodecil sulfato de sódio, adquiridos da Sigma-Aldrich, Chemical Company, e brometo de cetiltrimetilamônio e Triton X-100, obtidos da Merck, foram utilizados nas medidas eletroquímicas.

Os reagentes ácido acético, ácido bórico, ácido ortofosfórico e hidróxido de sódio (Merck), ácido clorídrico (QHEMIS), todos de grau de pureza analítico, foram utilizados em soluções de eletrólito de suporte.

2.1.2. Soluções e Solventes

2.1.2.1. Experimentos Voltamétricos

Soluções estoque de QNZ e SB-14 ($1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹) foram preparadas a partir da dissolução (25 mL) de quantidades apropriadas (6,00 mg QNZ e 9,50 mg SB-14) em acetonitrila (grau HPLC, J. T. Baker) ou em dimetilformamida (grau HPLC, Mallinckrodt), estocadas e mantidas sob refrigeração até a sua utilização. Soluções diluídas de QNZ e SB-14 na concentração desejada (entre $1,00 \times 10^{-4}$ e $5,00 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹) foram preparadas

imediatamente antes das análises por diluição de alíquotas da solução estoque ou por adição de alíquotas da solução estoque diretamente na célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte. As soluções estoque apresentaram estabilidade durante todo tempo de estocagem (entre 2 e 4 meses de acompanhamento).

Preparou-se solução estoque na concentração de $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante dioctil sulfosuccinato de sódio (DSS) por dissolução de quantidade apropriada do soluto em acetona e água na proporção de 1:9 (v/v), acetona:água. Preparou-se o surfactante brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) e dodecil sulfato de sódio (SDS), na concentração de $0,03 \text{ mol L}^{-1}$, por dissolução de quantidade apropriada do soluto em água purificada e a solução estocada sob refrigeração.

As soluções tampão usadas como eletrólito suporte foram preparadas da seguinte forma: Tampão Britton-Robinson (B-R): mistura de ácido acético $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (Merck), ácido bórico $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (Merck) e ácido ortofosfórico $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (Merck). O ajuste do pH desejado foi com hidróxido de sódio $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ (Merck) ou ácido clorídrico $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ (QHEMIS).

O pH da solução tampão Britton-Robinson foi ajustado para o valor desejado e, em seguida, misturado com o solvente orgânico acetonitrila (ACN) ou dimetilformamida (DMF) na proporção requerida (1:1 e 7:3, v/v). A adição do solvente orgânico ACN ou DMF promoveu leve alteração no pH do meio e apresentou um caráter levemente exotérmico; neste caso, a mistura foi deixada em repouso para equilíbrio com a temperatura ambiente. Após aproximadamente uma hora, o pH da mistura foi novamente testado e, nessa condição, foi chamado de pH aparente (pH*).

2.1.2.2. Experimentos Cromatográficos

Soluções estoques do padrão dos corantes, QNZ, SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 foram preparadas na concentração de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a partir da dissolução (25 mL) de quantidade apropriada (6,00; 9,50; 9,00; 7,00 e 9,50 mg) do soluto em acetonitrila (grau HPLC, J. T. Baker), estocadas em frascos de vidro e mantidas sob refrigeração até a sua utilização. Soluções diluídas nas concentrações desejadas foram preparadas imediatamente antes das análises por diluição em acetonitrila de alíquotas da solução estoque em balão volumétrico de 5 mL.

As soluções de cloreto de lítio (Mallinckrodt), acetato de amônio (Merck), ácido fórmico (Merck), ácido trifluoroacético (Merck) e ácido acético (Merck), grau de pureza

analítica, foram preparadas em água purificada, em um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA), respectivamente, nas concentrações de $5,00 \times 10^{-4}$; $1,00 \times 10^{-3}$; $2,00 \times 10^{-3}$ e $5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, as quais foram utilizadas como eletrólito suporte.

Acetonitrila, metanol (grau-HPLC, Merck) e água ultra-pura (Simplicity System, Millipore, EUA) foram usados como solventes de fase móvel para separação dos corantes em análises, com o equipamento CLAE-ED (BISCHOFF Company, Alemanha).

2.1.2.3. Amostras de Combustíveis

As amostras de combustíveis, querosene (Jet A1), gasolina, óleo diesel e etanol, certificadas da isenção dos corantes estudados, foram coletadas na cidade de Araraquara/SP-Brasil e deixadas sob refrigeração. Soluções dos padrões dos corantes de interesse foram intencionalmente adicionadas nas amostras para dar a concentração desejada.

Amostra de gasolina (Benzin 95) isenta dos corantes analisados foi coletada na cidade de Regensburg - Alemanha, e concentrações conhecidas dos corantes foram intencionalmente adicionadas.

2.2. Equipamentos

2.2.1. Experimentos Voltamétricos

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato AUTOLAB modelo PGSTAT 30 (Eco Chemie), interfaceado a um microcomputador e gerenciado pelo software GPES 4.9 (Eco Chemie) para aquisição dos dados. Foi utilizado um sistema convencional de três eletrodos composto por um eletrodo de disco de carbono vítreo (CV) (diâmetro de 2,00 mm) como eletrodo de trabalho, um eletrodo de Ag/AgCl_{sat.} (inserido em um capilar de Luggin contendo KCl $3,00 \text{ mol L}^{-1}$), usado como eletrodo de referência, e um fio de platina usado como eletrodo auxiliar. Para este sistema, uma célula convencional com capacidade máxima de 10,0 mL foi utilizada para as medidas eletroquímicas.

Para as medidas empregando os eletrodos impressos, foram desenvolvidas duas células com capacidade máxima de 10,0 mL, com tampa especialmente adaptada para inserção dos

dois diferentes tipos de eletrodos impressos utilizados. O sistema composto pelos eletrodos de carbono impresso utilizados foram àqueles representados na Figura 2. Nos estudos eletroquímicos utilizando o primeiro conjunto de eletrodos (Figura 2I), um eletrodo de Ag/AgCl_{sat.} (inserido em um capilar de Luggin contendo KCl 3,00 mol L⁻¹) também foi usado como eletrodo de referência a fim de minimizar problemas de adsorção e contaminação da área superficial correspondente ao pseudo-referência.

O primeiro conjunto de eletrodos impressos testados foram adquiridos da Oxley Developments & Company (Inglaterra), como apresentado na Figura 2I (Introdução). O arranjo consiste em eletrodos de trabalho (2,00 mm de diâmetro), referência e auxiliar impressos em tinta de material condutor, a base de carbono, sobre um suporte cerâmico. Para conexão destes eletrodos foi desenvolvido um “plug”, o qual é encaixado na extremidade dos contatos elétricos e conectado na saída do potenciostato/galvanostato.

O segundo conjunto de eletrodos impressos testados baseia-se no modelo AC1.W1.RS, da BVT-Technologies (República Tcheca), formados por eletrodo de trabalho (tinta de Carbono de 1,00 mm de diâmetro), auxiliar e de referência, impressos em tinta de material condutor a base de carbono, cujo esquema é mostrado na Figura 2II. Esse eletrodo foi conectado ao potenciostato/galvanostato, utilizando-se um “plug” comercial feito pela BVT-Technologies, o qual é encaixado na extremidade dos contatos elétricos.

Para as medidas realizadas com mistura acetonitrila / tampão Britton-Robinson, como eletrólito suporte, um frasco lavador foi utilizado para permitir a saturação do nitrogênio com acetonitrila, minimizando perdas por arraste durante borbulhamento.

Todas as medidas de pH foram realizadas em um eletrodo de vidro combinado (Corning) conectado a um pH-metro digital (Corning, modelo pH/ion analyzer 455). A água deionizada foi obtida em um sistema de Milli-Q (modelo Simplicity 185, Millipore).

Foram utilizados um ultra-som UNIQUE, modelo ultrasonic cleaner, para a dissolução dos reagentes, e um agitador magnético Microquímica, modelo MQAMA 301, para a agitação da célula eletroquímica, quando necessário.

2.2.2. Experimentos Cromatográficos

Análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência com sistema binário de solvente (BISCHOFF Company, bomba modelo Compact pump) acoplado aos detectores em série: UV-Vis (BISCHOFF Company, modelo Lambda

1010) e eletroquímico (BISCHOFF Company, modelo BioQuant PAM 2-Cu). Um auto-amostrador (ALCOTT, modelo AL718) foi usado para injeção dos analitos e amostras. A temperatura da coluna foi mantida constante em 30 °C, usando um sistema térmico de aquecimento (BISCHOFF Company, modelo Variotherm). Os dispositivos foram interfaceados pelo sistema modelo LC-CaDI 22-14 e controlados pelo software MCDAcq32.

A separação cromatográfica dos corantes analisados, em ambos os casos, foi realizada, testando-se diferentes colunas analíticas de fase reversa compostas pelas seguintes fases estacionárias: RP-C8 (100 × 4,00 mm i.d., 5,00 µm, KNAUER Company, Alemanha), ENVIRO PHE (125 × 4,60 mm i.d., 3,00 µm, BISCHOFF Company, Alemanha) e PRONTOSIL 120-5-C18-H (120 × 4,00 mm i.d., 5,00 µm, BISCHOFF Company, Alemanha). Para análises das amostras de gasolina, as colunas foram protegidas, utilizando-se um sistema de pré-coluna (SecurityGuard Holder, Phenomenex®, C-18, 4,00 × 3,00 mm). Antes das injeções (25 µL), todos os padrões e amostras foram filtrados em membrana filtrante 0,45 µm PTFE (ROTH, Rotilabe®, Alemanha).

2.2.3. Experimentos Espectrofotométricos UV-Vis

Um espectrofotômetro Hewlett Packard (modelo 8453) equipado com célula de quartzo com 1,0 cm de caminho ótico e operando em um intervalo de comprimento de onda de 220 a 700 nm foi usado para as medidas espectrofotométricas.

2.3. Procedimento Experimental

2.3.1. Experimentos Voltamétricos

2.3.1.1. Estudo das Condições Experimentais e Obtenção da Curva Analítica

Todos os estudos com eletrodo de carbono vítreo (ECV) foram realizados transferindo-se 10,0 mL da solução do eletrólito suporte para a célula eletroquímica e submetendo-a a desaeração por 15,0 minutos, com nitrogênio. Em seguida, voltamogramas do branco foram registrados mediante varredura de potencial em um intervalo pré-estabelecido. Depois de

registrado o voltamograma do branco, uma alíquota da solução estoque do analito foi adicionada na célula, registrando os voltamogramas, de acordo com o mesmo procedimento acima citado. Antes de cada medida experimental, o eletrodo de carbono vítreo foi polido com solução aquosa de alumina 1,00 μm e, em seguida, enxaguado exaustivamente com água deionizada e acetona.

Para os eletrodos de carbono impressos (ECIs), procedeu-se da seguinte forma: 5,00 ou 10,0 mL da solução do eletrólito suporte foram pipetados e introduzidos na célula eletroquímica especialmente adaptada para inserção dos ECIs; a solução foi desaerada por 15,0 minutos com nitrogênio, para remoção de oxigênio molecular; posteriormente, uma alíquota da solução do surfactante foi adicionada à célula e deixada sob desaeração por aproximadamente 5,00 minutos; a agitação foi interrompida e, após 15,0 segundos de repouso (tempo de equilíbrio), registrou-se voltamogramas do branco mediante varredura de potencial em um intervalo de potencial pré-estabelecido. Depois de registrado voltamogramas do branco, alíquotas da solução estoque do corante na célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte, e o surfactante foram adicionadas, e os voltamogramas dos analitos foram registrados. Embora, os ECIs sejam descritos como dispositivos para uso descartáveis, foi possível utilizar um mesmo eletrodo em mais de 10 repetições, desde que antes de cada medida experimental o eletrodo fosse deixado em repouso por aproximadamente 35,0 segundos, tempo suficiente para regeneração da superfície.

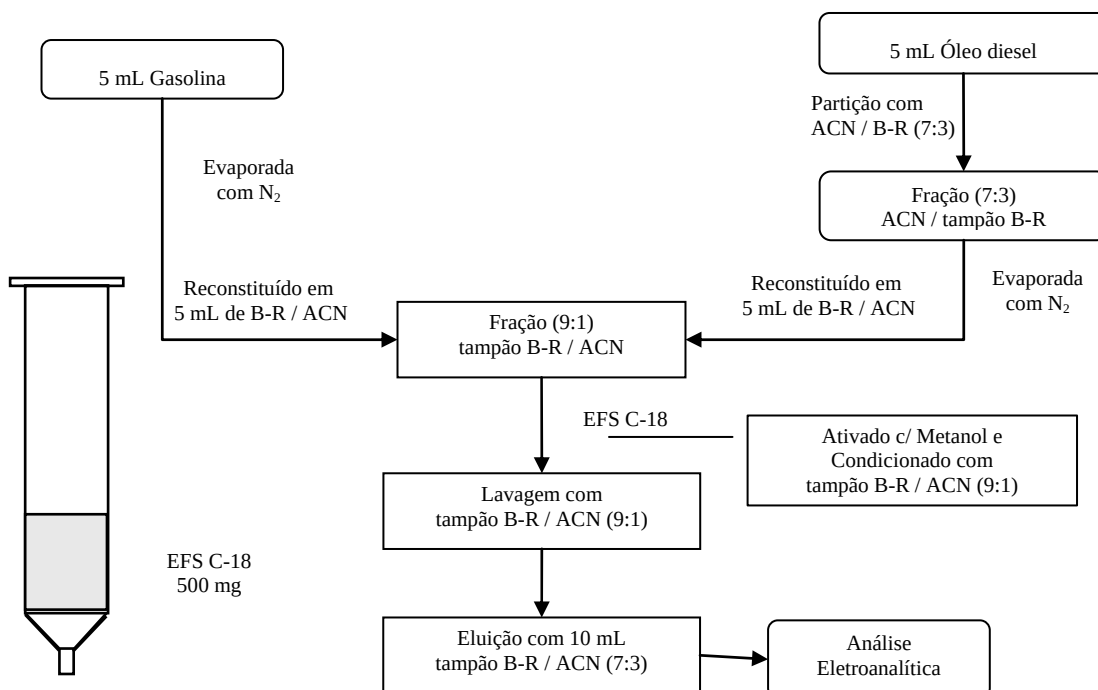
2.3.1.2. Determinação de QNZ em Amostra de Gasolina Usando Eletrodo de Carbono Vítreo

Alíquotas de 5,00 mL de gasolina contendo 5,00 mg L^{-1} de QNZ foram inicialmente evaporadas até a secura sob fluxo de ar comprimido. Depois de seco, o resíduo foi reconstituído em 5,00 mL da mistura tampão B-R (pH 7,00) e ACN (9:1, v/v) nomeada (B-R:ACN). A solução resultante (B-R:ACN, 9:1, v/v) foi percolada sob cartucho de extração em fase sólida (EFS) C-18 (Supelco, USA), previamente condicionado com 5,00 mL de metanol (J. T. Baker), seguido por 5,00 mL da mistura B-R:ACN (9:1, v/v). O analito retido no cartucho foi lavado com 15,0 mL da mistura B-R:ACN (9:1, v/v) para remover os resíduos mais polares, e a seguir eluído em balão volumétrico de 10,0 mL com a mistura B-R:ACN (7:3, v/v) sob leve pressão. Uma seringa foi adaptada na parte superior do cartucho EFS para forçar a passagem do líquido através do sorvente sob leve pressão, cuja vazão não ultrapassou 2,00 mL min^{-1} . A solução resultante foi, em seguida, submetida à análise eletroanalítica e a

quantificação da QNZ na amostra de gasolina, realizada pelo método da adição de padrão. O esquema 1 apresenta de forma resumida este procedimento.

2.3.1.3. Determinação de QNZ em Amostra de Óleo Diesel Usando Eletrodo de Carbono Vítreo

Para a extração da QNZ na amostra de óleo diesel, uma alíquota de 5,00 mL contendo 5,00 mg L⁻¹ do corante foi particionada com 10,0 mL da mistura ACN / tampão B-R (7:3, v/v) e agitada por aproximadamente 30,0 segundos. Coletou-se a fase (ACN:B-R, 7:3, v/v) em um béquer, submetendo-o ao fluxo de ar comprimido para evaporação total da ACN. O resíduo final foi reconstituído em, aproximadamente, 5,00 mL da mistura (B-R:ACN, 9:1, v/v), e a solução resultante foi transferida para o cartucho de EFS C-18, previamente condicionado com 5,00 mL de metanol (grau HPLC, J. T. Baker), seguido por 5,00 mL da mistura B-R:ACN (9:1, v/v). Em seguida, as etapas de lavagem e eluição do analito foram realizadas como descrita anteriormente para a amostra de gasolina (seção 2.3.1.2), cujo procedimento está representado de forma resumida no esquema 1.



Esquema 1 - Procedimento utilizado para extração de QNZ em amostras de gasolina e óleo diesel como apresentado nas seções (2.3.1.2 e 2.3.1.3).

2.3.1.4. Determinação de QNZ em Amostra de Diesel e Querosene "JET A1" Usando Eletrodos de Carbono Impressos

Para determinação de QNZ em amostras comerciais de diesel e querosene "Jet A1" contendo $2,50 \text{ mg L}^{-1}$ do padrão, alíquotas de 1,00 mL foram percoladas lentamente sob pressão, em cartucho de extração em fase sólida (EFS) contendo 0,60 g de Sílica Gel, previamente condicionado com 5,00 mL de hexano. Após percolação da amostra, o cartucho foi lavado com 10,0 mL de hexano, e o corante, eluído em balão volumétrico de 10,0 mL com a mistura tampão B-R (pH desejado) / DMF (7:3, v/v). Na solução resultante foi adicionado o surfactante CTAB e submetida à análise eletroanalítica. A quantificação de QNZ na amostra foi realizada pelo método da adição do padrão.

Para amostra contendo $1,50 \text{ mg L}^{-1}$ do padrão de QNZ, alíquotas de 2,00 mL foram transferidas para o cartucho de EFS contendo 0,60 g de Sílica Gel, previamente condicionado, e as etapas seguintes foram conduzidas como descrita para o pré-tratamento acima citado.

2.3.1.5. Determinação de SB-14 em Amostra de Álcool Combustível Usando Eletrodo de Carbono Vítreo

Amostras de álcool combustível foram coletadas, e $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ do corante foi intencionalmente adicionado. Alíquotas com 1,00 mL de álcool combustível contendo o corante SB-14 foram adicionadas em balão volumétrico, e o volume ajustado para 10,0 mL com a solução eletrolítica (tampão B-R pH desejado + DMF, 1:1 v/v). Em seguida, a mistura resultante foi diretamente submetida à análise eletroanalítica, utilizando-se o método da adição de padrão. Neste caso, nenhuma etapa prévia de purificação e/ou extração foi necessária.

2.3.1.6. Determinação de SB-14 em Amostra de Querosene "JET A1" Usando Eletrodo de Carbono Vítreo

Os procedimentos de extrações envolvendo Sílica Gel foram conduzidos, pesando-se quantidades desejadas do material sorvente Sílica Gel 60 (Bakerbond, J.T. BAKER, USA, tamanho de partículas 0,06-0,20 mm, 70,0-230 mesh ASTM), adicionando-os em cartuchos convencionais de extrações, tipo seringa, e, em seguida, empacotando-os firmemente com bastão de vidro, cujo diâmetro foi semelhante ao dos cartuchos de extrações.

Alíquotas de 3,00 e 5,00 mL de amostra de querosene de aviação "JET A1" contendo respectivamente, 5,00 e 2,00 mg L⁻¹ do corante SB-14 foram passadas lentamente em cartucho de extração em fase sólida (EFS) com 1,00 g de Sílica Gel, previamente condicionado através da passagem de 5,00 mL de hexano (grau P.A., QHEMIS). Novamente, uma seringa foi adaptada na parte superior do cartucho para forçar a passagem do líquido através do sorvente sob leve pressão (vazão de, aproximadamente, 2,00 mL min⁻¹). A seguir, o cartucho contendo o corante retido foi lavado com, aproximadamente, 10,0 mL de hexano, promovendo a remoção dos hidrocarbonetos e outras espécies interferentes retidas juntamente com o analito. Logo após, o analito retido foi eluído com, aproximadamente, 10,0 mL da mistura tampão B-R (pH desejado) / DMF (1:1, v/v). A solução resultante foi submetida à análise eletroanalítica e à quantificação do corante SB-14 na amostra, realizada pelo método da adição de padrão.

2.3.1.7. Determinação de SB-14 em Amostra de Álcool Combustível Usando Eletrodos de Carbono Impressos

Amostras de álcool combustível adquiridas comercialmente, isentas do corante de interesse, foram analisadas, após adição de 2,00 mg L⁻¹ do corante SB-14. Uma alíquota contendo 0,35 mL dessa amostra foi adicionada em balão volumétrico de 5 mL, e o volume final, ajustado com a solução do eletrólito de suporte (tampão B-R pH desejado + DMF, 7:3 v/v), na presença de concentração desejada do surfactante DSS. Em seguida, a mistura resultante foi diretamente submetida à análise eletroanalítica pelo método da adição de padrão, e os resultados de eficiência de extração foram estimados.

2.3.1.8. Determinação de SB-14 em Amostra de Querosene "JET A1" Usando Eletrodos de Carbono Impressos

Alíquota com 0,50 mL de amostras de querosene contendo 5,00 mg L⁻¹ do corante SB-14 foi transferida para um cartucho de extração em fase sólida (EFS) empacotado com 0,50 g de sílica, previamente condicionado com 5,00 mL de hexano (grau HPLC, J. T. Baker), e, em seguida, foi lavado com 10,0 mL de hexano para remover os interferentes menos polares e eluído em balão volumétrico de 10,0 mL com a mistura tampão B-R (pH desejado) / DMF (7:3, v/v). Na solução resultante foi adicionada concentração desejada do surfactante DSS e submetida à análise eletroanalítica pelo método da adição de padrão.

2.3.2. Experimentos Cromatográficos

2.3.2.1. Estudo das Condições Experimentais e Obtenção da Curva Analítica

Para as análises realizadas por CLAE-UV-Vis (BISCHOFF Company, Alemanha), utilizou-se um sistema binário composto pelos solventes ACN e água com eluição em modo gradiente. A melhor condição de trabalho adotada foi: eluição em modo isocrático entre 0 e 3,50 min com (85:15, v/v) ACN / H₂O, um rápido aumento para 100% de ACN entre 3,50 e 4,50 min permanecendo até 9,00 min. A condição inicial foi restabelecida entre 9,00 e 10,0 min. vazão de 1,00 mL min⁻¹ foi usado em todas as análises. O sinal cromatográfico foi monitorado em comprimento de onda ora fixo em 254 nm ora naquele mais seletivo fixado em 490 nm para SO-7 e SR-24 e 640 nm para o SB-14, cujas análises foram realizadas iniciando-se em 640 nm entre 0 e 3,50 min e 490 nm entre 3,50 e 10,0 min.

Nas análises realizadas por CLAE com detecção eletroquímica (BISCHOFF Company, Alemanha), primeiramente, o eletrodo de carbono vítreo (célula “wall-jet”) foi polido em pasta de diamante, enxaguado exaustivamente com acetona e água ultra-pura. Em seguida, a coluna cromatográfica foi equilibrada com passagem de ACN / H₂O (80:20, v/v), por, aproximadamente, 4,00 horas, com vazão de 0,20 mL min⁻¹. Posteriormente, o sistema cromatográfico foi estabilizado pela passagem da fase móvel na proporção e vazão requerida para as análises. Após a estabilização, as soluções e amostras contendo a mistura dos corantes foram filtradas em membranas filtrante 0,45 µm antes de transferí-las para os vials.

2.3.2.2. Determinação dos Corantes SB-14, SO-7 e SR-24 em Amostra de Gasolina (Benzin 95) por CLAE-UV-Vis

Os corantes SB-14 e SB-35 possuem certificado de pureza de 97,0 e 98,0%, respectivamente, e são fracamente polares. Os corantes SR-24 e SO-7 possuem certificado de pureza de 80,0 e 90,0%, respectivamente, e são ainda menos polares. Ao mesmo tempo, os corantes SR-24 e SO-7 são mais hidrofóbicos em relação os demais, como mostrado na Tabela 4, conseqüentemente, a retenção em materiais sorventes polares é dificultada. Por outro lado, matrizes como combustíveis não permitem o uso direto de materiais apolares como fase estacionária em extração em fase sólida. De acordo com isso, diferentes

procedimentos de extração e pré-tratamento de amostras foram testados, os quais, os mais eficientes estão separados da seguinte maneira:

Procedimento I (amostra A): alíquotas de 2,00 mL de amostra de gasolina (Benzin 95) contendo 5,00 mg L⁻¹ dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 foram diluídas para 5,00 mL com hexano, transferidas para béqueres (20,0 mL) e deixadas em capela, para evaporação até secura, sob atmosfera de nitrogênio. Depois de seco, o resíduo foi reconstituído em, aproximadamente, 5,00 mL da mistura H₂O / ACN (3:2, v/v) e, em seguida, transferido para cartuchos de extração em fase sólida C-18 (Discovery, DSC-18LT, 1,00 g 6,00 mL tube, Supelco, USA) previamente condicionado com 5,00 mL de metanol (grau-HPLC, Merck), seguido da mistura H₂O / ACN (3:2, v/v). A amostra foi lentamente percolada sob o cartucho (C-18) condicionado e, em seguida, lavada com, aproximadamente, 15,0 mL da mistura H₂O / ACN (3:2, v/v), para remover resíduos polares e/ou substâncias menos retidas potencialmente interferentes. Os analitos retidos foram eluídos sob gravidade para um balão volumétrico de 5,00 mL com ACN e submetidos à análise cromatográfica depois de filtrados em membrana filtrante PTFE 0,45 µm (ROTH, Rotilabe®, Alemanha). A quantificação dos corantes na amostra foi realizada pelo método do padrão externo, usando dados da curva de calibração analítica.

Procedimento II: alíquotas de 3,00 mL de amostra de gasolina (Benzin 95) contendo 5,00 mg L⁻¹ (amostra B) e 5,00 mL contendo 2,00 mg L⁻¹ (amostra C) dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 foram, respectivamente, transferidas para béqueres (20,0 mL) e deixadas em capela para evaporação até secura, sob atmosfera de nitrogênio. Depois de seco, o resíduo foi reconstituído em balão volumétrico de 5,00 mL com ACN e filtrado em membrana filtrante PTFE 0,45 µm. A solução resultante foi submetida à análise cromatográfica, e a quantificação dos corantes na amostra foi realizada pelo método do padrão externo, tal como citado no procedimento I. O esquema 2 apresenta de forma resumida os procedimentos I e II.

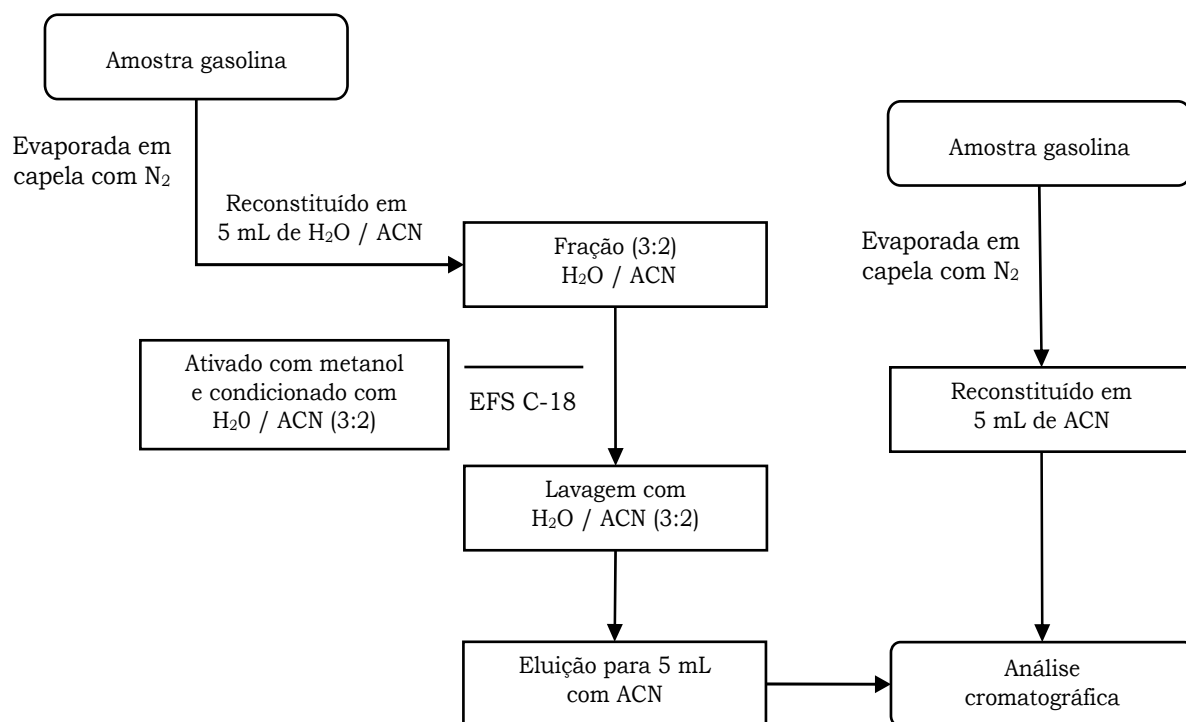
Procedimento III (amostra D): alíquotas contendo 2,00 mL de amostra de gasolina (Benzin 95) com 5,00 mg L⁻¹ dos corantes foram precisamente transferidas para cartuchos de extração em fase sólida de Sílica Gel (Discovery, DSC-Si, 1,00 g 6,00 mL tube, Supelco, USA) e percoladas através do cartucho sob leve pressão a partir do uso de uma seringa adaptada ao topo. Em seguida, o material retido foi lavado com, aproximadamente, 5,00 mL de hexano, para remover resquícios de hidrocarbonetos e substâncias menos polares retidas no material sorvente. Os corantes retidos foram eluídos para balão volumétrico de 5,00 mL com ACN, filtrados em membrana filtrante PTFE 0,45 µm e submetidos à análise cromatográfica, tal como anteriormente citado nos procedimentos I e II.

2.3.2.3. Determinação dos Corantes SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 em Amostras de Gasolina (Benzin 95) por CLAE-DE

Para a quantificação dos corantes, empregando-se a técnica de CLAE com detecção eletroquímica, equipamento (BISCHOFF Company), em amostras de gasolina (Benzin 95), dois procedimentos distintos foram utilizados. Inicialmente, nas amostras coletadas, foram intencionalmente adicionados os padrões dos corantes SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 nas concentrações de 0,50 e 1,50 mg L⁻¹ e, em seguida, submetidas ao processo de extração, tal como mostrado nos procedimentos abaixo.

Procedimento I: (amostra GA) alíquotas de 2,00 mL de amostra de gasolina (Benzin 95) contendo 1,50 mg L⁻¹ e (amostra GB) 5 mL contendo 0,50 mg L⁻¹ dos corantes foram precisamente transferidas para béqueres (20 mL) e deixadas para evaporação até secura em capela, sob atmosfera de nitrogênio. Após secura, o resíduo foi reconstituído em balão volumétrico de 5,00 mL com ACN, filtrado em filtros PTFE 0,45 µm e submetido à análise cromatográfica, utilizando-se a melhor condição otimizada. A eficiência de extração do analito foi avaliada, usando-se dados da curva de calibração analítica obtida pelo método do padrão externo.

Procedimento II: (amostra GC) alíquotas de 5,00 mL de amostra de gasolina (Benzin 95) contendo 0,50 mg L⁻¹ e (amostra GD) 2,00 mL contendo 1,50 mg L⁻¹ dos corantes foram, respectivamente, transferidas para béqueres (20,0 mL) e deixadas em capela para evaporação até secura, sob atmosfera de nitrogênio. O resíduo final foi redissolvido em, aproximadamente, 10,0 mL da mistura H₂O / ACN (2:1, v/v) e transferido para cartuchos de extração em fase sólida C-18 (Discovery, DSC-18LT, 0,20 g 3,00 mL tube, Supelco, USA), previamente condicionado com 5,00 mL de metanol (grau-HPLC, Merck) e 5,00 mL da mistura H₂O / ACN (3:1, v/v). Na sequência, a amostra foi lavada com aproximadamente 15,0 mL da mistura H₂O / ACN (3:1, v/v), para remover resíduos polares e/ou substâncias menos retidas potencialmente interferentes. Os corantes retidos foram eluídos do cartucho sob gravidade para balão volumétrico de 5,00 mL com ACN, filtrados e submetidos à análise cromatográfica. Novamente, a quantificação dos corantes na amostra foi realizada pelo método do padrão externo. O esquema 2 apresenta um resumo dos procedimentos I e II.



Esquema 2 - Procedimento utilizado para extração dos corantes em amostras de gasolina, como apresentado nas seções (2.3.2.2 e 2.3.2.3).

2.3.3. Experimentos Espectrofotométricos

2.3.3.1. Obtenção da Curva Analítica e Determinação do Corante SB-14 em Amostra de Álcool

A curva analítica para o padrão do corante SB-14 foi obtida, usando-se alíquotas de 20,0 μL a 120 μL da solução estoque ($1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), previamente preparada pela dissolução do padrão em ACN. A absorbância foi medida, monitorando-se o máximo de sinal em comprimentos de onda de 590 e 640 nm, utilizando ACN como branco.

A quantificação do corante SB-14 em amostras de álcool comercial foi realizada pelo método do padrão externo, a partir da diluição de 4,00 mL da amostra contendo $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ do corante SB-14 para 10,0 mL com ACN. A mistura resultante foi submetida à análise espectrofotométrica, registrando-se espectros na região do visível, com máximo de absorbância medido em comprimentos de onda de 590 e 640 nm.

2.3.3.2. Determinação de SB-14 em Amostra de Querosene por Espectrofotometria UV-Vis

Alíquotas de 4,00 mL de querosene contendo 5,00 mg L⁻¹ do corante SB-14 foram transferidas para cartuchos de extração em fase sólida contendo 1,00 g de sílica, previamente condicionado com 5,00 mL de hexano, cuja vazão foi monitorada em 2,00 mL min⁻¹. Após essa etapa, a amostra foi passada lentamente pelo cartucho de EFS, sendo lavado em seguida, com aproximadamente 10,0 mL de hexano para remover os interferentes menos polares. O analito retido no cartucho foi eluído em balão volumétrico de 10,0 mL com ACN. A solução resultante foi submetida à análise espectrofotométrica, e a quantificação na amostra, realizada pelo método do padrão externo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foram realizados estudos de solubilidade dos corantes QNZ e SB-14 em diferentes solventes orgânicos, uma vez que estes corantes não são solúveis em meio aquoso. De acordo com os estudos realizados, verificou-se que estes corantes foram altamente solúveis em acetona, acetonitrila (ACN) e dimetilformamida (DMF). Em baixos níveis de concentrações (da ordem de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹), a QNZ se mantém solúvel em meio misto, tais como, tampão Britton-Robinson / DMF e tampão Britton-Robinson / ACN nas proporções de 7:3, 6:4 e 1:1 (v/v). Por outro lado, o corante SB-14 apresentou baixa solubilidade em misturas contendo quantidades de solventes orgânicos inferiores a 40,0%, e, desta forma, foi adotado um sistema eletrolítico com composição tampão Britton-Robinson / solvente orgânico da ordem de (1:1, v/v) para todas as análises eletroquímicas realizadas com este corante.

A seguir investigou-se o comportamento voltamétrico de ambos os corantes monitorando-se a oxidação e/ou redução, uma vez que as moléculas (Tabela 2) apresentam em suas estruturas grupos passíveis de redução e oxidação. Deste modo, serão apresentados os estudos eletroquímicos de oxidação e redução separadamente para cada corante, visando desenvolver métodos eletroanalíticos com diferentes aplicações e diferentes eletrodos e composição de eletrólitos.

3.1. Oxidação Eletroquímica da QNZ Sobre Eletrodo de Carbono Vítreo

Os estudos iniciais com a QNZ foram realizados adotando uma mistura de tampão Britton-Robinson (B-R) 0,10 mol L⁻¹ (pH 7,00) e ACN na proporção (7:3, v/v), cujo meio foi suficiente para manter uma completa solubilização deste composto. Assim, a oxidação eletroquímica sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (ECV) foi investigada, registrando-se voltamogramas cíclicos no intervalo de potencial de +0,25 V a +0,60 V vs. Ag/AgCl. A Figura 3 mostra os voltamogramas registrados para $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de QNZ (Figura 3B), os quais são caracterizados por, apenas, um pico de oxidação (I_{pa}) bastante

intenso em, aproximadamente, +0,47 V vs. Ag/AgCl atribuído à oxidação da hidroquinona terminal (R-OH) para produzir a espécie oxidada correspondente (R=O) [98, 102].

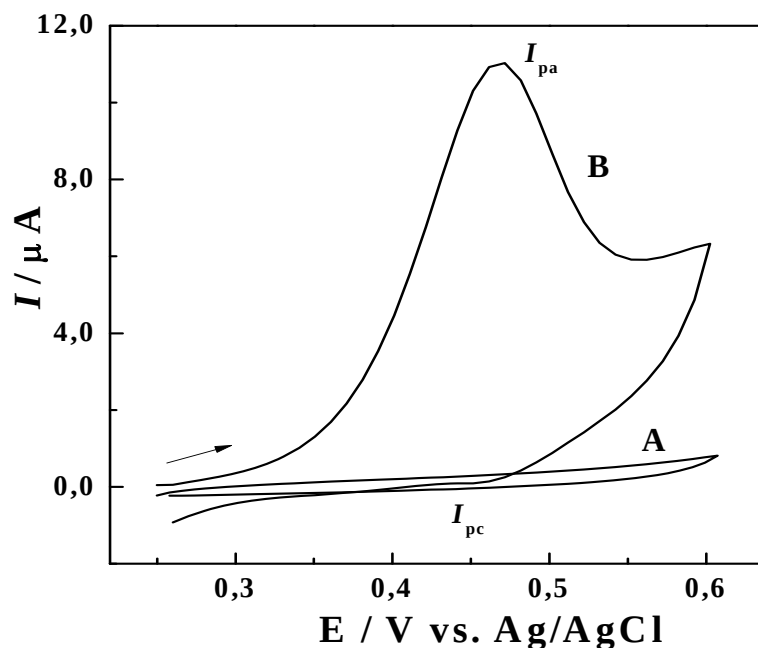


Figura 3 - Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN: (A) Eletrólito suporte e (B) presença de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ. $\nu = 200 \text{ mV s}^{-1}$.

O estudo da variação da velocidade de varredura de potencial (ν) para oxidação eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ em tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN permitiu obter mais informações sobre o comportamento voltamétrico envolvido. A Figura 4A mostra os voltamogramas cíclicos registrados no intervalo potencial de +0,25 a +0,60 V vs. Ag/AgCl, variando-se a ν de 10 a 300 mV s^{-1} . Conforme pode ser observado, os voltamogramas são caracterizados por um pico anódico (I_{pa}) bem definido em todo intervalo de ν estudado. Em baixos valores de ν , não é possível detectar a ocorrência do pico catódico na varredura reversa, porém, a partir de 200 mV s^{-1} , detecta-se a presença de um sinal voltamétrico de pouca intensidade que aumenta em altos valores de ν . Assim, de acordo com relatos apresentados na literatura [96], cujo comportamento pode ser indicativo de uma transferência eletrônica irreversível ou reação química subsequente a transferência eletroquímica que, consome o produto a ser reduzido na varredura reversa.

Os parâmetros eletroquímicos referentes à análise dos voltamogramas cíclicos obtidos nas diferentes ν estão reunidos na Tabela 5. Uma análise inicial dessa Tabela revela que ocorre um deslocamento do potencial de anódico (E_{pa}) para valores mais positivos à medida que se aumenta a ν . De acordo com a literatura, para um processo eletródico reversível, E_p não deveria variar com o aumento de ν , e, assim, estes resultados novamente indicam que o processo eletródico é marcadamente influenciado por reações químicas acopladas e/ou processos adsortivos [96]. Uma relação linear foi observada entre a corrente de pico anódica (I_{pa}) e a $\nu^{1/2}$, segundo a equação $I_{pa}(\mu A) = -1,15 + 0,60 \times \nu^{1/2} [(mV s^{-1})^{1/2}]$, com $r = 0,998$ (Figura 4B), cujo valores dos pontos no gráfico de I_{pa} vs. $\nu^{1/2}$ correspondem à média de duas medidas experimentais. O fato de a I_p variar linearmente com a raiz da ν e não passar pela origem dos pontos indica que o processo de oxidação eletroquímica da QNZ não é controlado apenas por difusão.

Conforme pode ser verificado na Tabela 5, também se observa uma dependência da função corrente ($I_{pa} / \nu^{1/2}$) com o aumento da velocidade de varredura, o que, de acordo com a literatura, é característico de uma transferência eletrônica influenciada por reações químicas acopladas e/ou processos adsortivos [97].

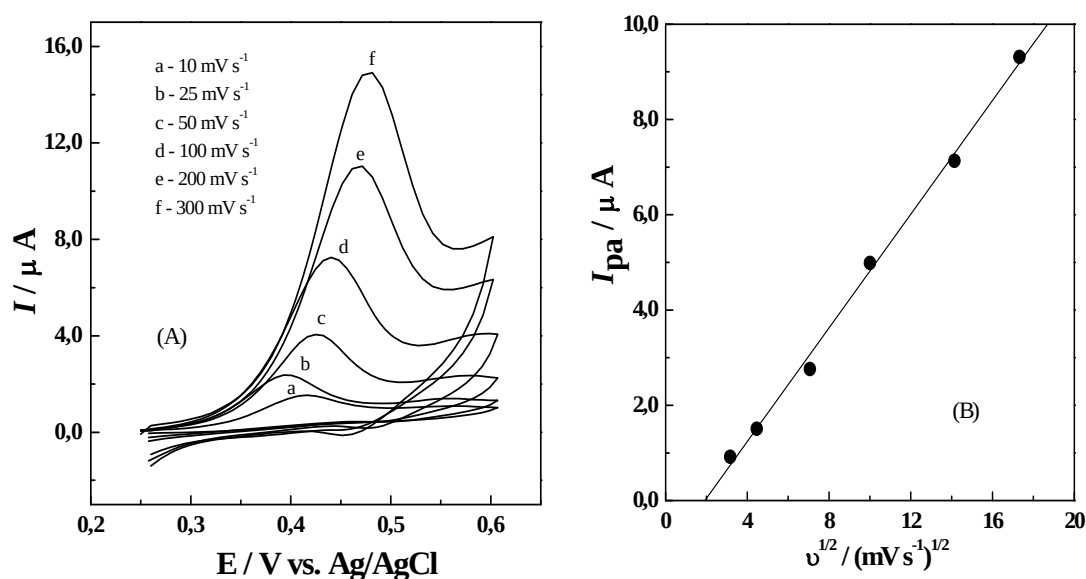


Figura 4 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN para diferentes valores de ν . (B) Variação da corrente de pico em função da raiz quadrada da ν .

Tabela 5 - Parâmetros voltamétricos obtidos na oxidação eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ QNZ em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN (Figura 4).

ν (mV s ⁻¹)	E_{pa} (mV)	I_{pa} (μ A)	$I_{pa} / \nu^{1/2}$ { μ A / (mV s ⁻¹) ^{1/2} }
10	409	0,92	0,29
25	424	1,51	0,34
50	424	2,76	0,39
100	440	5,00	0,50
200	461	7,13	0,50
300	471	9,31	0,54

Uma maneira de obter informações importantes a respeito do mecanismo de reações eletródicas é a análise do comportamento eletroquímico de um composto mediante a realização de varreduras sucessivas e comparando o primeiro voltamograma registrado com os demais. A realização de varreduras sucessivas para oxidação eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de QNZ em tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,0 com 30,0% de ACN no intervalo de potencial de +0,25 e +0,60 V vs. Ag/AgCl é mostrada na Figura 5. Analisando os voltamogramas cíclicos mediante realizações de varreduras sucessivas (Figura 5), observa-se uma queda bastante acentuada nos valores de corrente do primeiro em comparação ao segundo ciclo, cuja diminuição alcançou um valor de aproximadamente 62,0%. Entretanto, observa-se que, logo após o terceiro ciclo, os valores de corrente praticamente se estabilizam e o percentual de decréscimo não promove efeitos significativos no perfil voltamétrico e na intensidade do sinal. Assim, os experimentos de ciclização sucessiva forneceram resultados concordantes com aqueles apresentados na Tabela 5, evidenciando que o processo eletródico envolvendo a oxidação da QNZ é fortemente influenciado pelo fenômeno de adsorção, cujo efeito conduz a um decréscimo acentuado nos valores de corrente do primeiro para o segundo ciclo.

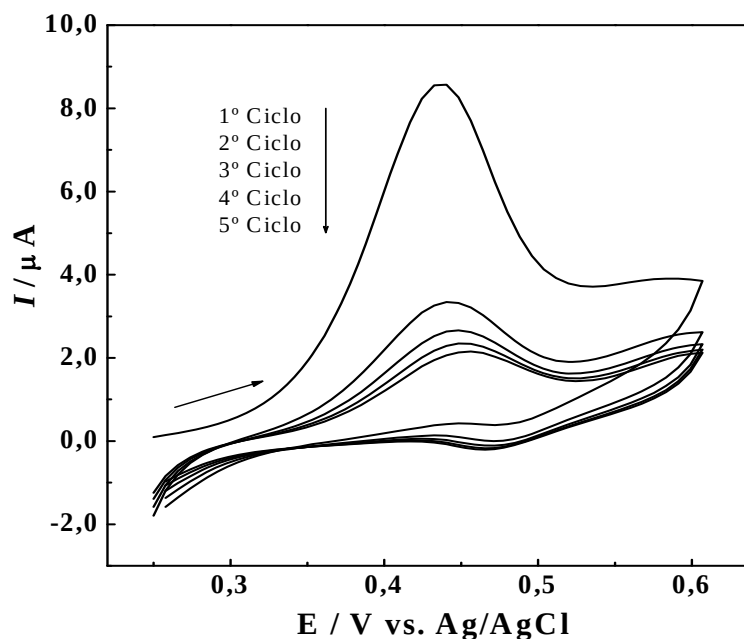
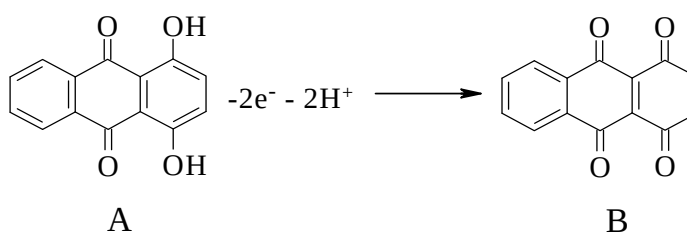


Figura 5 - Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para oxidação eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L $^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L $^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN. $\nu = 100$ mV s $^{-1}$.

De acordo com o reportado anteriormente por Zinger [98], os resultados obtidos evidenciam que a oxidação eletroquímica da QNZ (**A**) ocorre ao redor de +0,40 V vs. Ag/AgCl, gerando a espécie oxidada (**B**), tal como mostrado no esquema 3, após reação química de desprotonação e transferência de elétrons. O processo é ainda controlado por adsorção como mostrado anteriormente para outros compostos contendo grupos antraquinonas [98, 102-104].



Esquema 3 - Esquema de oxidação eletroquímica previsto para a QNZ em diferentes meios [98, 102].

3.1.1. Oxidação Eletroquímica da QNZ por Voltametria de Onda Quadrada e Pulso Diferencial

O comportamento voltamétrico da QNZ também foi investigado sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo, utilizando outros modos de varredura. As técnicas de voltametria

de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ) foram testadas com o objetivo de comparar a intensidade dos sinais e desenvolver métodos analíticos mais sensíveis. Analisando os voltamogramas obtidos para oxidação eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ em meio de tampão B-R / ACN (7:3, v/v) pelas técnicas de VPD e VOQ, observa-se que ambas apresentaram pico de oxidação bem definido em +0,41 V vs. Ag/AgCl (VOQ) e +0,39 V vs. Ag/AgCl (VPD), como mostra a Figura 6. A comparação da amplitude do pico obtido pela técnica de VOQ (Figura 6A) revela que este é muito mais intenso do que o obtido pela técnica de VPD (Figura 6B). Assim, a técnica de VOQ foi escolhida para medidas posteriores e os parâmetros inerentes ao sistema foram avaliados.

Adicionalmente, a superioridade da técnica de VOQ frente às demais técnicas eletroquímicas pode ser resumida no uso de uma maior rapidez na velocidade de varredura de potencial durante as medidas experimentais. A velocidade de varredura efetiva em VOQ é dada pela relação ($f \times \Delta E_s$), em que f é frequência de aplicação dos pulsos de potenciais e ΔE_s , o incremento de aplicação dos pulsos de potencial. Neste caso, uma frequência de 1 a 100 ciclos por segundo permite o uso de velocidade de varredura extremamente rápida, e, como resultado, o tempo de análise é significativamente reduzido. Outra característica bastante vantajosa da VOQ é que esta técnica, além de ser bastante utilizada em determinações eletroanalíticas, também possibilita a utilização de alguns parâmetros para caracterização prévia do processo eletródico em questão por apresentar componentes de corrente direta e inversa. Desta forma, considerando estas características, optou-se por sua utilização no desenvolvimento de métodos visando à quantificação de QNZ em amostras de combustíveis automotivos e de aviação.

Voltamogramas de onda quadrada para oxidação eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN são mostrados na Figura 7, onde também são mostradas as componentes de corrente direta (I_d), corrente inversa (I_i) e corrente resultante (I_r). Nesta condição, a QNZ apresentou um pico de oxidação em, aproximadamente, +0,43 V vs. Ag/AgCl e um sinal pouco definido na componente da corrente inversa (I_i), indicando que neste valor de frequência a presença de reações químicas acopladas suprime a ocorrência do sinal voltamétrico, cujo resultado está em concordância com aqueles obtidos previamente por voltametria cíclica. Além disso, a intensidade da componente da corrente resultante (I_r) não é coincidente com a componente da corrente direta (I_d), o que, segundo a literatura [99, 100] é indicativo de um processo eletródico reversível

fortemente influenciado por reação química acoplada e pelo fenômeno de adsorção do produto e/ou reagente e produto.

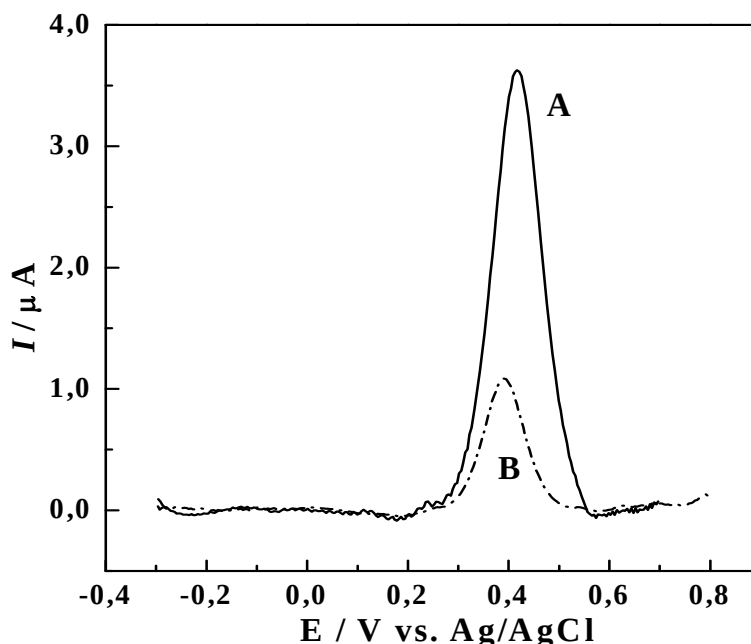


Figura 6 - Voltamogramas de onda quadrada (A) e pulso diferencial (B) registrados para oxidação de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L $^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN. Condições: (VOQ): frequência (f) = 60 Hz, incremento de aplicação dos pulsos (ΔE_s) = 4 mV e amplitude de aplicação dos pulsos (E_{sw}) = 25 mV. (VPD): velocidade de varredura (v) = 20 mV s $^{-1}$, tempo de pulso (t_p) = 50 ms e E_{sw} = 25 mV.

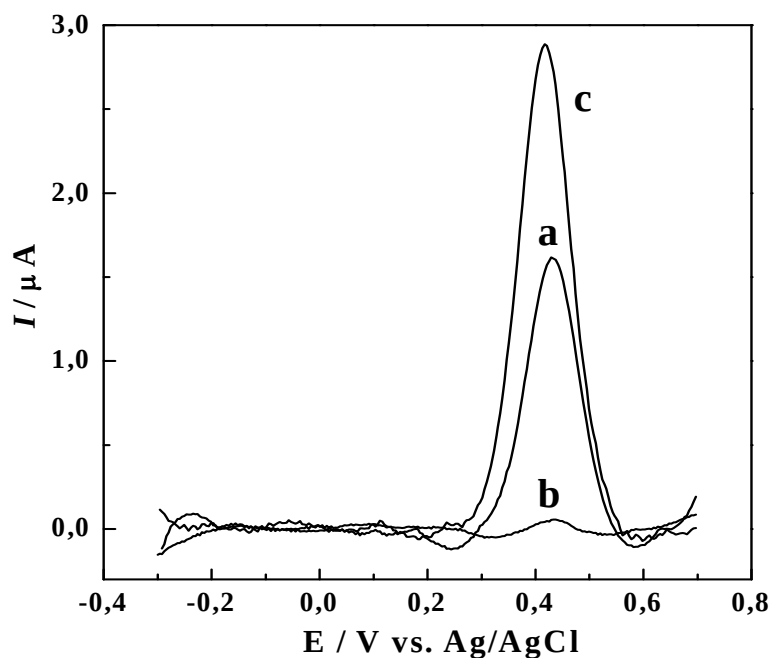


Figura 7 - Voltamograma de onda quadrada registrados para oxidação de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L $^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN. (a) corrente direta, (b) corrente inversa e (c) corrente resultante. Condições: f = 60 Hz, ΔE_s = 4 mV e E_{sw} = 25 mV.

3.1.2. Efeito do pH

A influência da variação do pH nos parâmetros voltamétricos, corrente de pico anódica (I_{pa}) e do potencial de pico anódico (E_{pa}), foi investigada a partir do registro de voltamogramas de onda quadrada para oxidação de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ e ACN. Como pode ser visto na Figura 8A, o E_{pa} desloca para valores menos positivos com o aumento do pH, indicando que o processo eletródico é influenciado por reações de protonação. Uma relação linear foi observada em todo intervalo de pH investigado (4,00 - 10,0) com a seguinte equação de regressão linear: E_{pa} (mV) = 880 - 68,0×pH ($r = 0,998$). Usando a seguinte relação: $\Delta E_p / \Delta pH = 59m_{H^+} / n$, em que m_{H^+} é o número de próton envolvidos na etapa química e n , o número de elétrons consumidos na etapa eletroquímica [96], e considerando que a hidroquinona é usualmente oxidada pela transferência eletrônica de dois elétrons (esquema 3) e, a partir do valor de 68,0 mV pH⁻¹ obtido para inclinação do gráfico de E_p vs. pH, a aplicação da equação anterior fornece um valor de m_{H^+} de 2,30. Este resultado indica que o processo de oxidação da QNZ ocorre via transferência eletrônica envolvendo dois elétrons e dois prótons.

A influência do pH na resposta da I_{pa} também é mostrada na Figura 8B, na qual um máximo de corrente é obtido em um valor de pH igual a 7,00. Valores de pH abaixo de 6,00 e acima de 8,00 promovem diminuição acentuada da I_{pa} , de modo que, praticamente desaparece em valores de pH maiores que 10,0. O fato de a I_{pa} variar marcadamente em função do aumento do pH pode ser atribuído à existência de diferentes espécies iônicas (equilíbrio ácido-base) presentes em solução ou alteração do grau de adsorção do reagente sobre o eletrodo. No entanto, considerando que a intensidade de corrente é máxima, ao redor de pH 7,00, esta condição foi adotada para propósitos analíticos quantitativos.

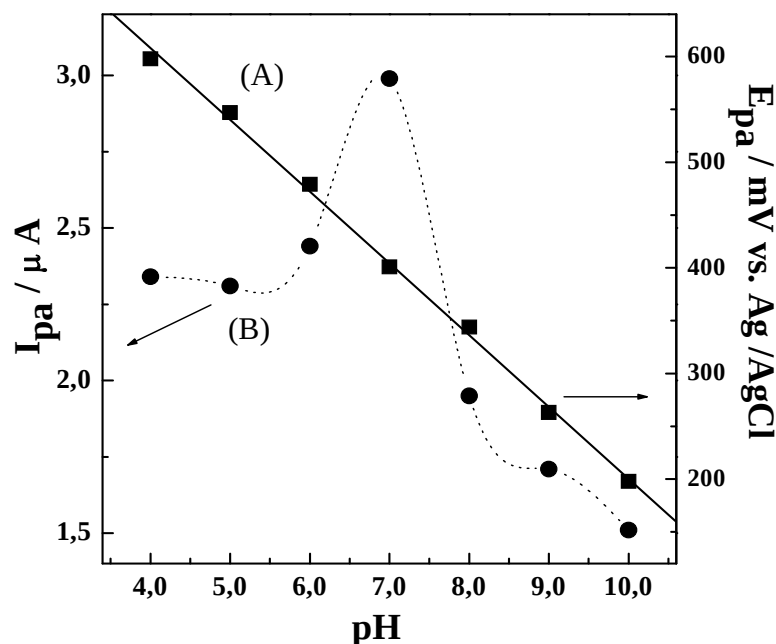


Figura 8 - Influência do pH na resposta do potencial de pico (A) e da corrente de pico (B) para oxidação eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de ACN. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$.

3.1.3. Otimização dos Parâmetros Instrumentais e Obtenção da Curva Analítica

Dos parâmetros instrumentais que podem influenciar significativamente na resposta voltamétrica destacam-se a frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), o incremento de varredura de potencial (ΔE_s) e a amplitude de aplicação dos pulsos de potencial (E_{sw}). Assim, visando melhorar a resposta voltamétrica relativa ao sinal de oxidação, estes parâmetros foram avaliados nos seguintes intervalos: f de 10 a 120 Hz, E_{sw} de 10 a 100 mV e ΔE_s de 2 a 12 mV, após análise eletroanalítica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de ACN. Em todos os casos a escolha da melhor condição de trabalho em termos da análise destes parâmetros foi realizada levando-se em consideração aquele cujo valor apresentasse melhora significativa na intensidade do sinal analítico sem comprometer a resolução voltamétrica. Neste caso, uma maneira bastante eficiente é a análise da largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$).

O primeiro parâmetro investigado foi a frequência de aplicação dos pulsos de potenciais (f), pois como mencionado anteriormente este parâmetro, além de oferecer melhora na resposta voltamétrica, possibilita, ainda, obter informações importantes a respeito do tipo de

processo envolvido durante a transferência eletrônica. Portanto, para este estudo, variou-se a f no intervalo de 10 a 120 Hz, mantendo-se constantes os demais parâmetros, ou seja, ΔE_s 4 mV e E_{sw} 25 mV. Conforme se observa na Figura 9, a I_{pa} é significativa e influenciada pelo aumento da f somente para valores entre 10 e 60 Hz, contudo, a $W_{1/2}$ é bastante influenciada pela maximização da f , sendo este efeito mais pronunciado em valores acima de 60 Hz. Assim, um valor de frequência de 60 Hz foi escolhido como sendo ideal para estudos visando análise quantitativa. Uma dependência linear é observada entre a I_{pa} e a f no intervalo de 10 a 60 Hz, o que, de acordo com a literatura, é característico de um processo eletroquímico controlado por adsorção [99, 100]. A linearidade entre a I_{pa} e a f obedece a seguinte relação matemática: $I_{pa} (\mu A) = 0,071 + 0,073 \times f$ (Hz), com coeficiente de correlação linear de 0,997.

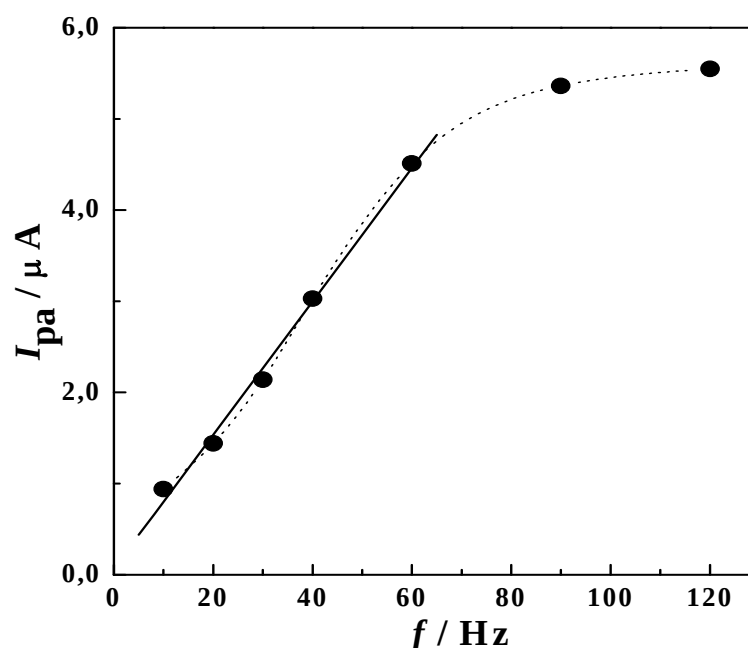


Figura 9 - Influência da variação da f sobre os valores de I_{pa} para oxidação eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 30,0% de ACN. Condições: E_{sw} = 25 mV, ΔE_s = 4 mV.

Em seguida, a influência da amplitude de aplicação dos pulsos de potencial (E_{sw}) foi avaliada sobre a intensidade da I_{pa} , mantendo-se, f = 60 Hz e ΔE_s = 4 mV. A Figura 10 descreve o efeito da variação da E_{sw} no intervalo de 10 a 100 mV para oxidação eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sob a mesma condição anteriormente citada. Como pode ser

observado, a I_{pa} aumenta com o aumento da E_{sw} de 10 para 50 mV, a partir do qual não promove mudança significativa nos valores de corrente. Entretanto, para valores de E_{sw} acima de 50 mV, o sinal voltamétrico é bastante comprometido pela perda de resolução, avaliada pelo considerado alargamento da $W_{1/2}$. Assim sendo, um valor de E_{sw} de 25 mV foi escolhido para prosseguir com os estudos.

Finalmente, foi realizada a otimização do incremento de varredura de potencial (ΔE_s) empregando-se $f = 60$ Hz e $E_{sw} = 25$ mV, previamente otimizados. Analisando o comportamento da I_{pa} (Figura 11) após variação do ΔE_s de 2 a 12 mV, verifica-se um aumento significativo em todo intervalo estudado. Porém, em valores de ΔE_s acima de 6 mV, o perfil voltamétrico foi marcadamente influenciado pelo aumento da $W_{1/2}$ e, desta forma, valores de ΔE_s entre 4 e 6 mV foram adotados como sendo ideais para estudos visando propósitos analíticos.

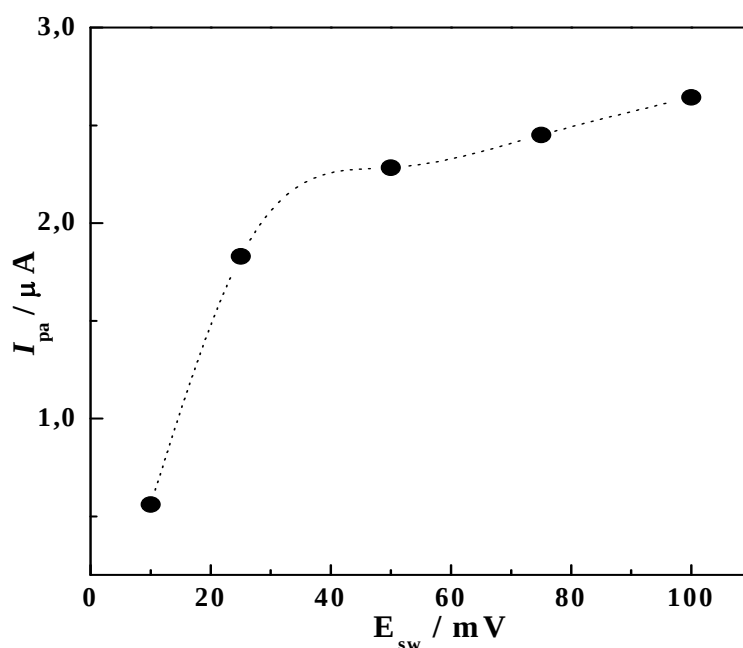


Figura 10 - Influência da variação da E_{sw} sobre os valores de I_{pa} para oxidação eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 30,0% de ACN. Condições: $f = 60$ Hz e $\Delta E_s = 4$ mV.

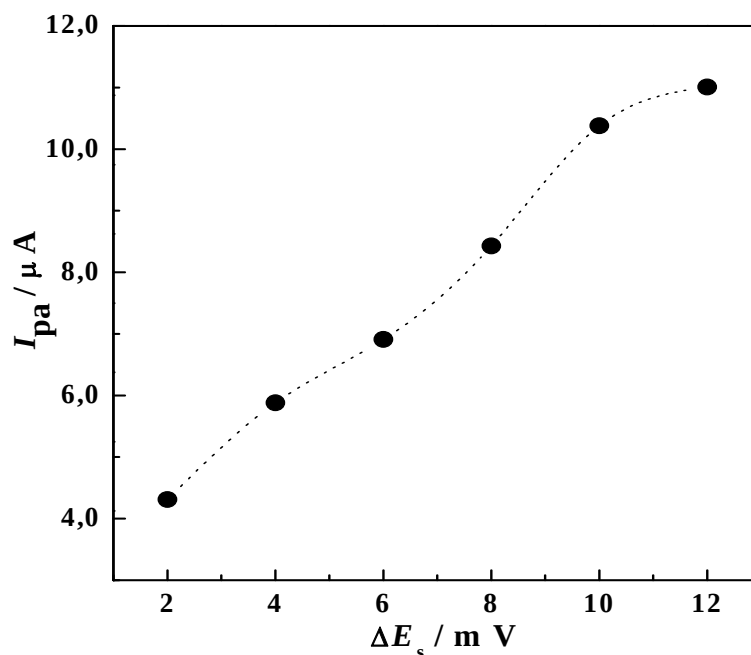


Figura 11 - Influência da variação do ΔE_s sobre os valores de I_{pa} para oxidação eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de ACN. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$.

Usando a melhor condição de trabalho previamente otimizada, estudos foram realizados em diferentes concentrações de QNZ, monitorando-se o sinal de oxidação eletroquímica. A Figura 12A apresenta os voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes concentrações ($2,00 \times 10^{-6}$ a $14,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) de QNZ. A partir dos valores de I_p obtidos nos voltamogramas (Figura 12A), a curva analítica foi construída, na qual cada ponto representa a média de três medidas experimentais. Uma relação linear foi obtida em todo intervalo de concentração estudado (Figura 12B) com equação de regressão linear de $I_{pa} (\mu\text{A}) = -0,19 + 7,20 \times 10^5 \times C_{QNZ} (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,999$, cujos parâmetros obtidos para esta curva estão reunidos na Tabela 6.

A partir dos parâmetros extraídos da curva analítica e apresentados na Tabela 6, foi possível calcular o limite de detecção (LD) do sistema, empregando a seguinte relação matemática: $(3 \times DP/b)$ [101]. **DP** representa o desvio padrão da média aritmética de dez medidas do branco obtidas no mesmo potencial de oxidação da QNZ, e **b**, a inclinação da curva de calibração. O LD obtido foi de $4,12 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Tabela 6), indicando detectibilidade aceitável quando comparado com o reportado na literatura [31], o que viabiliza a utilização da técnica no desenvolvimento de um método eletroanalítico para quantificação de QNZ em amostras de combustíveis.

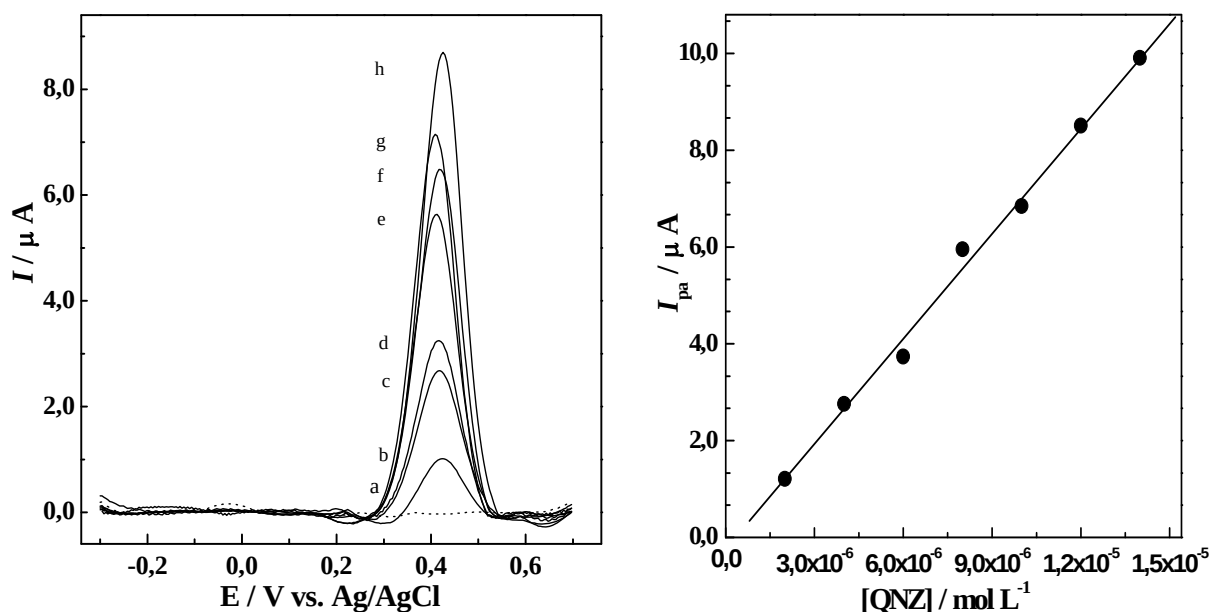


Figura 12 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN para: (a) branco, (b) $2,00 \times 10^{-6}$, (c) $4,00 \times 10^{-6}$, (d) $6,00 \times 10^{-6}$, (e) $8,00 \times 10^{-6}$, (f) $10,0 \times 10^{-6}$, (g) $12,0 \times 10^{-6}$, (h) $14,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ. (B) Dependência da I_{pa} em função do aumento da concentração de QNZ. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$.

Tabela 6 - Parâmetros obtidos da curva analítica mostrada na Figura 12.

Parâmetros	Método proposto	Literatura [31]
Intervalo linear (mol L^{-1})	$(2,00-14,0) \times 10^{-6}$	$(2,00-41,3) \times 10^{-6}$
Intercepto	-0,19	nd
Inclinação	$7,20 \times 10^5$	nd
Coeficiente de Correlação (r)	0,998	nd
LD (mol L^{-1})	$4,12 \times 10^{-7}$	$8,25 \times 10^{-7}$

nd; valor não divulgado.

3.1.4. Determinação de QNZ em Amostras de Combustíveis

A composição geralmente complexa de matrizes como combustíveis inviabiliza a quantificação direta da maioria dos analitos por grande parte das técnicas analíticas. Deste modo, procedimentos rigorosos de extração e purificação do analito nestas matrizes são

usualmente requeridos com longas etapas de tratamento e purificação da amostra. Diante disso, diversos procedimentos de extração e clean-up foram testados com objetivo de eliminar substâncias potencialmente interferentes presentes nas matrizes estudadas. Os melhores resultados foram obtidos com o método de extração em fase sólida (EFS), cuja escolha do sorvente (fase estacionária) foi realizada após testes de diferentes materiais, tais como: sílica (Si), cianopropil (CN) e octadecilsilano (C-18). Em todos os cartuchos de EFS a quantidade inicial de material sorvente testada foi de 500 mg/cartucho. Assim sendo, a primeira iniciativa de separação foi teste em Si e CN, em função do caráter relativamente polar da QNZ pela presença dos grupos funcionais C=O e C-OH. No entanto, devido ao grande número de componentes interferentes na gasolina e no óleo diesel, juntamente com a alta viscosidade do óleo diesel, os resultados não foram satisfatórios, visto que apresentaram baixos valores para testes de eficiência de extração do analito. Fator aliado também ao volume um tanto elevado (aproximadamente 2,00 mL), utilizado durante o procedimento que, possivelmente, provocou saturação do sorvente, contribuindo ainda mais para este baixo valor.

Na etapa seguinte, optou-se pela escolha do modo reverso de separação (C-18), cujo procedimento (seção experimental 2.3.1.2 e 2.3.1.3) utilizado foi o que proporcionou os melhores resultados para testes de eficiência de extração (Tabela 7). Voltamogramas de onda quadrada obtidos para as amostras contendo 5,00 mg L⁻¹ após extração revelam que não há picos de corrente de espécies interferentes que possam sobrepor ao pico da substância em análise (Figura 13A, voltamograma a). Analisando os perfis voltamétricos para as respectivas adições do padrão de QNZ sobre a amostra de gasolina submetida à extração, verifica-se que também não há influência de espécies interferentes sobre o pico de interesse, revelando que o procedimento foi eficiente.

Assim, o método proposto neste trabalho foi aplicado para determinação quantitativa de QNZ em amostras de gasolina e de óleo diesel, ambas contendo quantidades conhecidas do analito, tal como relatado anteriormente no procedimento experimental (2.3.1.2 e 2.3.1.3). Os resultados obtidos para quantificação de QNZ presentes nestas matrizes pelo método de adição do padrão são apresentados na Tabela 7 e cujos valores revelam que a eficiência de extração em amostras de gasolina e óleo diesel é aceitável. A partir dos valores de desvio padrão relativo (DPR) avaliado para as medidas aplicadas na adição do padrão, foi possível estimar a precisão do método proposto. Estes resultados são satisfatórios, de modo que pode ser uma alternativa para quantificação deste composto em matrizes como gasolina e diesel. A curva de adição de padrão apresentada na Figura 13B foi linear em todo intervalo de concentração adicionado e segue a equação: $I_{pa} (\mu A) = 1,16 + 4,50 \times 10^5 \times C_{QNZ} (mol L^{-1})$,

$r = 0,998$, cuja equação de regressão apresenta valores praticamente da mesma ordem de grandeza quando comparada com aquela obtida com o padrão da QNZ e representados na Tabela 6. O limite de quantificação (LQ) calculado usando a relação $(10 \times DP / b)$ foi de $2,20 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Novamente, estes dados indicam que não houve efeito associado à matriz, o que torna o método promissor para análise quantitativa de QNZ nestas matrizes.

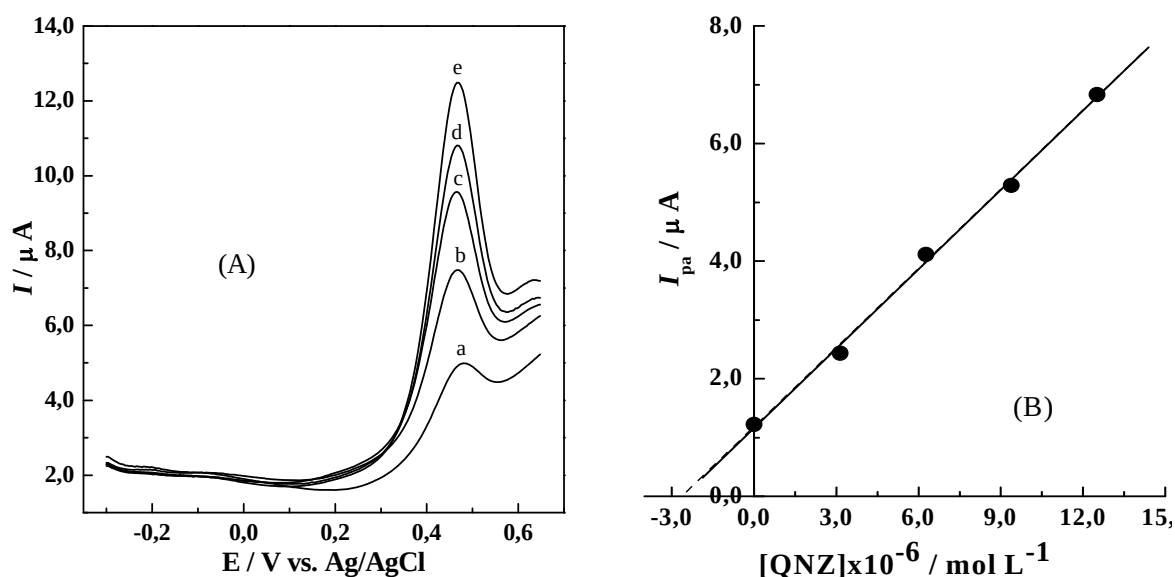


Figura 13 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de ACN. (a) Amostra de gasolina após extração (seção 2.3.1.2), (b-e) adições sucessivas de $30,0 \text{ μL}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ. (B) Curva de adição do padrão. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$.

Tabela 7 - Determinação de QNZ utilizando o método proposto comparado com o reportado na literatura.

Método de análise	Matriz	Adicionado (mg L^{-1})	Encontrado (mg L^{-1})	Eficiência (%)	DPR (%)
Método proposto ^[a]	Óleo diesel	5,00	4,71	94,2	0,60
	Gasolina	5,00	4,54	90,8	0,55
Literatura [31]	Óleo diesel	1,99	1,89	95,0	nd

^[a] média de 3 determinações; DPR = desvio padrão relativo; nd = valor não divulgado.

3.2. Redução Eletroquímica da QNZ Usando Eletrodos de Carbono Impressos

De acordo com os estudos realizados para oxidação eletroquímica da QNZ sobre superfície do eletrodo de carbono vítreo (seções 3.1), verificou-se que a mistura composta por tampão B-R e ACN na proporção (7:3, v/v) foi suficiente para manter a solubilidade deste corante. Observou-se ainda que, devido à alta volatilidade da ACN, a composição do eletrólito suporte foi significativamente comprometida pela perda da parte orgânica, quando a solução foi desaerada com nitrogênio por um período de tempo superior a 5,00 minutos. Além disso, a constituição do material eletródico (eletrodo de carbono impresso) foi mais afetada quando este foi exposto na mistura tampão B-R / ACN na proporção (7:3, v/v) do que na mistura tampão B-R / DMF na proporção (7:3, v/v). Adicionalmente, a menor volatilidade e a maior viscosidade do DMF em relação a ACN, torna-o mais adequado para estudos eletroquímicos, quando a remoção de oxigênio do meio é requerido. Diante disso, realizou-se estudos com a QNZ em meio contendo mistura de tampão B-R e DMF em proporções adaptáveis às condições requeridas para dar estabilidade aos eletrodos de carbono impressos, cuja solubilidade foi melhorada com o uso de um surfactante catiônico, brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). Os estudos realizados adotando essa condição estão apresentados a seguir.

A redução eletroquímica da QNZ foi realizada comparando o perfil voltamétrico registrando-se voltamogramas sobre a superfície dos eletrodos de carbono impresso (ECI, Figura 3II) e de carbono vítreo. A Figura 14 (A e B) descreve o comportamento voltamétrico obtido em meio de tampão Britton-Robinson $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF, cuja redução sobre a superfície do ECV caracteriza-se por um pico catódico em aproximadamente -0,51 V vs. Ag/AgCl sem a ocorrência do pico anódico na varredura reversa (Figura 14B). Entretanto, o pico é demasiadamente alargado devido a alta corrente residual detectada, de maneira que a relação sinal/ruído é bastante comprometida.

O comportamento voltamétrico para o registro de voltamograma sobre a superfície do ECI é observado na Figura 14A, na qual é verificado um pico catódico com potencial de -0,79 V vs. C_{impresso} sem o correspondente pico na varredura reversa e um deslocamento de 280 mV para um valor mais negativo (Figura 14A), o qual pode ser atribuído ao conjunto de eletrodos constituídos de tinta de carbono impresso que caracteriza o pseudo-referência.

Comparando a redução eletroquímica da QNZ nesta condição sob influência desses dois materiais eletródicos, verifica-se que o perfil voltamétrico é melhor definido no ECI com uma

ligeira diminuição da corrente residual e uma melhor definição da linha base (Figura 14A). Embora a intensidade de corrente seja menor para o voltamograma registrado sobre a superfície do ECI, este apresenta uma área geométrica ligeiramente menor, se comparado ao ECV, cuja característica possibilita melhor discriminação da relação sinal/ruído devido principalmente à baixa corrente residual detectada. Assim, os ECIs mostram-se bastante atraentes e promissores para utilização em detecções eletroanalíticas, pois problemas de envenenamento da superfície por adsorção podem ser facilmente contornados pelos descartes desses eletrodos após certo período de uso.

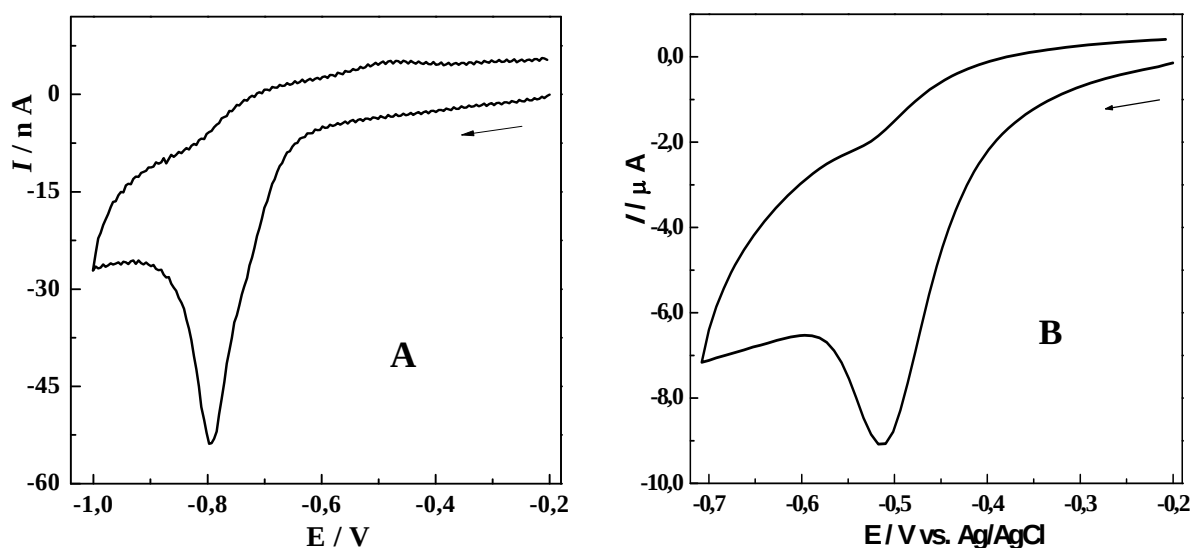


Figura 14 - Voltamogramas cíclicos registrados em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF. (A) redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre ECI e (B) redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre ECV. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Portanto, a redução eletroquímica da QNZ foi realizada, utilizando-se um conjunto de ECI (ECI, Figura 3II) visando melhorar a aplicabilidade do método eletroanalítico na análise deste marcador em amostras de combustíveis. Voltamograma cíclico obtido para redução de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ em meio eletrolítico contendo tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 e DMF (7:3, v/v) é mostrado na Figura 15B, o qual é caracterizado por um pico de redução em aproximadamente $-0,80 \text{ V vs. } C_{\text{impresso}}$ sem o correspondente pico anódico na varredura reversa. No entanto, observou-se que o produto da redução eletroquímica é fortemente adsorvido na superfície do ECI, o qual necessitou ser descartado após cada medida experimental, pois o mesmo não permite regeneração da superfície por métodos eletroquímicos e/ou mecânicos de limpeza.

Com o intuito de melhorar a detectibilidade da QNZ na superfície do ECI e, ao mesmo tempo, aumentar a estabilidade desses eletrodos, empregou-se em seguida como principal alternativa o uso de surfactante. Observa-se que o comportamento voltamétrico foi marcadamente alterado quando $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante catiônico CTAB foi adicionado à célula eletroquímica (Figura 15C), cuja presença promove inicialmente o deslocamento de, aproximadamente, 120 mV no E_p para um valor menos negativo em relação aquele observado na ausência do surfactante (Figura 15B). Ao mesmo tempo, observa-se um acentuado aumento na intensidade da corrente de pico pela presença do surfactante CTAB, cujo aumento de, aproximadamente, 140% proporcionou melhora no perfil voltamétrico, bem como maior aplicabilidade para fins analíticos. Na varredura reversa é possível detectar a ocorrência de dois ombros parcialmente sobrepostos e bastante alargados em aproximadamente -0,40 e -0,50 V vs. C_{impresso} , respectivamente, evidenciando que o produto eletrogerado também é eletroativo, mas fortemente influenciado por reações químicas acoplada ao processo eletródico. Verificou-se ainda que em todas as repetições realizadas com diferentes eletrodos apresentaram valores de E_p constantes, mostrando que o pseudo-referência do próprio eletrodo não é contaminado pela presença de espécies em solução e, assim, não necessitando-se trocar por um eletrodo de referência convencional de Ag/AgCl.

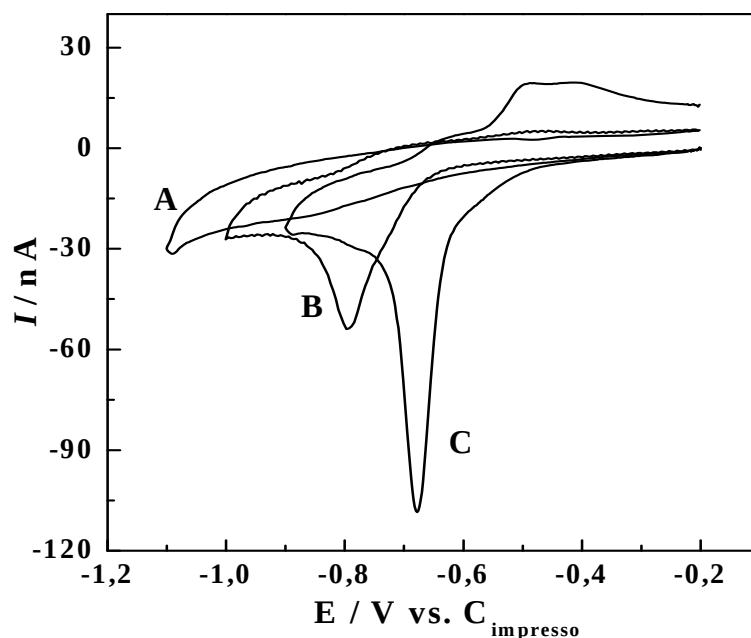


Figura 15 - Voltamogramas cíclicos registrados na ausência e na presença do surfactante CTAB para redução eletroquímica de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF: (A) Branco na presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do CTAB, (B) $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ na ausência de CTAB e (C) $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ na presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do CTAB. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Considerando que diferentes tipos de surfactantes (com diferenças nas cadeias e cargas) promovem diferentes tipos de mudanças no comportamento voltamétrico e no processo eletródico em estudo, realizou-se em seguida testes com a presença dos surfactantes aniônico dodecilsulfato de sódio (SDS) e dioctil sulfosuccinato de sódio (DSS), comparando-se os resultados com aqueles obtidos na presença do surfactante catiônico CTAB. A influência dos surfactantes CTAB e SDS na redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ (Figura 16) mostra que ambos os surfactantes promoveram modificação considerável no comportamento voltamétrico em questão. Entretanto, comparando-se o perfil voltamétrico da QNZ nesta condição, verifica-se claramente que a presença do CTAB foi o que proporcionou maior alteração, de modo que promoveu grande amplificação do sinal e um deslocamento do E_p para um valor menos negativo, sugerindo que a presença deste surfactante pode atuar tanto na solubilidade da QNZ no meio quanto na facilidade de sua redução [90].

Levando em consideração que o uso de surfactantes pode minimizar, ou até suprimir, efeitos de inativação da superfície eletródica ocasionada pela adsorção de produtos eletrogerados ou até mesmo do próprio reagente [83-87], sua capacidade de solubilizar analitos orgânicos insolúveis em determinados meios [92], como também melhora na etapa de transferência eletrônica pelo aumento da velocidade de transferência de carga. Assim, os resultados obtidos com a redução eletroquímica da QNZ em eletrólito contendo o surfactante catiônico CTAB indicam que houve melhora na solubilidade do corante, amplificação do sinal analítico e promove considerável deslocamento do E_p para valores menos negativos, tornando-se essa condição altamente favorável para desenvolvimento de novas metodologias analíticas de análise.

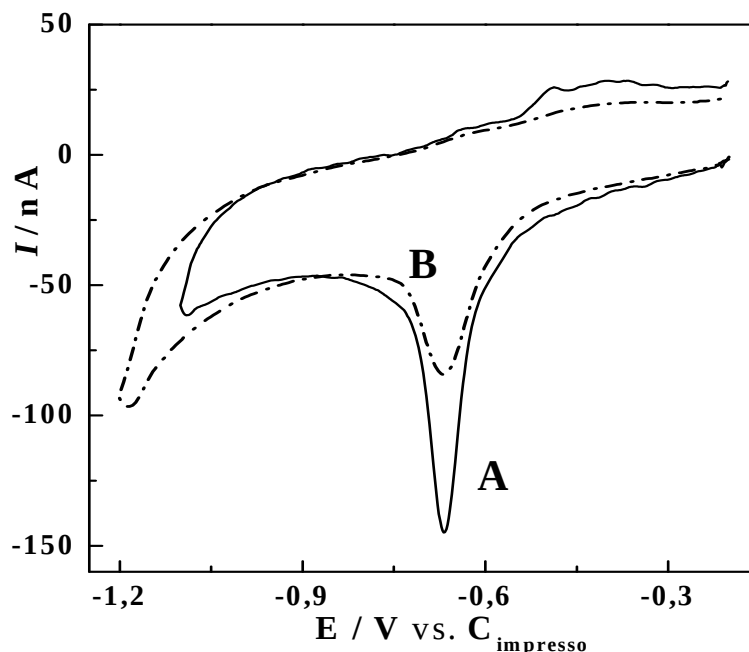


Figura 16 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF: (A) presença de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB e (B) presença de $5,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante SDS. $\nu = 100$ mV s⁻¹.

Na sequência, avaliou-se a influência da concentração do surfactante CTAB no intervalo de $5,00 \times 10^{-5}$ a $1,50 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ sobre a intensidade da corrente de pico e no perfil voltamétrico. De acordo com a Figura 17, verifica-se que, para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ, a I_{pc} aumenta com o aumento da concentração do surfactante CTAB até atingir um máximo em um valor de concentração de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, indicando que neste intervalo o surfactante encontra-se como monômero, e as interações são predominante eletrostáticas. Para concentração superior a $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, a intensidade da I_p decai abruptamente, resultando em má definição do pico e da linha base. Este comportamento pode ser um indicativo de que, a partir deste valor de concentração, há formação de agregados micelares entre surfactante/analito e, desta forma, dificulta o processo de transferência eletrônica, possivelmente pela camada protetora formada com o aumento da concentração micelar crítica (CMC) que, consequentemente, também influencia no coeficiente de difusão da espécie. Assim, baseados nos resultados experimentais, valores de concentração do surfactante CTAB abaixo de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foram considerados como condição ideal para propósitos analíticos, uma vez que permitiu considerável amplificação da intensidade do sinal.

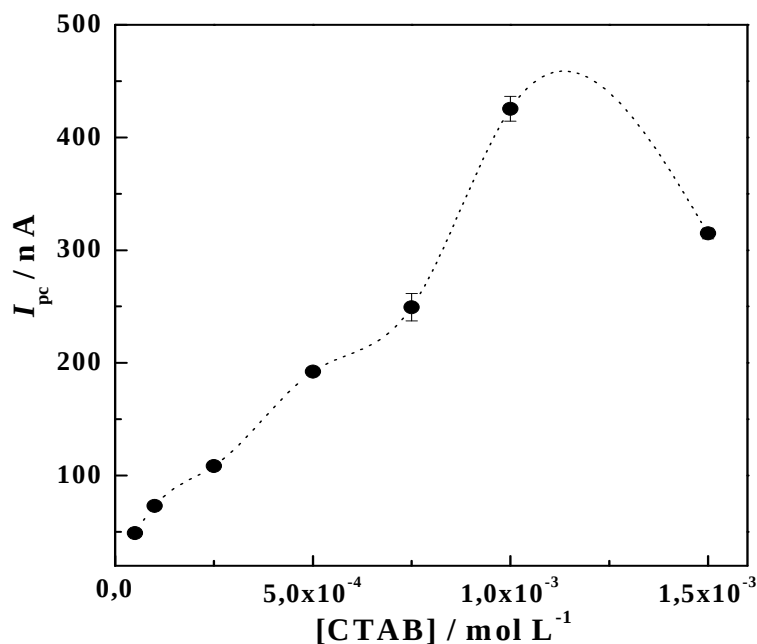


Figura 17 - Estudo do efeito da concentração do surfactante CTAB na redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 7,00 contendo 30,0% de DMF. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 2$ mV e $E_{sw} = 50$ mV.

3.2.1. Efeito do pH

O efeito do pH na redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10$ mol L⁻¹ contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB foi estudado no intervalo de $3,00 \leq \text{pH} \leq 9,00$. Como pode ser visto na Figura 19, somente um pico catódico é observado nos voltamogramas cíclicos, com máximo de intensidade em pH 7,00 (Figura 18, voltamograma **B**). Observa-se ainda que o pico voltamétrico em $-0,68$ V vs. C_{impresso} (pH 7,00) é fortemente influenciado pela variação do pH do meio (Figura 18, voltamograma **A** e **C**). Assim, avaliando a influência da do pH colocando-se em gráfico a corrente de pico catódica (I_{pc}) e o potencial de pico catódico (E_{pc}) em função do pH (Figura 19), verifica-se que a I_{pc} é praticamente independente do pH no intervalo de 3,00 a 6,00, e um aumento considerável é observado somente em um valor de pH igual 7,00 (Figura 19A). A partir de pH 7,00, a corrente decai acintosamente e é praticamente suprimida em valores de pH maiores que 9,00.

A análise da Figura 19B mostra que um deslocamento considerável do E_{pc} é observado somente para valores de pH entre 3,00 e 5,00 indicando que o processo eletródico é influenciado por envolvimento de reações de protonação apenas neste intervalo de pH. No

intervalo de pH de $5,00 \leq \text{pH} \leq 9,00$ relações aproximadamente constantes são obtidas, indicando que neste intervalo de pH o envolvimento de reações de protonação foi consideravelmente minimizado. O incremento linear na região de $3,00 \leq \text{pH} \leq 5,00$ apresentou uma equação de regressão: $E_{\text{pc}} (\text{mV}) = -199,50 - 82,10 \times \text{pH}$ ($r = 0,990$). Usando a relação: $\Delta E_p / \Delta \text{pH} = 59m_{\text{H}^+} / n$ e, considerando que o grupo antraquinona é reduzido pela transferência eletrônica reversível envolvendo dois elétrons [98] o valor de $82,0 \text{ mV pH}^{-1}$ obtido para a inclinação ($3,00 \leq \text{pH} \leq 5,00$) do gráfico de E_p vs. pH fornece um valor de m_{H^+} de 2,30. Este resultado poder ser indicativo de que a redução da QNZ ocorre via transferência eletrônica reversível envolvendo dois elétrons e dois prótons na região de $3,00 \leq \text{pH} \leq 5,00$, tal como verificado anteriormente para outros compostos antraquinonas [98, 103, 104], sugerindo que neste intervalo de pH o surfactante CTAB não altera o processo de transferência de elétrons.

Portanto, após comparação de intensidade de corrente e perfil voltamétrico do pico, a melhor condição de trabalho foi obtida com tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,00 contendo 30,0% de DMF, sendo esta condição adotada, visando propósitos analíticos quantitativos.

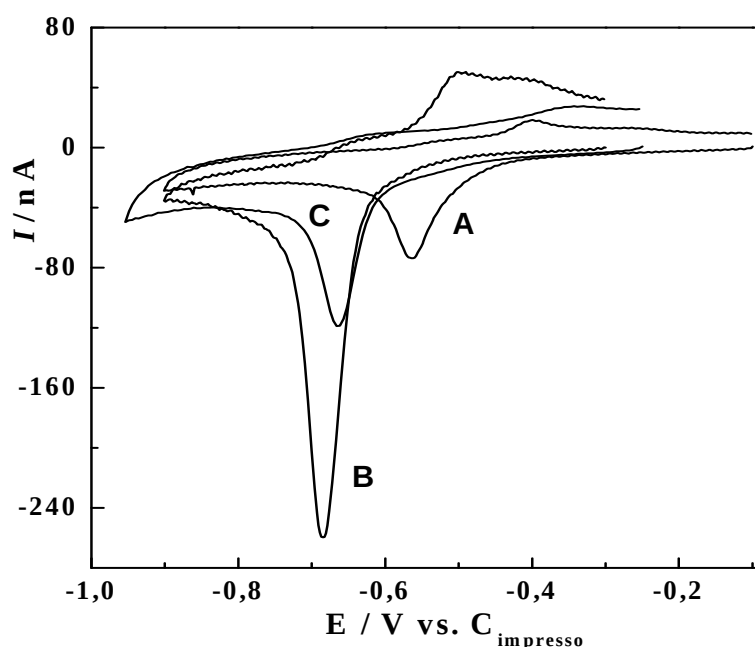


Figura 18 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB: (A) pH 5,00; (B) pH 7,00 e (C) pH 8,00. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

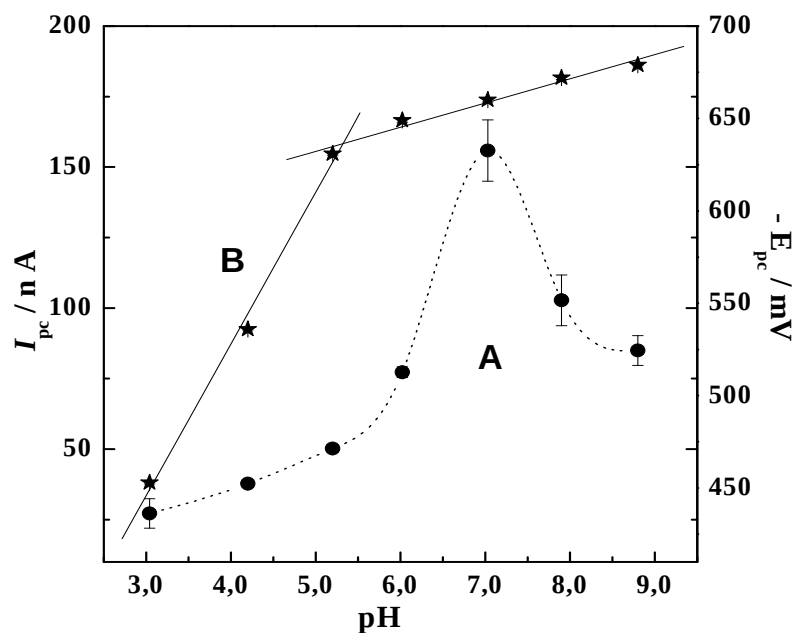


Figura 19 - Influência do pH na resposta da corrente de pico (A) e do potencial de pico (B) para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.2.2. Influência da Velocidade de Varredura de Potencial

A influência da v na redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ foi avaliada sobre a superfície do ECI para o intervalo de 10 a 1000 mV s^{-1} . A Figura 20A exibe os voltamogramas cíclicos registrados sob diferentes v para redução da QNZ em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. Em baixos valores de v não se detecta a ocorrência de picos na varredura reversa (Figura 20A), enquanto que, em valores de v acima de 200 mV s^{-1} , observa-se o surgimento de dois picos anódicos de pouca intensidade que aumenta com o aumento de v , cuja ocorrência pode ser atribuída a oxidação da espécie reduzida eletrogerada na etapa anterior. Este comportamento novamente indica que o processo eletródico na condição experimental adotada corresponde ao de uma transferência eletrônica perturbada por reações químicas acopladas que consome o produto reduzido na superfície eletródica em baixas velocidades de varredura. Os parâmetros eletroquímicos extraídos dos voltamogramas cíclicos

(Figura 20A) utilizados como critérios para caracterização do comportamento voltamétrico da QNZ estão reunidos na Tabela 8.

De acordo com estes resultados, verifica-se que a I_{pc} varia linearmente com a $v^{1/2}$ somente para valores de v acima de 50 mV s^{-1} , cuja relação linear não passa pela origem dos pontos (Figura 20B). A relação linear observada entre a corrente de pico catódica (I_{pc}) e a raiz quadrada da v obedece a seguinte equação de regressão $I_{pc} \text{ (nA)} = -243 + 49,0 \times v^{1/2}$, $r = 0,998$, cujos valores de cada ponto no gráfico correspondem a média de duas medidas experimentais. Este comportamento voltamétrico novamente indica que a redução eletroquímica da QNZ nesta condição adotada não ocorre apenas por difusão.

Analizando os valores dos parâmetros voltamétricos reunidos na Tabela 8 obtidos para a redução eletroquímica da QNZ nesta condição, observa-se um pequeno deslocamento do E_{pc} para valores mais negativos com o aumento da v no intervalo de 10 a 1000 mV s^{-1} . Com base nestes resultados, é possível inferir que a redução eletroquímica da QNZ ocorre reversivelmente, mas perturbada por reação química, atuando sobre o processo eletródico mesmo na presença do surfactante.

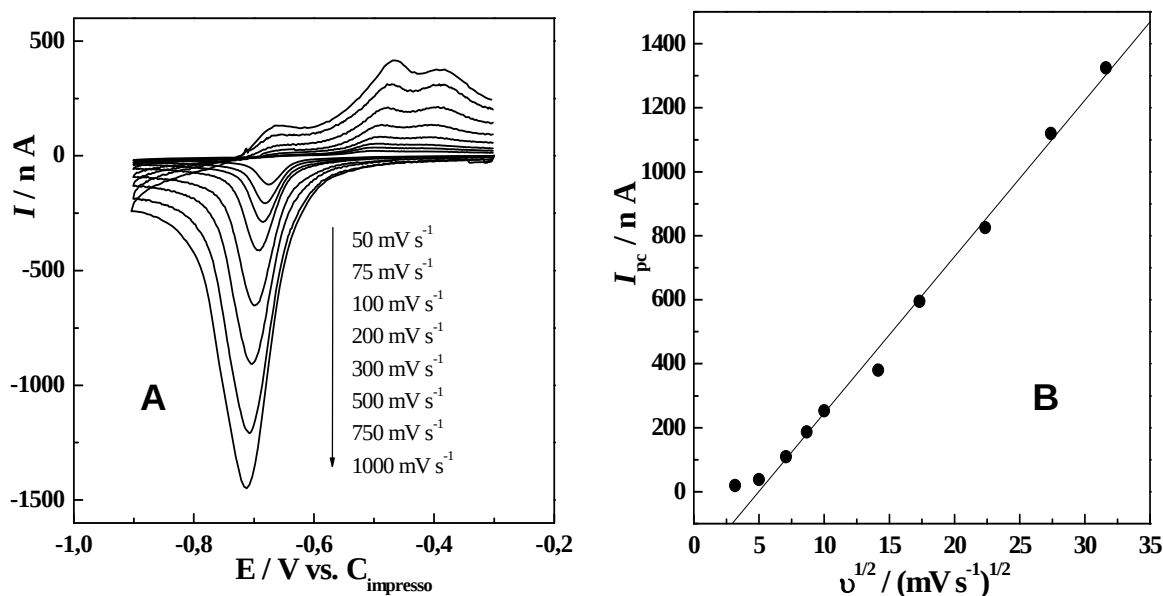


Figura 20 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes valores de v para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L^{-1} pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. (B) Variação da corrente de pico em função da raiz quadrada de v .

Tabela 8 - Parâmetros voltamétricos obtidos para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de QNZ em diferentes valores de ν representados na Figura 20.

ν (mV s ⁻¹)	I_{pc} (μ A)	$-E_{pc}$ (mV)	$E_{pc} - E_{p/2}$ (mV)
10	19,5	651	21,5
25	37,7	666	22,5
50	109	674	23,5
75	187	680	25,0
100	253	685	27,5
200	380	692	30,0
300	595	698	34,0
500	825	705	38,5
750	1119	708	41,5
1000	1325	711	44,0

Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para redução de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB é mostrado a seguir. A Figura 21 revela que o comportamento voltamétrico da QNZ é caracterizado por um pico catódico para o registro do primeiro ciclo, o qual decai acentuadamente do primeiro para o segundo ciclo. Após o terceiro ciclo constata-se que os valores de corrente permanecem praticamente constantes e nenhuma variação significativa é verificada até o quinto ciclo. Além disso, nenhum efeito significativo sobre o perfil voltamétrico do pico é observado. Este comportamento sugere que nesta condição de ciclização sucessiva a redução eletroquímica da QNZ ocorre sob influência do fenômeno de adsorção na superfície eletródica. Todavia, este efeito pode ser contornado e a superfície eletródica pode ser regenerada se um tempo de estabilização (tempo de espera) for adotado entre cada medida experimental. Assim, os estudos foram conduzidos adotando um tempo mínimo de aproximadamente 35,0 s entre cada experimento, cujo procedimento eliminou a necessidade de limpeza da superfície eletródica.

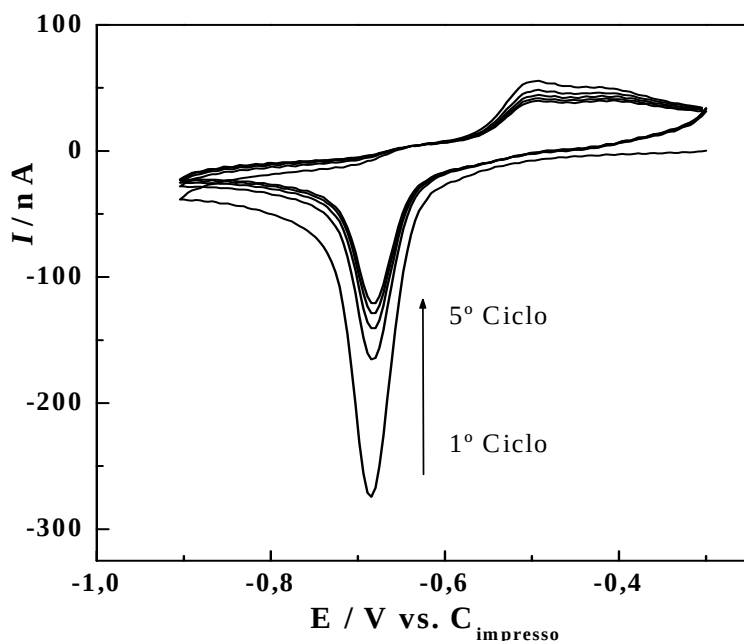


Figura 21 - Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do eletrodo de carbono impresso em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB. $\nu = 100$ mV s⁻¹.

3.2.3. Detecção Eletroquímica por VOQ

Além das considerações sobre os estudos da velocidade de varredura por voltametria cíclica realizados para diagnosticar o comportamento voltamétrico da QNZ na presença do surfactante CTAB, também utilizou-se alguns critérios baseado nos estudos por voltametria de onda quadrada (VOQ) para complementar esta caracterização. A técnica de VOQ além de ser amplamente utilizada em determinações eletroanalíticas, alguns dos seus critérios também tem sido muito empregado na elucidação de processos eletródicos, principalmente por levar em considerações fenômenos de adsorção de reagentes e/ou reagente/produto [99, 100].

Assim, a redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ em meio de tampão B-R pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB foi monitorada sobre a superfície do ECI. A Figura 22 exibe os voltamogramas de onda quadrada com separação das componentes de corrente direta (I_d), corrente reversa (I_r) e corrente resultante (I_r), cujo comportamento eletroquímico possibilita uma observação prévia sobre o tipo de processo eletródico envolvido. Como pode ser visto, a presença de picos nas componentes de corrente direta (Figura 22, voltamograma **a**) e reversa (Figura 22, voltamograma **b**) mostram que a redução eletroquímica da QNZ nesta condição ocorre

reversivelmente, tal como previsto teoricamente para compostos contendo grupos antraquinonas [98, 103, 104].

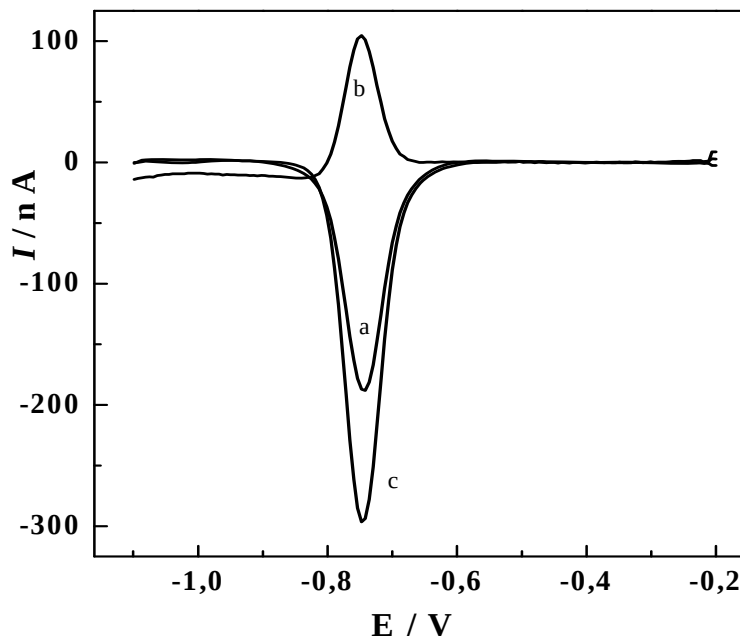


Figura 22 - Voltamograma de onda quadrada registrado para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB. (a) corrente direta, (b) corrente reversa e (c) corrente resultante. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 6$ mV e $E_{sw} = 25$ mV.

Avaliando-se o efeito da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais (f) sobre a intensidade da corrente de pico e no comportamento voltamétrico da QNZ, verificou-se que este parâmetro influenciou significativamente na resposta voltamétrica. Além disso, possibilitou obter algumas informações com relação ao processo eletródico envolvido. Variando-se a f no intervalo de 10 a 250 Hz e mantendo-se constantes os demais parâmetros, ou seja, ΔE_s 2 mV e E_{sw} 50 mV, observou-se (Figura 23B) que a I_{pc} aumenta com o aumento da f , no entanto, uma relação linear entre I_{pc} e f é obtida somente em valores de f entre 40 e 200 Hz, o que de acordo com o reportado na literatura [99, 100], é característico de um processo eletródico reversível controlado por adsorção. A linearidade entre I_{pc} vs. f obedeceu a seguinte equação de regressão: $I_{pc} (\mu A) = -175 + 9,08 \times f$ (Hz) com $r = 0,998$. Deste modo, mesmo sendo observada uma melhora bastante significativa no perfil voltamétrico da QNZ com o aumento da f um valor de 60 Hz foi escolhido como sendo ideal para estudos futuros por atender as expectativas em termos de resolução voltamétrica, avaliado em termo da largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$) e detectibilidade.

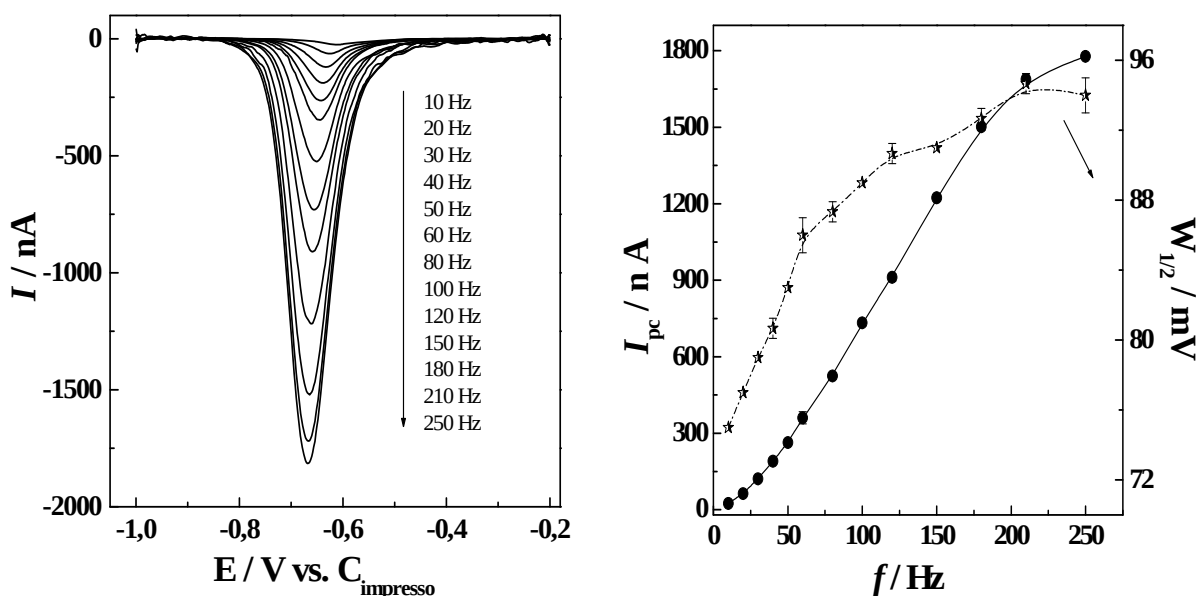


Figura 23 - Influência da variação da f sobre os valores de I_{pc} para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ de QNZ sobre a superfície ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L $^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L $^{-1}$ do surfactante CTAB. $\Delta E_s = 2$ mV e $E_{sw} = 50$ mV.

Os parâmetros voltamétricos obtidos a partir da medida de corrente nas componentes de corrente direta (I_d) e corrente reversa (I_i) para os voltamogramas ilustrados na Figura 23, possibilitou ainda verificar o comportamento eletroquímico da QNZ frente à análise da variação da f . A Figura 24 mostra que o aumento da f de 10 para 150 Hz provoca um aumento na razão $I_{reversa}/I_{direta}$. Em altos valores de f acima de 150 Hz a razão $I_{reversa}/I_{direta}$ mantém-se constante com valores próximos de 0,80, indicando que o processo eletródico na condição experimental adotada aproxima-se da reversibilidade e a transferência eletrônica sofre pouca influência de reações químicas paralelas. Assim, os resultados obtidos por voltametria de onda quadrada fornecem maiores evidências de um mecanismo tipo (E_rC), do que aqueles obtidos anteriormente por voltametria cíclica, possivelmente pelo fato de que a velocidade de varredura efetiva na VOQ ser maior e, também devido a forma de aplicação de pulsos (diretos/reversos) que possibilita obter a redução/oxidação simultaneamente em poucos segundos minimizando assim os efeitos da etapa química sobre o perfil voltamétrico do pico reverso.

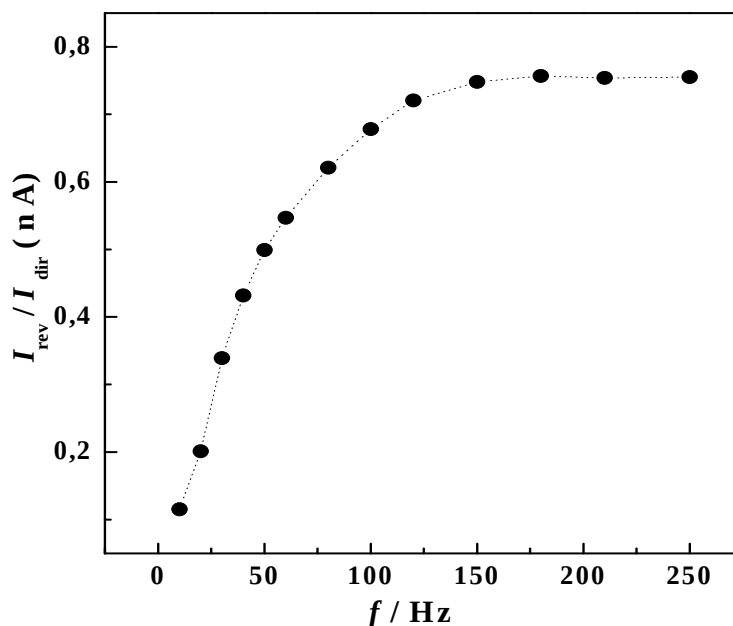


Figura 24 - Variação da razão $I_{\text{reversa}}/I_{\text{direta}}$ em função da frequência para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. Condições: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

O E_p variou linearmente com o $\log$ da f com equação de regressão: $E_p(\text{mV}) = 575 + 39,5 \times \log f$, cuja relação linear mostrada no gráfico (Figura 25) apresentou uma inclinação de 39,50 mV. Assumindo que o sistema se comporta reversivelmente, tal como esperado teoricamente para reações reversíveis com reagentes e/ou produtos adsorvidos na superfície do eletrodo e aplicando-se a equação abaixo.

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \log \cdot f} = \frac{2,3 \cdot R \cdot T}{2n_a \cdot F}$$

Em que, R é a constante universal dos gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T é a temperatura em (K), n_a é o número de elétrons transferido na reação eletródica e F é a constante de Faraday (96485 C). Usando esta relação matemática obteve-se um valor de n_a igual a 0,80, um pouco distante do esperado teoricamente para redução eletroquímica do grupo quinona central envolvendo dois elétrons, tal como observado anteriormente para outros compostos antraquinonas [99, 100].

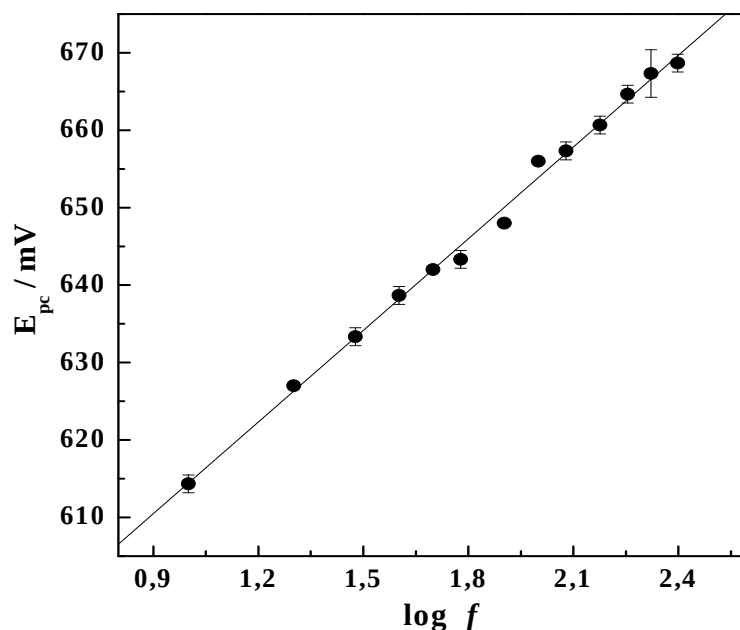


Figura 25 - Variação do E_p em função do log da frequência para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. Condições: $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Os resultados obtidos mesmo com a presença do surfactante CTAB concordam com aqueles reportados por Zinger [98], que investigou a redução eletroquímica da QNZ adsorvida sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo em meio aquoso tamponado em pH 4,00. Neste caso, a redução ocorre ao redor de $-0,40 \text{ V}$ vs. ECS, na qual pode ser associada pela redução da quinona central para produzir a espécie hidroquinona reduzida (QNZ^{red}) após transferência de 2 elétrons e 2 prótons. Este processo foi fortemente influenciado por reações químicas acopladas. Assim, conclui-se que o processo de redução eletroquímica da QNZ mesmo na presença do surfactante CTAB esteja associado à redução do grupo quinona via transferência eletrônica influenciada por reações químicas paralelas. De qualquer modo, a presença do surfactante amplificou consideravelmente a intensidade da corrente de pico e, isso pode ser positivamente explorado para propósitos analíticos.

3.2.4. Otimização dos Parâmetros Instrumentais e Obtenção da Curva de Calibração Analítica

Os principais parâmetros operacionais inerentes a técnica voltamétrica de onda quadrada foram avaliados visando obter uma melhor condição de trabalho para monitorar a redução eletroquímica da QNZ. Deste modo, avaliou-se o efeito da variação da amplitude de aplicação dos pulsos de potencial (E_{sw}) sobre a intensidade da I_{pc} no intervalo de 10 a 100 mV. Como pode ser visto na Figura 26, a I_{pc} aumenta com o aumento da E_{sw} somente para valores entre 10 e 50 mV, a partir do qual permanece praticamente constante e não promove mudança significativa na intensidade da corrente. Adicionalmente, para valores de E_{sw} acima de 50 mV o sinal voltamétrico é bastante alargado pelo aumento da $W_{1/2}$ e, assim, um valor de 50 mV foi escolhido para prosseguir com os estudos tendo em vista propósitos analíticos.

A influência da variação do incremento de varredura de potencial (ΔE_s) no intervalo de 2 a 12 mV é mostrado na Figura 27, o qual mostra um aumento proporcional da I_{pc} com o aumento do ΔE_s em todo intervalo avaliado. Concomitantemente, observa-se um considerável alargamento do sinal voltamétrico para valores de ΔE_s maiores que 12 mV. Diante disso, valores de ΔE_s entre 2 e 10 mV foram selecionados como ideais para fins analíticos.

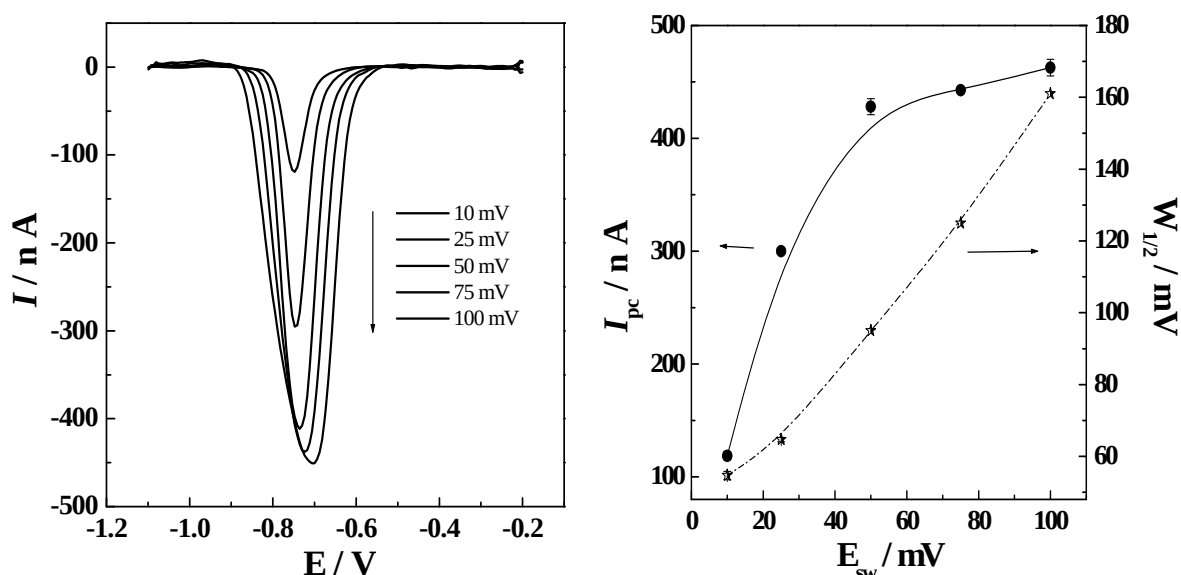


Figura 26 - Influência da variação da E_{sw} sobre os valores de I_{pc} para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do surfactante CTAB. Condições: $f = 60$ Hz e $\Delta E_s = 6$ mV.

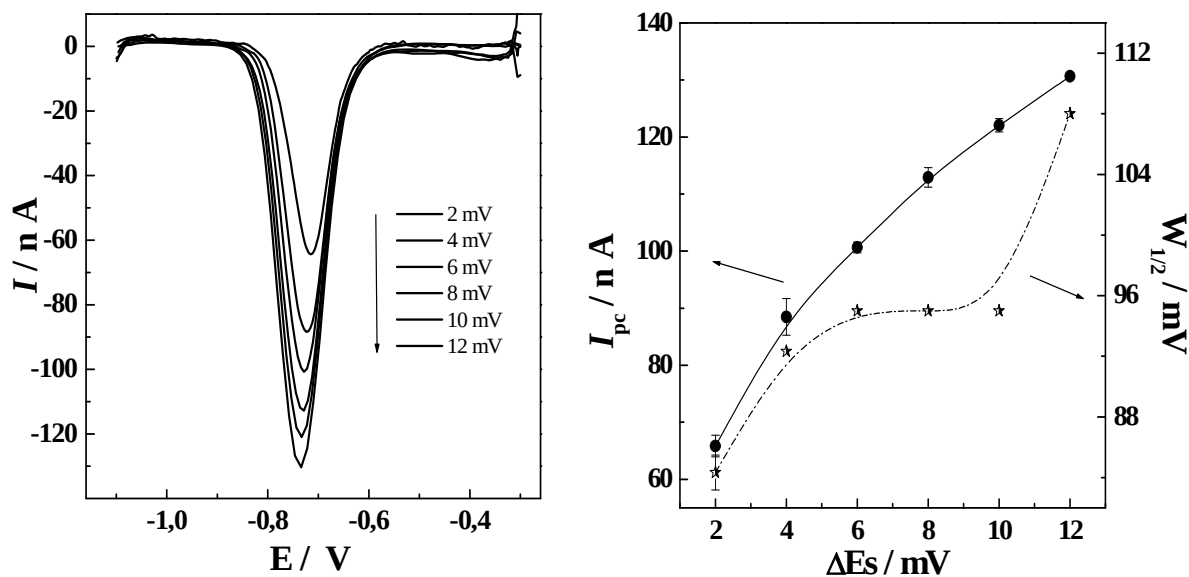


Figura 27 - Influência da variação da ΔE_s sobre os valores de I_{pc} para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Depois de estabelecida a melhor condição de trabalho para monitorar a redução eletroquímica da QNZ em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de CTAB, voltamogramas de onda quadrada em diferentes concentrações foram registrados. A Figura 28A exibe os voltamogramas obtidos em um intervalo de concentração de $5,00 \times 10^{-7}$ a $6,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. A partir dos valores de I_{pc} obtidos dos voltamogramas (Figura 28A) curva analítica foi construída (Figura 28B), em que cada ponto representa à média de quatro medidas experimentais. A relação linear obtida em todo intervalo de concentração avaliado apresenta equação de regressão linear: $I_{pc}(nA) = -7,52 + 3,35 \times 10^7 \times C_{QNZ} (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,998$, cujos parâmetros estão reunidos na Tabela 9.

Com base nos parâmetros apresentados na Tabela 9 calculou-se o LD da curva analítica usando o tratamento estatístico previamente descrito: $(3 \times DP/b)$, em que **DP** representa o desvio padrão da média aritmética de dez medidas do branco obtidas no mesmo potencial de redução da QNZ e **b** a inclinação da curva de calibração analítica. O LD obtido foi de $2,70 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, (Tabela 9), revelando que o sistema de detecção apresenta detectibilidade adequada para os propósitos deste trabalho, de modo que pode ser empregada no desenvolvimento de um método eletroanalítico para determinação da QNZ em amostras de combustíveis.

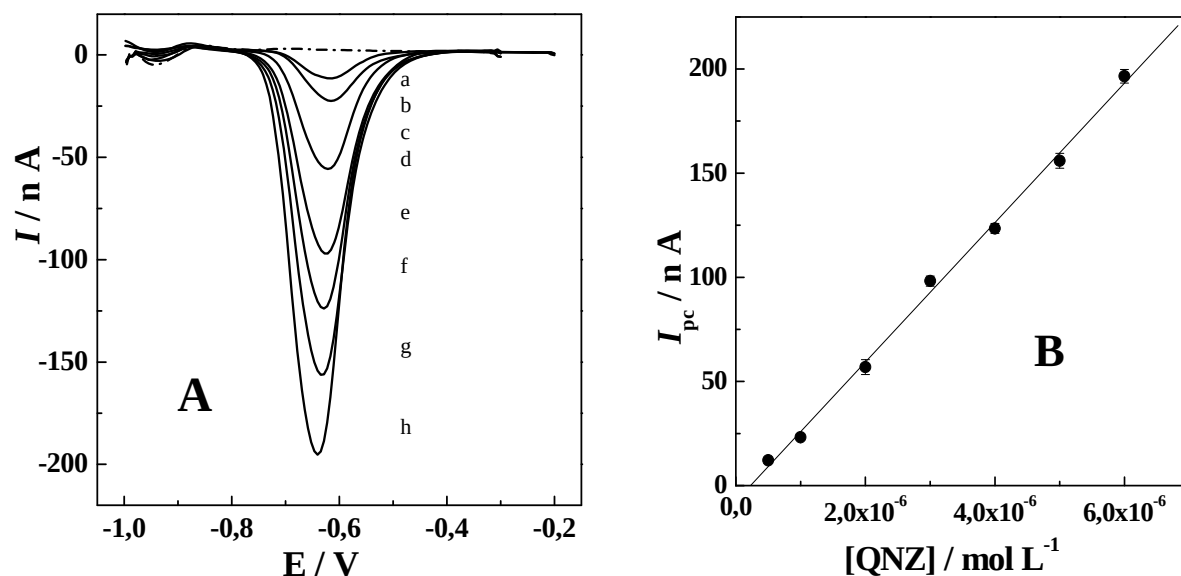


Figura 28 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante CTAB para (a) branco e concentrações de (b) $5,00 \times 10^{-7}$ (c) $1,00 \times 10^{-6}$ (d) $2,00 \times 10^{-6}$ (e) $3,00 \times 10^{-6}$ (f) $4,00 \times 10^{-6}$ (g) $5,00 \times 10^{-6}$ e (h) $6,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Dependência da I_{pc} em função do aumento da concentração de QNZ. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Tabela 9 - Parâmetros estudados e otimizados usando eletrodos de carbono impresso para redução eletroquímica da QNZ na obtenção da curva de calibração analítica mostrada na Figura 28.

Parâmetros	Método proposto	Métodos de referência	
		Eletroanalítico ^[a]	Cromatográfico [31]
Intervalo de linearidade (mol L^{-1})	$(0,50-6,00) \times 10^{-6}$	$(2,00-14,0) \times 10^{-6}$	$(2,00-43,0) \times 10^{-6}$
Intercepto	-7,52	-0,19	nd
Coeficiente angular	$3,35 \times 10^7$	$7,20 \times 10^5$	nd
Coeficiente de Correlação (r)	0,998	0,999	nd
LD (mol L^{-1})	$2,70 \times 10^{-7}$	$4,10 \times 10^{-7}$	$8,25 \times 10^{-7}$

^[a] obtidos como descrito na seção 3.1.3 (Tabela 6)

3.2.5. Determinação de QNZ em Amostras de Combustíveis

Para determinação de QNZ em amostra de querosene, testou-se a eficiência de extração do corante adicionando propositalmente a matriz concentração em níveis de 1,50 e 2,50 mg L⁻¹. Após submeter às amostras ao procedimento experimental exposto na seção 2.2.9, as análises eletroanalíticas foram realizadas empregando a metodologia previamente descrita. Voltamogramas obtidos para a amostra de querosene sem o corante e após o procedimento de *clean-up* (seção experimental 2.3.1.4) mostrou que não há picos de corrente nessa amostra (Figura 29, voltamograma a) que possa comprometer a detecção da QNZ e, assim, estudos de eficiência de extração pelo método da adição do padrão foram realizados em seguida.

O voltamograma obtido para 2,00 mL de amostra de querosene contendo 1,50 mg L⁻¹ de QNZ (Figura 29, voltamograma b) e submetida ao processo de extração (seção experimental 2.3.1.4), bem como, os demais voltamogramas (Figura 29, voltamogramas c-f) provenientes das adições de 5,00 µL do padrão de QNZ (1,00×10⁻³ mol L⁻¹) também não são alterados por espécies interferentes. A curva de adição de padrão mostrada na Figura 29 (Inserção) apresentou relação linear em todo intervalo de concentração estudado segundo a equação: $I_{pc} \text{ (nA)} = 115 + 8,75 \times 10^7 \times C_{QNZ} \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$, $r = 0,999$, cuja sensibilidade apresenta valor da mesma ordem de grandeza quando comparado com aquele obtido anteriormete com o padrão de QNZ (Tabela 9), indicando que nesta condição de análise não há influência significativa da matriz na detecção do corante. O limite de quantificação calculado empregando a relação ($10 \times DP/b$) foi de $8,70 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, indicando que o método atende os propósitos iniciais do trabalho.

A eficiência de extração encontrada para os testes realizados em amostras de querosene e óleo diesel sob a melhor condição experimental otimizada estão apresentados na Tabela 10. Os valores são satisfatórios e indicam a viabilidade de utilização do método para determinação quantitativa do corante nessas matrizes avaliadas.

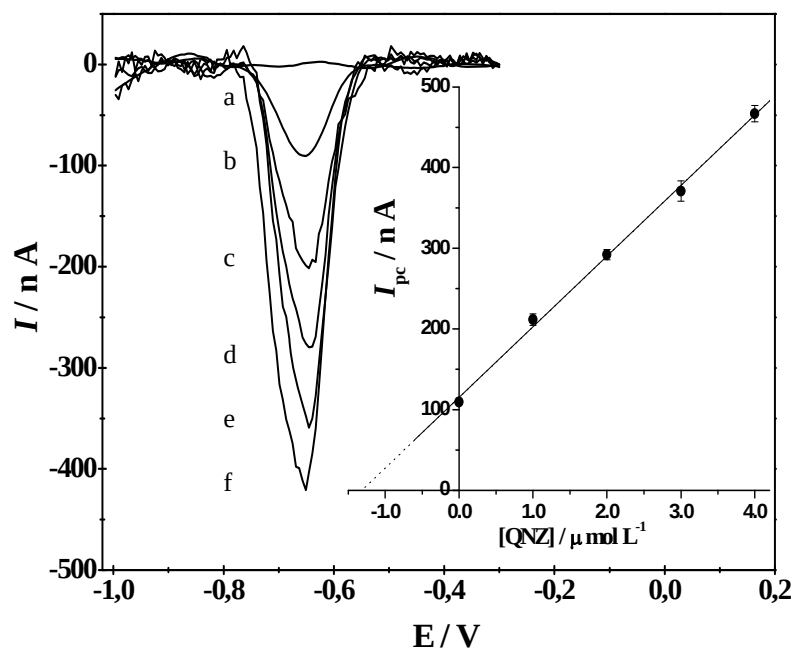


Figura 29 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. (a) Amostra de querosene contendo $1,50 \text{ mg L}^{-1}$ de QNZ após extração, (b-e) adições sucessivas de $5,00 \text{ μL}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ. (Inserção): Curva de adição do padrão obtida. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

O método proposto também foi empregado para quantificação do corante em uma amostra de diesel. Amostra de diesel contendo $2,50 \text{ mg L}^{-1}$ do padrão de QNZ propositalmente adicionado, foi submetida ao procedimento de extração (seção 2.3.1.4) e a análise voltamétrica mostrou que o perfil voltamétrico não foi afetado por espécies interferentes proveniente da matriz (Figura 30, voltamograma b). Resultados semelhantes foram obtidos para as respectivas adições de $5,00 \text{ μL}$ do padrão, os quais revelam não haver influência significativa do efeito de matriz e perfis voltamétricos bem definidos são verificados (Figura 30, voltamogramas c-f). A curva de adição de padrão apresentada na Figura 30 (Inserção) foi linear segundo a equação: $I_{pc} \text{ (nA)} = 108 + 9,75 \times 10^7 \times C_{QNZ} \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$ com $r = 0,999$ e limite de quantificação calculado de $9,10 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Na Tabela 10 são apresentados os resultados da eficiência de extração obtidos para os níveis de concentração estudados e os valores de % de desvio padrão relativo (DPR), os quais permitem avaliar a precisão do método proposto. Estes resultados apresentam valores satisfatórios, levando em consideração os limites de valores estipulados na literatura que é cerca de 15,0% para o nível de concentração avaliado [105, 106] e, também baseado nos

propósitos deste trabalho indicando que o método pode alternativamente aplicado na análise deste corante em amostras de combustíveis.

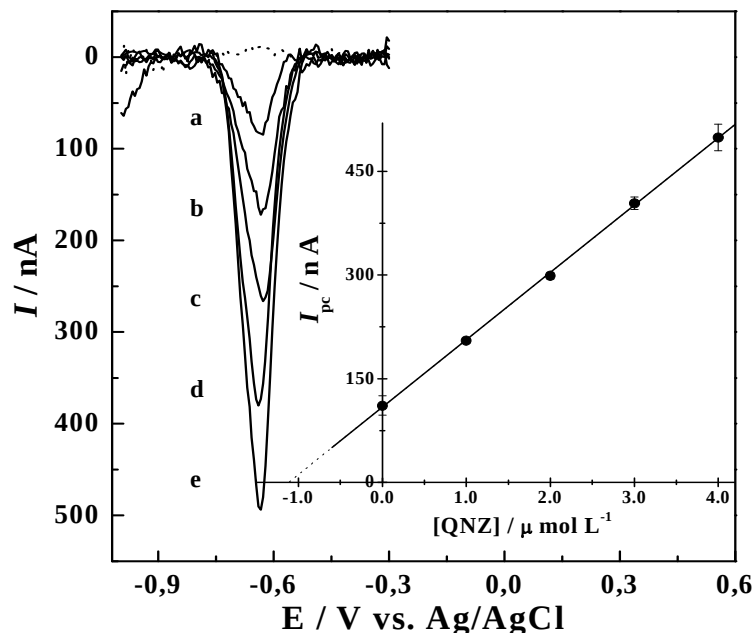


Figura 30 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície de ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de CTAB. (a) 1,00 mL de amostra de diesel contendo $2,50 \text{ mg L}^{-1}$ de QNZ. (b-e) adições sucessivas de $5,00 \mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de QNZ. (Inserção): Curva de adição do padrão obtida. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Tabela 10 - Avaliação estatística dos resultados obtidos para a determinação de QNZ em amostras de querosene e óleo diesel.

Matriz	Adicionado (mg L^{-1})	Encontrado (mg L^{-1})	Eficiência (%)	DPR (%)
Querosene ^[a]	2,50	2,10	84,0	3,20
Querosene ^[a]	1,50	1,48	98,7	8,70
Diesel ^[a]	2,50	2,42	96,8	7,00

^[a] média de quatro determinações; DPR: desvio padrão realtivo.

3.2.6. Considerações Finais Sobre a Eletroanálise de QNZ em Amostras de Combustíveis

Os resultados experimentais obtidos com a técnica de voltametria cíclica sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo evidenciaram que a oxidação da QNZ apresenta características de um processo eletródico reversível, mas complicado por reações químicas acopladas e fortemente influenciado pelo fenômeno de adsorção. A análise de alguns dos critérios de diagnósticos pela técnica de VOQ mostrou concordância com aqueles obtidos previamente com a técnica de voltametria cíclica. A correlação desses resultados diagnosticados com aqueles encontrados na literatura para o estudo do comportamento eletroquímico de compostos contendo grupos similares reforça estas evidências.

Em termos de propósitos analíticos, a técnica voltamétrica de onda quadrada apresentou maior potencialidade em comparação às demais, principalmente por apresentar um maior sinal analítico e principalmente por requerer um menor tempo de análise, de modo que, seus principais parâmetros foram otimizados e forneceram uma melhora bastante significativa nos perfis voltamétricos e limite de quantificação. A quantificação de QNZ em amostras de combustíveis, a partir do monitoramento do sinal de oxidação, sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo foi possível apenas adotando um procedimento prévio de extração e purificação, cujo procedimento mostrou ser eficiente não sofrendo interferências associadas aos constituintes da matriz, mas requer longas etapas e manuseio da amostra.

De acordo com os resultados experimentais obtidos para a redução eletroquímica da QNZ sobre a superfície dos eletrodos de carbono impressos (ECIs) usando as técnicas de VC e VOQ na presença de surfactantes, também evidenciou características de um processo eletródico reversível e complicado por reações químicas acopladas. Aplicando alguns dos critérios de diagnósticos empregados para caracterizar o tipo de processo eletródico, observou-se que a presença do surfactante catiônico CTAB minimizou a influência das reações químicas paralelas. O uso do surfactante permitiu aumentar consideravelmente a solubilidade destas substâncias no meio e consequentemente diminuir a quantidade de solvente orgânico necessária, uma vez que, maior quantidade de solvente orgânico afetaria drasticamente a composição do material eletródico. Além disso, aumentou significativamente a estabilidade desses dispositivos eletródicos no meio eletrolítico empregado, cuja condição permitiu usar um mesmo eletrodo em mais de 20 medidas experimentais.

Alguns fatores podem ser destacados os quais foram fundamentalmente importantes com os estudos realizados usando surfactante principalmente. Entre os quais destacam-se: i) o

deslocamento do E_p para um valor menos negativo diminuindo o sobrepotencial de redução desta substância, ii) a ampliação significativa do sinal potencializando sua aplicação para fins analíticos, iii) a estabilidade da corrente em diversas medidas mesmo sendo observado o efeito adsorativo da substância sobre a superfície eletródica, neste caso um tempo de espera de aproximadamente 35,0 s foi suficiente para regenerar a superfície e, iv) melhora na reversibilidade do processo observado principalmente com a técnica de VOQ onde, foi possível notar com maior nitidez o sinal na componente de corrente reversa, cujo comportamento melhora consideravelmente a sensibilidade da técnica.

A quantificação da QNZ nas amostras de combustíveis apresentou resultados satisfatórios, cujo monitoramento da redução sobre a superfície do ECI na condição de análise foi possível simplificando consideravelmente a etapa prévia de extração e purificação do analito. Características favoráveis com o uso deste tipo de material eletródico como baixo custo, simplicidade e praticidade, podem torná-los competitivos com outras metodologias dedicadas à determinação de espécies químicas em baixas concentrações. Estas características são ainda mais acentuadas, pois apesar da fraca solubilidade dessas substâncias em meio aquoso ou contendo baixa quantidade de solventes orgânicos, essas limitações poderem ser superadas a partir do uso de surfactantes. Além disso, um pequeno volume de solução é usado, o que torna este método ainda mais atraente na análise destas substâncias em matrizes complexas tais como aquelas provenientes de combustíveis.

3.3. Redução Eletroquímica do Corante SB-14 Sobre Eletrodo de Carbono Vítreo

De acordo com estudos realizados com a QNZ, observou-se que devido a uma menor volatilidade e maior viscosidade do DMF em relação aos demais solventes orgânicos, os resultados eletroquímicos obtidos foram mais satisfatórios. Deste modo, os estudos eletroquímicos sobre superfície do ECV envolvendo o corante SB-14 foram realizados adotando o meio contendo tampão Britton-Robinson / DMF, no entanto, devido à característica menos polar do SB-14, a proporção de eletrólito suporte utilizado foi de (1:1, v/v).

A Figura 31 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para o branco (Figura 31, voltamograma A) e redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 (Figura 31,

voltamograma **B**) em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 50,0% de DMF. Na Figura 31B, verifica-se que o voltamograma cíclico obtido é caracterizado por um pico de redução bem definido em aproximadamente $-0,39 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ (I_{pc}), o que foi atribuído à redução do grupo quinona presente na molécula do corante SB-14. Na varredura reversa também é possível detectar a ocorrência de dois picos bem menos intensos, um em aproximadamente $-0,30 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ (I_{pa1}) e outro em $-0,18 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ (I_{pa2}), atribuídos a oxidação de espécies eletrogeradas na etapa anterior. A similaridade estrutural entre o corante SB-14 e a QNZ pela presença dos grupos quinona nas posições 9 e 10 indicam que a redução eletroquímica de ambos ocorre de modo semelhante.

A redução eletroquímica do SB-14 foi marcadamente dependente do pH do tampão B-R, cujos os voltamogramas cíclicos mostrados na Figura 32 registrados para detecção de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante em diferentes valores de pH confirmam o envolvimento de reações de pré-protonação acoplado ao processo eletródico. Como pode ser visto, três picos bem definidos são visualizados com potenciais de $-0,40 \text{ V}$ (pH 2,40), $-0,60 \text{ V}$ (pH 5,10) e em $-0,75 \text{ V}$ (pH 8,00) (voltamogramas, **A**, **B** e **C**, respectivamente), os quais mostram claramente que a redução do corante SB-14 em meio prótico é favorecida em meio ácido, sendo estes concordantes com resultados obtidos previamente e reportados na literatura para redução de compostos antraquinonas [98, 102].

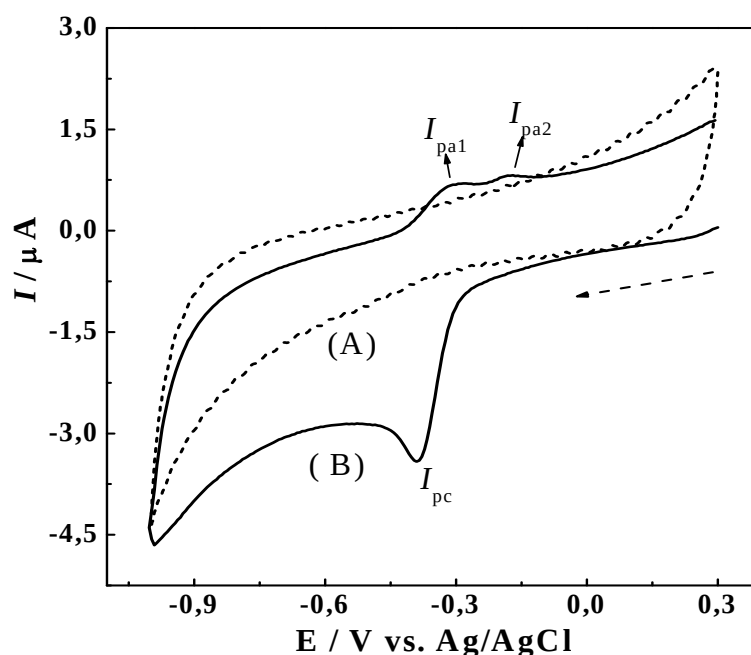


Figura 31 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,00 contendo 50,0% de DMF para: (A) Eletrólito de suporte e (B) presença de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

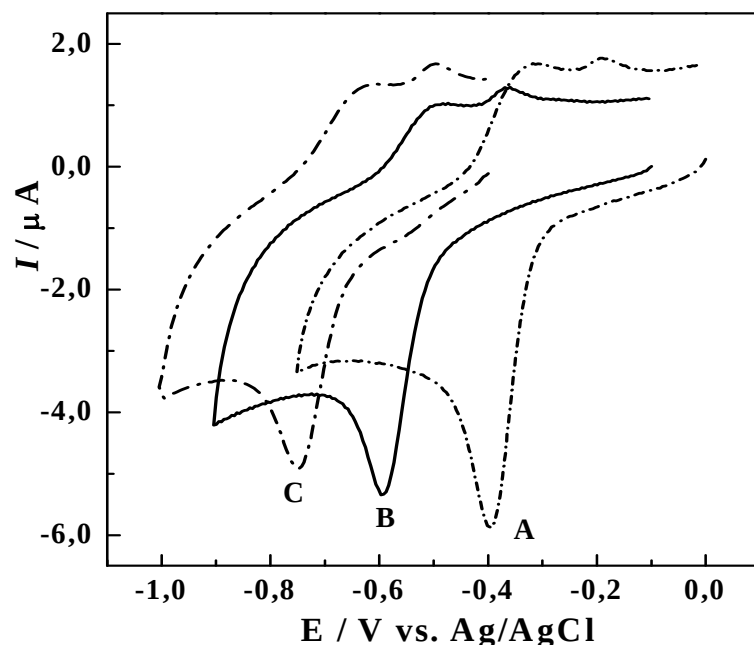


Figura 32 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 50,0% de DMF em valores de pH (A) 2,40 (B) 5,10 e (C) 8,00. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A análise do comportamento voltamétrico mediante a variação da ν no intervalo de 10 a 1000 mV s^{-1} foi investigado sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40; 5,10 e 8,00 contendo 50,0% de DMF. Voltamogramas cíclicos mostrados na Figura 33A revelam que o aumento da ν aumenta significativamente os picos anódicos observados na varredura reversa, evidenciam que o processo eletródico na condição experimental adotada corresponde ao de uma transferência eletrônica perturbada por reações químicas acopladas. Os parâmetros eletroquímicos extraídos dos voltamogramas cíclicos (Figura 33A) utilizados como critérios para a caracterização do comportamento voltamétrico do corante SB-14 estão reunidos na Tabela 11.

A partir dos valores dos parâmetros voltamétricos obtidos para a redução eletroquímica do corante SB-14 e reunidos na Tabela 11, observa-se ainda que em todos os valores de pH estudados, um pequeno deslocamento (cerca de 7 mV) do E_{pc} para valores mais negativos com o aumento da ν no intervalo de 10 a 500 mV s^{-1} é observado. Estes resultados, novamente evidenciam que a redução eletroquímica do corante SB-14 ocorre reversivelmente em concordância com o esperado teoricamente, mas influenciada por reação química subsequente a transferência eletrônica [96].

Conforme se observa na Figura 33B, a I_{pc} e a ν apresentaram relações lineares entre os intervalos de 10 a 250 mV s^{-1} , segundo a equação $I_{pc} (\mu\text{A}) = 0,68 + 0,02 \times \nu (\text{mV s}^{-1})$, $r = 0,997$ e de 300 a 1000 mV s^{-1} com equação $I_{pc} (\mu\text{A}) = 2,22 + 0,02 \times \nu (\text{mV s}^{-1})$, $r = 0,999$. A relação linear apresentada entre a I_{pc} e a ν indica que a redução eletroquímica do corante SB-14 ocorre por adsorção.

A análise dos valores obtidos para função corrente ($I_{pa} / \nu^{1/2}$) apresentados na Tabela 11 mostra que estes apresentam pouca dependência com a ν em baixos valores (250 mV s^{-1} , por exemplo), o que, segundo os critérios de diagnósticos reportados na literatura é característico de uma transferência eletrônica reversível com reações químicas acopladas [97]. Assim, analisando os parâmetros voltamétricos obtidos para redução do corante SB-14 avaliando-se a variação da ν é possível verificar que na condição adotada, a transferência eletrônica ocorre reversivelmente, mas perturbada por reações químicas acopladas e pelo fenômeno de adsorção.

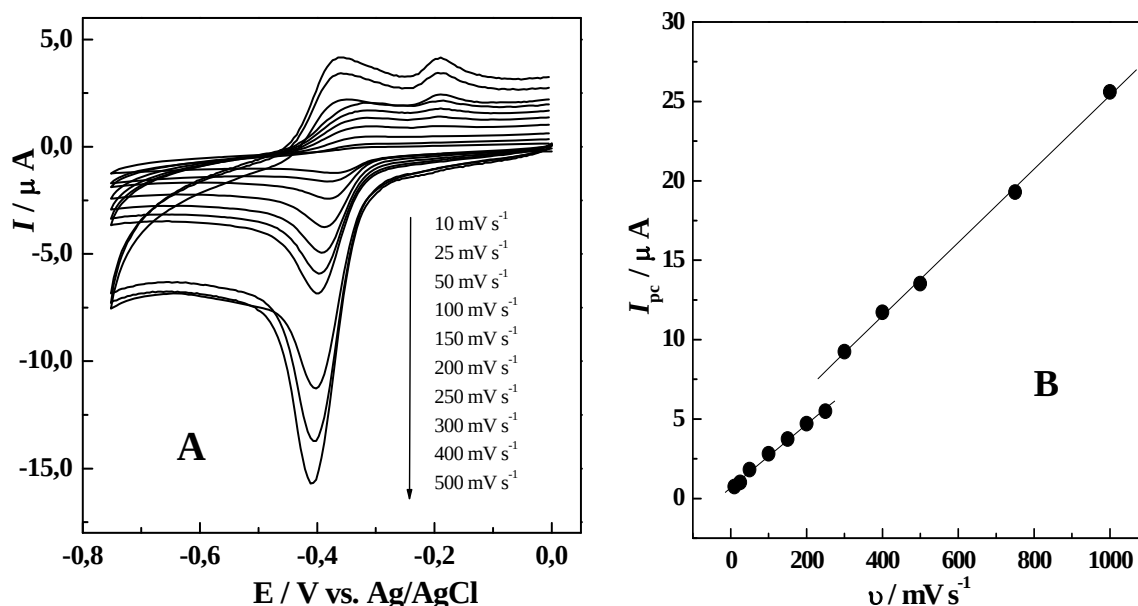


Figura 33 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície de carbono vítreo em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF para diferentes valores de ν . (B) Variação da corrente de pico em função da ν .

Tabela 11 - Parâmetros voltamétricos obtidos para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 em tampão B-R (0,10 mol L⁻¹) pH 2,40; 5,10 e 8,00 contendo 50,0% de DMF.

ν	pH 2,40				pH 5,10				pH 7,95			
	I_p	$-E_p$	$E_p-E_{p/2}$	$I_p \nu^{-1/2}$	I_p	$-E_p$	$E_p-E_{p/2}$	$I_p \nu^{-1/2}$	I_p	$-E_p$	$E_p-E_{p/2}$	$I_p \nu^{-1/2}$
10	0,75	0,37	40	0,24	0,68	0,55	42	0,22	0,41	0,70	31	0,13
25	1,01	0,37	42	0,20	1,11	0,56	42	0,22	0,67	0,71	35	0,13
50	1,81	0,38	42	0,25	1,68	0,56	46	0,24	1,14	0,72	36	0,16
100	2,82	0,38	43	0,28	2,55	0,58	46	0,25	1,73	0,73	37	0,17
150	3,75	0,39	44	0,31	3,55	0,58	45	0,29	2,37	0,74	40	0,19
200	4,70	0,39	44	0,33	4,35	0,59	48	0,31	2,72	0,75	44	0,19
250	5,50	0,39	42	0,35	5,25	0,59	50	0,33	3,32	0,75	44	0,21
300	9,25	0,40	44	0,53	6,51	0,59	51	0,38	3,81	0,76	46	0,22
400	11,72	0,40	43	0,58	8,50	0,60	52	0,43	4,54	0,76	47	0,23
500	13,53	0,41	47	0,60	11,90	0,62	57	0,53	5,27	0,77	49	0,23

$$\nu = \text{mV s}^{-1}; I_p = \mu\text{A}; -E_p = \text{V}; E_p-E_{p/2} = \text{mV}; I_p \nu^{-1/2} = \mu\text{A (mV s}^{-1})^{-1/2}$$

Analisando o comportamento voltamétrico do corante SB-14 frente a obtenção de voltamogramas sucessivos, foi observada uma queda bastante acentuada dos valores de corrente do primeiro para o segundo ciclo (Figura 34). Todavia, após o segundo ciclo verifica-se que os valores de corrente não sofrem variações significativas permanecendo praticamente constante até o quinto ciclo. Novamente, este comportamento eletroquímico sugere que a redução do corante SB-14 ocorre fortemente influenciada pelo fenômeno de adsorção do reagente e/ou produto, de maneira bastante análoga ao verificado anteriormente para redução eletroquímica da QNZ adsorvida na superfície do eletrodo de carbono vítreo [98].

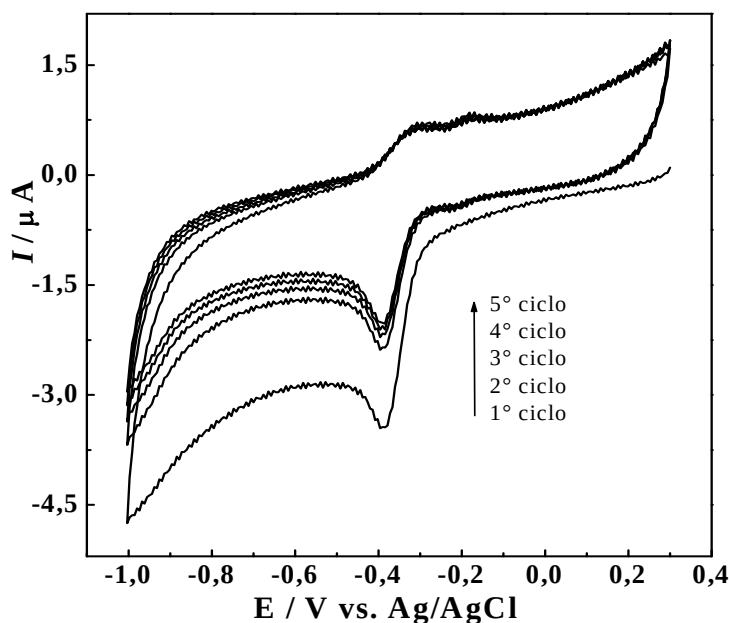


Figura 34 - Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para redução de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.3.1. Redução Eletroquímica do Corante SB-14 por Voltametria de Onda Quadrada

A redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF apresenta picos bem definidos em aproximadamente -0,40 mV vs. $Ag/AgCl$ (Figura 35) para separação das componentes de correntes direta (I_d) (voltamograma a), inversa (I_i) (voltamograma b) e resultante (I_r) (voltamograma c). De acordo com os voltamogramas, a presença do pico bem definido na componente da corrente inversa, confirma que o processo é eletroquimicamente reversível. No entanto, devido a menor intensidade do sinal na componente da corrente inversa em relação a componente da corrente direta a transferência eletrônica é perturbada pela ocorrência de reações químicas acopladas ao processo. Porém, devido ao fato de a velocidade de varredura em VOQ ser efetivamente mais rápida [99, 100] que em VC, as reações químicas paralelas influenciam menos no processo eletródico e, assim, o sinal na componente da corrente inversa pode ser mais facilmente observado.

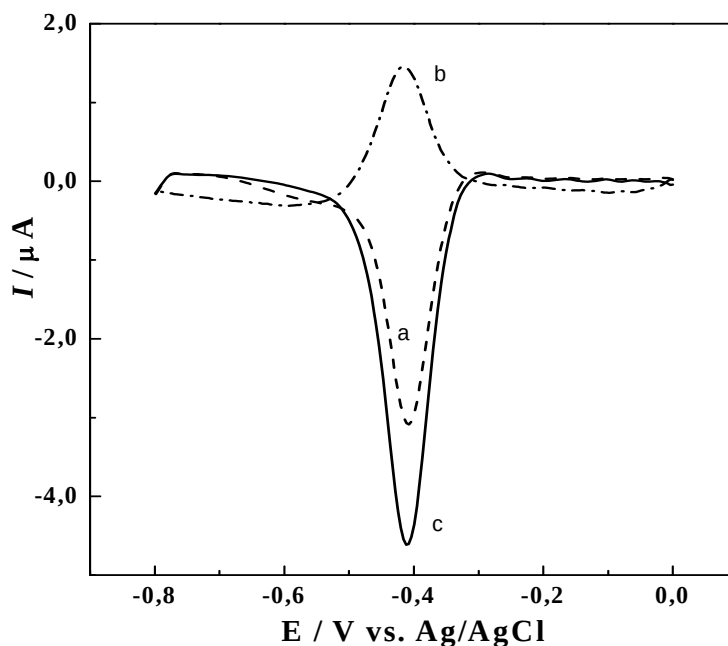


Figura 35 - Voltamograma de onda quadrada registrado para redução de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. (a) I_d , (b) I_r e (c) I_i . Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 4$ mV, $E_{sw} = 25$ mV.

Estudos também foram realizados empregando outros modos de varredura comparando a intensidade do sinal obtido pelas técnicas de voltametria de pulso diferencial (VPD), voltametria de onda quadrada (VOQ) e voltametria de varredura linear (VVL) visando propósitos analíticos. Voltamogramas obtidos para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 em meio de tampão B-R pH 2,40 contendo 50,0% de DMF são mostrados na Figura 36. A comparação do sinal obtido pela técnica de VOQ, $E_p = -0,41$ V (Figura 36A), mostra que este é bastante superior aquele obtido pela técnica de VPD, $E_p = -0,39$ V (Figura 36B), e ainda mais intenso do que o obtido pela técnica de VVL, $E_p = -0,42$ V (Figura 36C).

Assim, os resultados indicam que a técnica de VOQ é marcadamente superior as demais técnicas eletroanalítica quanto a detectibilidade, de modo que, foi escolhida nos estudos futuros envolvendo desenvolvimento de métodos analíticos quantitativos para detecção deste corante em amostras de combustíveis.

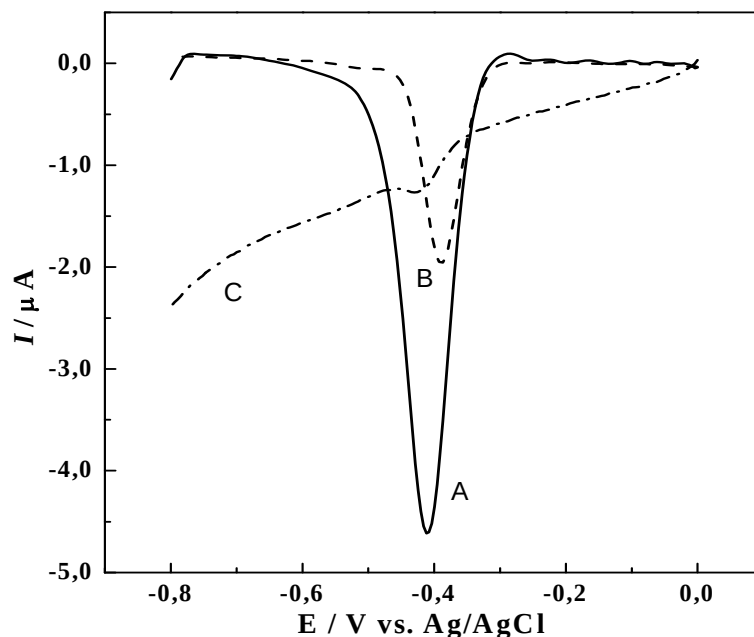


Figura 36 - Voltamogramas de (A) onda quadrada, (B) pulso diferencial e (C) varredura linear registrado para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. Parâmetros: (VOQ) $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$. (VPD) $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$. (VVL) $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.3.2. Efeito do pH

Na sequência, investigou-se a influência do pH na resposta voltamétrica analisando-se os parâmetros de I_{pc} e do E_{pc} na redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 50% de DMF. A análise da Figura 37 revela que o aumento nos valores de pH de 1,2 para 8,0 promove variações bastante significativas no comportamento da I_{pc} e do E_{pc} . Além disso, um deslocamento do E_{pc} para valores mais negativos é observado com o aumento do pH condicional do meio, cujo comportamento novamente revela o envolvimento de reação de protonação.

Dois seguimentos lineares são observados, um em $\text{pH} \leq 3,00$ e outro em $4,00 \leq \text{pH} \leq 9,00$ (Figura 37A), interceptando-se em um valor de pH ao redor de 3,00. A relação linear verificada em $4,00 \leq \text{pH} \leq 9,00$ segue a equação de regressão linear: $E_{pc}(\text{mV}) = -245 - 62,7 \times \text{pH}$ ($r = 0,998$). A partir da inclinação de $62,7 \text{ mV pH}^{-1}$ obtida para a relação E_{pc} vs. pH, a aplicação da equação: $\Delta E_p / \Delta \text{pH} = 59 m_{H^+} / n$, atribuindo que dois elétrons estejam sendo envolvidos na etapa eletroquímica, um valor de m_{H^+} de 2,10 é obtido, ou seja, dois prótons estão sendo envolvidos na etapa química. Estes resultados novamente

estão em concordância com aqueles obtidos para redução eletroquímica da QNZ [98, 102], indicando que os mesmos grupos estão sendo envolvidos no processo eletródico.

Analisando-se o comportamento da I_{pc} em função do aumento do pH, verifica-se valores máximo somente para valores de pH ao redor de 2,00 (Figura 37B). A partir de pH 2,00 observa-se uma queda bastante pronunciada na intensidade da I_{pc} até pH 5,00 mantendo-se praticamente constante até pH 8,00 e praticamente desaparece em um valor de pH igual a 9,00. Outra vez, este comportamento revela a existência de diferentes espécies iônicas refletindo o envolvimento do equilíbrio de protonação do grupo quinona na molécula do corante.

Portanto, a melhor condição para redução eletroquímica do corante sobre a superfície do ECV acontece em tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH ao redor de 2,00 contendo 50,0% de DMF, de modo que, esta condição foi escolhida para propósitos analíticos.

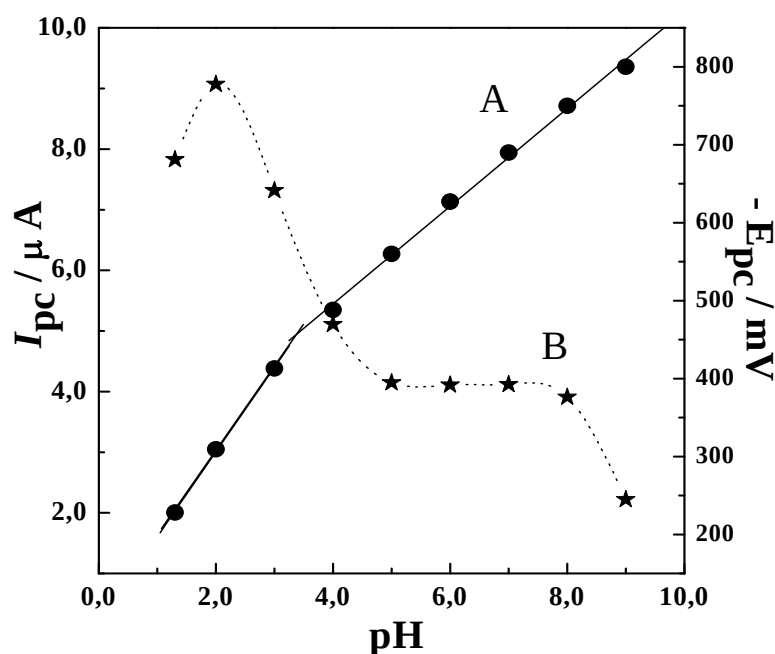
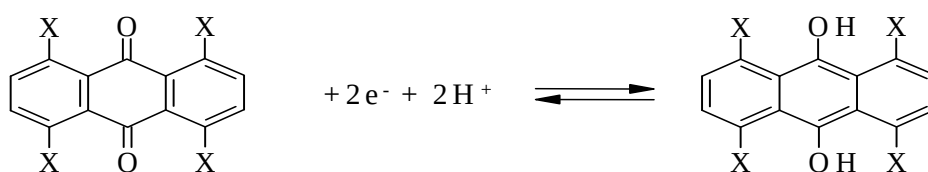


Figura 37 - Influência do pH na resposta do potencial de pico (A) e na corrente de pico (B) para redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 50,0% de DMF. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 4$ mV, $E_{sw} = 25$ mV.

Baseado em informações disponíveis na literatura [98, 103, 104], no intervalo de potencial de 0 à -0,80 V vs. ECS a redução eletroquímica de compostos contendo grupos antraquinonas em diferentes meios eletrolíticos ocorre via redução da quinona central para formar a espécie totalmente reduzida, cujo mecanismo envolve a transferência reversível de

dois elétrons e dois prótons (esquema 4). Entretanto, devido ao fenômeno de adsorção e equilíbrios envolvendo ligações intermoleculares de hidrogênio [98] esta reação pode envolver várias etapas e, dependendo da condição pode haver o desmembramento do pico para formar dois picos com um elétron cada.

Assim, mesmo com a presença do surfactante DSS é provável que o sinal voltamétrico em aproximadamente -0,30 V vs. Ag/AgCl esteja associado à redução do grupo quinona central formando a espécie reduzida correspondente, como mostrado no esquema simplificado a seguir.



Esquema 4 - Esquema de redução eletroquímica previsto para compostos antraquinonas em diferentes meios [98, 103, 104]. X pode ser diferentes grupos substituintes.

3.3.3. Otimização dos Parâmetros Instrumentais e Obtenção da Curva de Calibração Analítica

Como foi mostrado anteriormente nos estudos da melhor condição de trabalho para a oxidação eletroquímica da QNZ, a corrente de pico depende, marcadamente, dos parâmetros operacionais da técnica voltamétrica de onda quadrada. Deste modo, todos os parâmetros instrumentais passíveis de otimização nesta técnica, visando melhora na intensidade da corrente de pico também foram avaliados.

Dentre estes parâmetros instrumentais foram investigados: a frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), o incremento de potencial (ΔE_s) e a amplitude de aplicação dos pulsos de potencial (E_{sw}). Novamente, a escolha da melhor condição de trabalho em termos da análise destes parâmetros foi realizada levando-se em consideração aquele valor que proporcionasse maior intensidade de corrente sem comprometimento da resolução voltamétrica, neste caso, avaliando a largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$). De acordo com a análise desses parâmetros a melhor condição de trabalho visando o desenvolvimento de um método eletroanalítico para quantificação do corante SB-14 em amostras de combustíveis podem ser visualizadas na Tabela 12.

Tabela 12 - Parâmetros experimentais otimizados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 sobre a superfície de carbono vítreo em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF.

Parâmetros avaliados	Intervalo avaliado	Valor escolhido
Frequência (f)	10 a 90 Hz	60 Hz
Amplitude do pulso (E_{sw})	10 a 100 mV	50 mV
Incremento de potencia (ΔE_s)	2 a 10 mV	4-6 mV

A análise do comportamento voltamétrico do corante SB-14 frente à influência da f mostrou que a I_{pc} variou linearmente com a $f^{1/2}$ somente para valores de 10 até 60 Hz, cuja relação linear apresentou a seguinte equação: $I_{pc} (\mu A) = -2,02 + 1,47 \times f^{1/2} (Hz^{1/2})$, com coeficiente de correlação linear de 0,999. Este resultado novamente é indicativo de um processo eletródico reversível controlado por adsorção [99, 100].

Após estabelecida a melhor condição de trabalho para redução eletroquímica do corante SB-14 em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF, voltamogramas de onda quadrada foram registrados em diferentes concentrações do corante. A Figura 38 exibe os voltamogramas obtidos em um intervalo de concentração de $1,00 \times 10^{-6}$ a $6,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

A partir dos valores de I_{pc} obtidos dos voltamogramas (Figura 38A), uma curva analítica foi construída (inserção, Figura 38), em que cada ponto representa à média de três medidas experimentais. Uma relação linear foi obtida em todo intervalo de concentração estudado com equação de regressão linear: $I_{pc}(\mu A) = -0,33 + 1,28 \times 10^6 \times C_{SB-14} (mol L^{-1})$, $r = 0,999$. Os valores dos parâmetros analíticos obtidos para esta curva estão reunidos na Tabela 13. Com base nos parâmetros analíticos apresentados na Tabela 13 também foi possível calcular o LD para o sistema de detecção usando o tratamento estatístico previamente descrito: $(3 \times DP/b)$. O valor obtido para o LD foi $2,86 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, revelando que o sistema possui detectibilidade suficiente para ser empregado na determinação quantitativa do corante SB-14 em amostras de combustíveis.

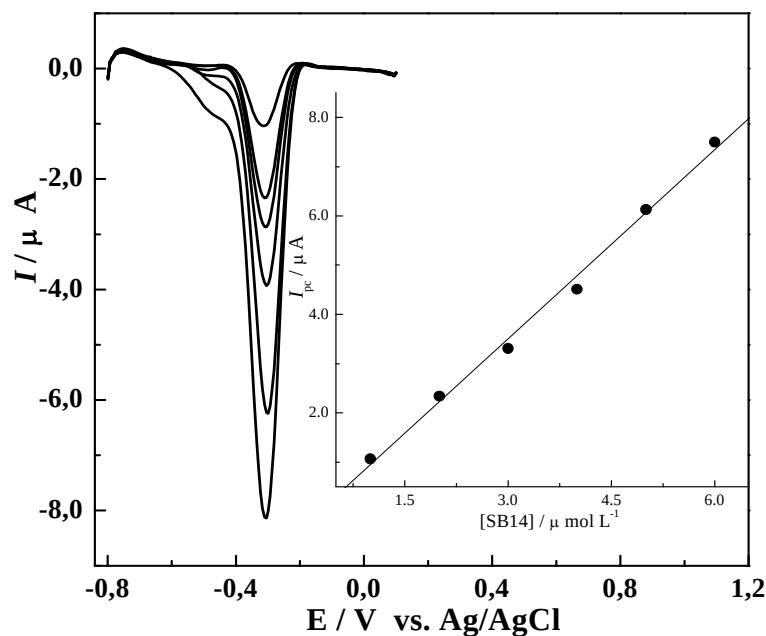


Figura 38 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF para diferentes concentrações do corante SB-14. (Inserção) Dependência da I_{pc} em função da concentração do corante SB-14. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 6$ mV e $E_{sw} = 50$ mV.

Tabela 13 - Parâmetros analíticos obtidos da curva analítica mostrada na Figura 38 comparado com o método espectrofotométrico desenvolvido como referência e apresentado na seção 3.4.

Parâmetros	Método proposto	Espectrofotométrico	
		$\lambda = 590$ nm	$\lambda = 640$ nm
Intervalo linear (mol L ⁻¹)	$(1,00-6,00) \times 10^{-6}$	$(2,00-10,0) \times 10^{-6}$	$(2,00-10,0) \times 10^{-6}$
Intersecção (μA)	-0,33	$4,90 \times 10^{-3}$	$5,80 \times 10^{-3}$
Inclinação (μA L mol ⁻¹)	$1,30 \times 10^6$	18850	21500
Coefficiente de Correlação (r)	0,998	0,998	0,999
LD (mol L ⁻¹)	$2,90 \times 10^{-7}$	$7,20 \times 10^{-7}$	$5,00 \times 10^{-7}$

3.3.4. Determinação de SB-14 em Amostras de Combustíveis

O método desenvolvido foi aplicado para a determinação do corante SB-14 em amostras de álcool combustível e querosene de aviação. Para as amostras de álcool contendo 5,00 mg L⁻¹ do corante SB-14 o uso do procedimento inicialmente adotado na parte experimental (seção 2.3.1.5) não provocou qualquer problema decorrente de interferência dos componentes da matriz.

Assim, alíquota contendo 1,0 mL de amostra de álcool contendo 5,00 mg L⁻¹ do corante SB-14 propositalmente adicionada foi diluída para 10 mL diretamente na célula eletroquímica com a solução do tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 2,40 e DMF (1:1, v/v). O registro de voltamogramas para a amostra de álcool contendo o padrão e misturada com a solução do eletrólito suporte, revelou que não há picos de corrente nessa amostra (Figura 39, voltamograma a) que possam interferir na detecção precisa dos picos de corrente para o composto em análise. Assim, estudos de eficiência de extração pelo método da adição do padrão foram realizados e, igualmente, os perfis voltamétricos obtidos para as respectivas adições do padrão (Figura 39, voltamogramas b-d), mostram que nenhuma espécie interferente é observada. A curva de adição de padrão apresentada na Figura 39 (inserção) foi linear segundo a equação: $I_{pc} (\mu A) = 3,31 + 2,60 \times 10^6 \times C_{SB-14} (mol L^{-1})$, $r = 0,998$ e limite de quantificação de $8,50 \times 10^{-7} mol L^{-1}$, calculado empregando a relação $(10 \times DP/b)$. Conforme pode ser visto, nenhuma mudança significativa é observada na obtenção das curvas de adição do padrão o que confirma a pouca influência do efeito de matriz. A eficiência de extração obtida para este caso foi entre 84,0 e 98,8% (Tabela 14), demonstrando que o método proposto pode ser uma alternativa viável na determinação do corante SB-14 em amostras de álcool combustível.

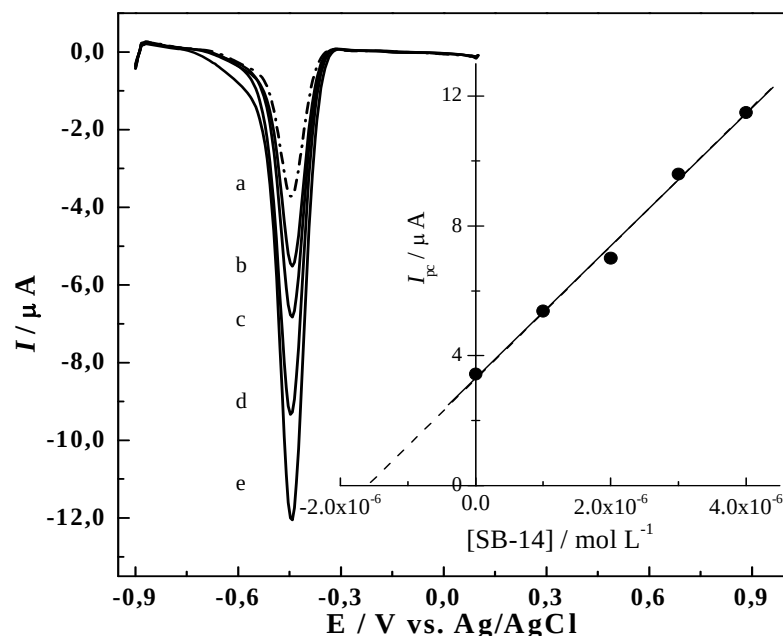


Figura 39 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície de carbono vítreo em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. (a) Amostra de querosene contendo do corante, (b-e) adições de $10,0 \text{ }\mu\text{L}$ de solução padrão do corante SB-14 $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. (Inserção) Curva de adição de padrão obtida para a determinação de SB-14 na amostra de querosene. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Do mesmo modo, o registro de voltamogramas para a amostra de querosene “Jet A1” contendo $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ do corante SB-14 após ser submetida ao procedimento de extração (seção 2.3.1.6) mostra que o perfil voltamétrico não foi afetado por espécies interferentes oriundas da matriz (Figura 40, voltamograma a). Ao mesmo tempo, os perfis voltamétricos obtidos para as respectivas adições do padrão (Figura 40, voltamogramas b-e), mostram que não há problemas com sobreposição de picos de corrente que possam causar interferências na detecção. A curva de adição de padrão apresentada na Figura 40 (inserção) foi linear seguindo a equação de regressão: $I_{pc} (\mu\text{A}) = 3,31 + 2,03 \times 10^6 \times C_{\text{SB-14}} (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,998$, com limite de quantificação calculado para o método de $9,10 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Conforme pode ser visto, o coeficiente angular obtido para curva de adição de padrão é próximo ao obtido pela curva analítica construída com o padrão do corante SB-14 puro apresentado na Tabela 13. Novamente, estes dados confirmam que não houve qualquer efeito associado a matriz, o que torna o método satisfatório para a quantificação deste corante nesta matriz.

A Tabela 14 reúne todos os resultados obtidos para eficiência de extração do corante SB-14 na amostra de querosene, onde os valores encontrados estão entre 87,0 e 98,0 %, indicando que o método pode ser alternativamente aplicado na análise deste corante nas matrizes avaliada.

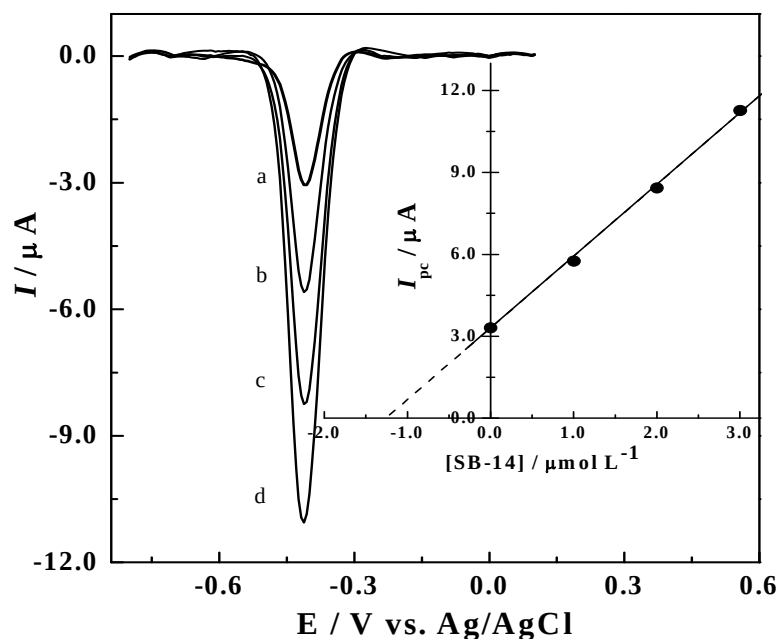


Figura 40 - Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECV em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,40 contendo 50,0% de DMF. (a) Amostra de álcool contendo $1,00 \text{ mL}$ do padrão $5,00 \text{ mg L}^{-1}$, (b-d) adições de $10,0 \text{ μL}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14. (Inserção) Curva de adição de padrão obtida para a determinação de SB-14 na amostra de álcool. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 6 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Tabela 14 - Resultados de eficiência de extração obtidos para adição do corante SB-14 em amostras de álcool e querosene usando o método proposto comparado com um método de referência.

Método de análise	Matriz	Adicionado (mg L^{-1})	Encontrado (mg L^{-1})	Eficiência (%)	DPR (%)
Método proposto	Álcool ^[a]	5,00	4,65	93,0	8,35
	Querosene ^[a]	5,00	4,91	98,2	1,53
	Querosene ^[b]	2,00	1,74	87,0	11,5
Método espectrofotométrico	($\lambda = 590 \text{ nm}$)				
	Querosene ^[a]	5,00	5,42	108	3,15
	Álcool ^[a]	5,00	5,26	105	3,10
	($\lambda = 640 \text{ nm}$)				
	Querosene ^[a]	5,00	5,45	109	3,37
	Álcool ^[a]	5,00	5,47	109	5,05

^[a] média de 3 determinações; ^[b] média de 4 determinações; DPR: Desvio padrão relativo.

3.4. Estudos Espectrofotométricos na Região do UV/Vis

Com a finalidade de obter resultados comparativos que permitam testar a viabilidade de utilização do método eletroanalítico proposto neste trabalho, paralelamente foi desenvolvida uma metodologia para determinação do corante SB-14 empregando a técnica espectrofotométrica na região do UV/Vis.

Experimentos monitorando a detecção no UV/Vis para uma solução $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em ACN, mostrou que este exibe três máximos de absorção com comprimentos de onda de 254, 590 e 640 nm (Figura 41). Entretanto, somente as bandas de absorção em comprimento de onda de 590 e 640 nm exibem relação linear entre a absorbância e a concentração, assim, estes comprimento de onda foram usados para propósitos analíticos. A Figura 42 apresenta os espectros de absorção obtidos para o intervalo de concentração do corante de $2,00 \times 10^{-6}$ a $12,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. A partir dos valores de absorbância obtidos dos espectros, curvas de calibração analítica nos comprimentos de onda de 590 e 640 nm foram construídas. Uma relação linear somente na faixa de concentração de $2,00 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com equação de regressão de $\text{Abs.} = 4,00 \times 10^{-3} + 1,88 \times 10^4 C_{\text{SB-14}} (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,998$ para λ de 590 nm e $\text{Abs.} = 5,00 \times 10^{-3} + 2,00 \times 10^4 \times C_{\text{SB-14}} (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,999$ para λ de 640 nm, respectivamente, cujos valores foram anteriormente mostrados na Tabela 13.

A partir dos parâmetros apresentados na Tabela 13 calculou-se o limite de detecção (LD) usando a relação matemática: $(3 \times \text{DP}/b)$. Em que, **DP** representa o desvio padrão da média aritmética de dez medidas do branco obtidas nos λ de 590 e 640 nm e **b**, a inclinação da curva de calibração. O LD encontra-se representado na Tabela 13, cujo valor indica que a técnica possui detectibilidade suficiente para os propósitos objetivado, de modo que, foi empregada para a determinação do corante SB-14 em amostras de combustíveis.

Assim, o método foi aplicado para a determinação do corante SB-14 em amostras de álcool e querosene a partir do uso do procedimento experimental (seção 2.3.3.1 e 2.3.3.2) empregando o método do padrão externo. Os resultados obtidos para os testes de eficiência de extração, assim como, os valores de **DPR** encontram-se listados na Tabela 14. Comparando estes resultados com aqueles obtidos pelo método eletroanalítico, observa-se que a técnica espectrofotométrica apresenta LD mais elevado (Tabela 13).

Os testes estatísticos calculados para os resultados obtidos com o método proposto e o método de referência mostraram que estes são bem concordantes em termos de precisão e eficiência de extração.

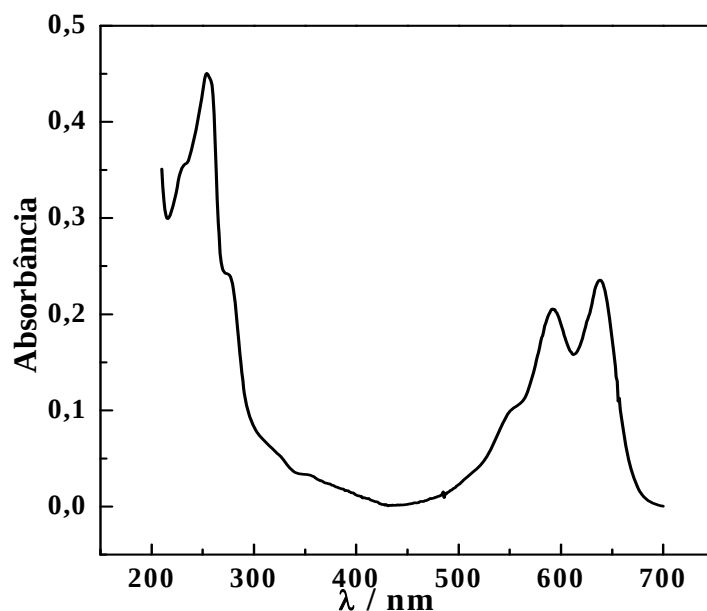


Figura 41 - Espectro de absorção em UV-Vis para uma solução $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em ACN.

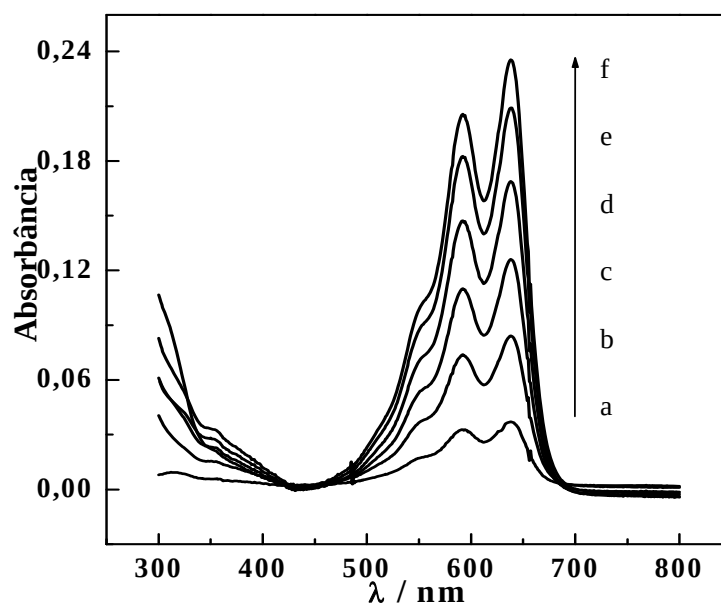


Figura 42 - Espectros de absorção UV-Vis para: (a) $2,00 \times 10^{-6}$, (b) $4,00 \times 10^{-6}$, (c) $6,00 \times 10^{-6}$, (d) $8,00 \times 10^{-6}$, (e) $10,0 \times 10^{-6}$ e (f) $12,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em ACN.

3.5. Redução Eletroquímica do Corante SB-14 Usando Eletrodos de Carbono Impressos

Inicialmente, foi observado que o corante SB-14 apresenta baixa solubilidade em proporções de solvente orgânico inferior a 50,0%. Entretanto, a constituição do material eletródico empregado na detecção deste corante nesta parte do trabalho foi drasticamente afetada pela presença de alta concentração de solvente orgânico, de modo que, condições adaptáveis para dar estabilidade aos eletrodos de carbono impressos foram requeridas.

Assim sendo, realizou-se estudos com o corante SB-14 em meio contendo mistura de tampão B-R e DMF na proporção (7:3, v/v), cuja solubilidade para o composto foi melhorada com o uso de um surfactante aniônico dioctil sulfosuccinato de sódio (DSS). Os estudos realizados adotando esta condição adaptável ao novo sistema de eletrodos estão apresentados a seguir.

O perfil voltamétrico da redução eletroquímica do corante SB-14 sobre a superfície do eletrodo de carbono impresso (ECI, Figura 3I) comparado com aquele obtido sobre a superfície do eletrodo convencional de carbono vítreo usando Ag/AgCl como eletrodo de referência está apresentado na Figura 43. Os experimentos foram conduzidos em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. O voltamograma cíclico obtido para redução do corante SB-14 sobre a superfície do ECV caracteriza-se por um pico catódico em aproximadamente -0,30 V vs. Ag/AgCl com a ocorrência de um pico anódico na varredura reversa em -0,26 V vs. Ag/AgCl, mal definido e com baixa intensidade de corrente. Do mesmo modo, o voltamograma registrado sobre a superfície do ECI apresenta um pico catódico com potencial de pico de -0,29 V vs. Ag/AgCl. Um pico anódico com baixa intensidade de corrente e levemente deformado também é observado na varredura reversa o que caracteriza a oxidação da espécie eletrogerada na superfície eletródica.

Comparando-se o comportamento voltamétrico do corante SB-14 na mesma condição e sob influência desses dois materiais eletródicos, verifica-se que ambos os eletrodos apresentam praticamente o mesmo comportamento, exceto pela intensidade de corrente que é maior para o voltamograma registrado sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo que apresenta uma área geométrica ligeiramente maior. Todavia, o perfil voltamétrico é melhor definido no ECI, cujo comportamento também mostra uma ligeira diminuição da corrente capacitiva, tornando-o bastante atraente e promissor em detecções eletroanalíticas, além da possibilidade de evitar problemas de envenenamento da superfície por serem construídos de materiais descartáveis.

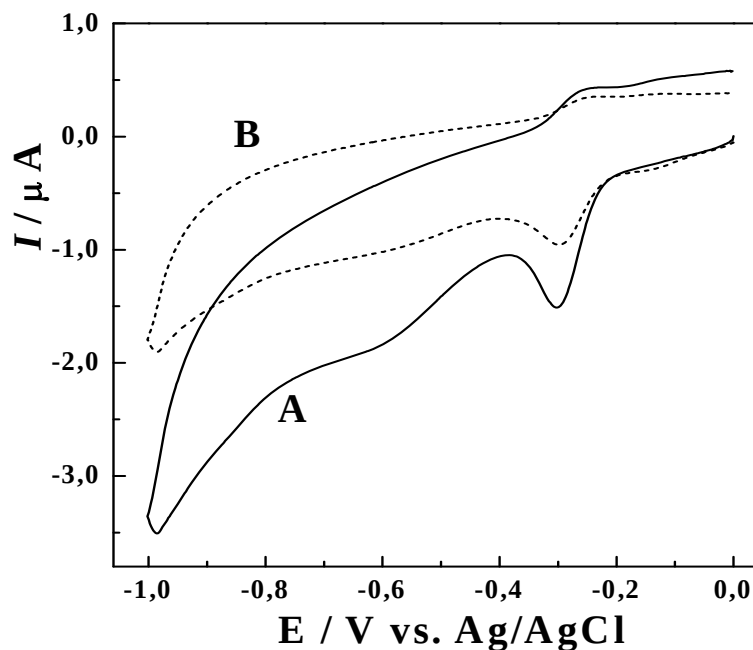


Figura 43 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. (A) eletrodo de carbono vítreo e (B) eletrodo de carbono impresso. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

A redução eletroquímica do corante SB-14 sobre a superfície do eletrodo de carbono impresso (ECI) também foi monitorada registrando-se voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. O voltamograma cíclico obtido nesta condição mostra que a redução do corante SB-14 sobre ECI sem a presença de surfactante é caracterizada por um pico de redução levemente alargado em $-0,71 \text{ V vs. } C_{\text{impresso}}$ (Figura 44A). Entretanto, quando $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS é adicionado à célula eletroquímica contendo o tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 e DMF (7:3, v/v), observa-se uma mudança no comportamento voltamétrico do corante SB-14 e uma maior definição no perfil do pico voltamétrico com potencial de $-0,65 \text{ V}$. Um deslocamento de aproximadamente 60 mV no potencial de pico para valores menos negativo (Figura 44B) acompanhado de um pequeno aumento na intensidade do sinal pode ser observado, o qual marcadamente melhora a performance analítica do sinal. Na varredura reversa é possível detectar a ocorrência de uma leve onda com baixa intensidade de corrente em potencial de pico de aproximadamente $-0,50 \text{ V vs. } C_{\text{impresso}}$, que pode ser atribuído a oxidação da espécie química reduzida eletrogerada na superfície do ECI.

Assim, comparando-se a redução eletroquímica do corante SB-14 nesta condição, verifica-se que, embora não se observe um ganho considerável na intensidade de corrente com o uso do ECI e presença do surfactante DSS, o perfil voltamétrico é melhor definido com uma

ligeira diminuição da corrente residual e uma melhor definição da linha base (Figura 44B). Esta característica pode ser altamente vantajosa, de modo que, possibilita uma melhor discriminação da relação sinal/ruído em função da baixa corrente residual detectada.

Assim sendo, os ECIs mostram-se promissores para utilização na análise do corante SB-14, uma vez que, problemas oriundos de inativação da superfície pela presença de espécies eletrogeradas adsorvidas podem ser simplesmente contornados pelo descarte desses eletrodos após certo período de uso.

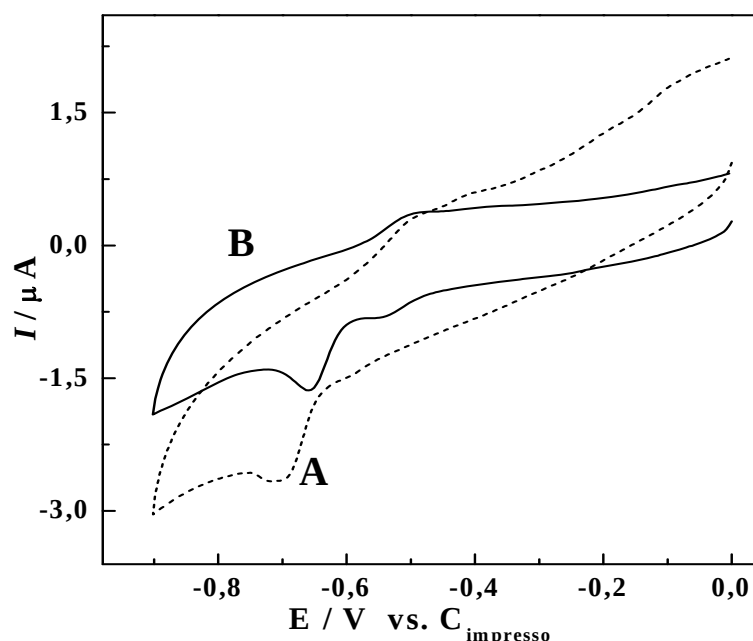


Figura 44 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. (A) Ausência de surfactante e (B) presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

O uso de surfactantes em eletroquímica é bem conhecido e bastante documentado na literatura [83-94]. A presença de agentes tensoativos na composição do eletrólito suporte pode promover algumas alterações favoráveis no processo eletródico e no perfil voltamétrico do pico, as quais são possivelmente devido a alteração da formação da dupla camada elétrica e/ou da formação de par-iônico entre analito/surfactante [91]. Neste caso, a melhora no perfil voltamétrico do corante SB-14 com o uso do surfactante DSS pode estar associada primeiramente ao aumento da solubilidade do corante no meio contendo apenas 30,0% de DMF e/ou favorecimento no processo de transferência de carga pela diminuição do fenômeno da adsorção do produto, o que torna este dispositivo bastante vantajoso em eletroanálises.

De acordo com informações disponíveis na literatura, diferenças na cadeia e cargas dos surfactantes podem promover grandes alterações no comportamento voltamétrico e no processo eletródico. Assim sendo, realizou-se a seguir estudos do comportamento voltamétrico do corante SB-14 na presença do surfactante dodecilsulfato de sódio (SDS) e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) comparando-se com aqueles obtidos na presença do surfactante DSS.

Como esperado, o surfactante catiônico CTAB não promoveu nenhuma mudança significativa na intensidade de corrente e perfil voltamétrico. A Figura 45 mostra os voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 na presença dos surfactantes DSS e SDS, cujo comportamento é caracterizado por grande alteração no perfil voltamétrico. Entretanto, a presença do surfactante DSS foi o que proporcionou melhor diminuição na corrente capacitiva, possivelmente pela maior interação com os grupos protonados do corante SB-14 em pH 2,50 e, conseqüentemente, foi escolhido nas medidas posteriores visando propósitos analíticos.

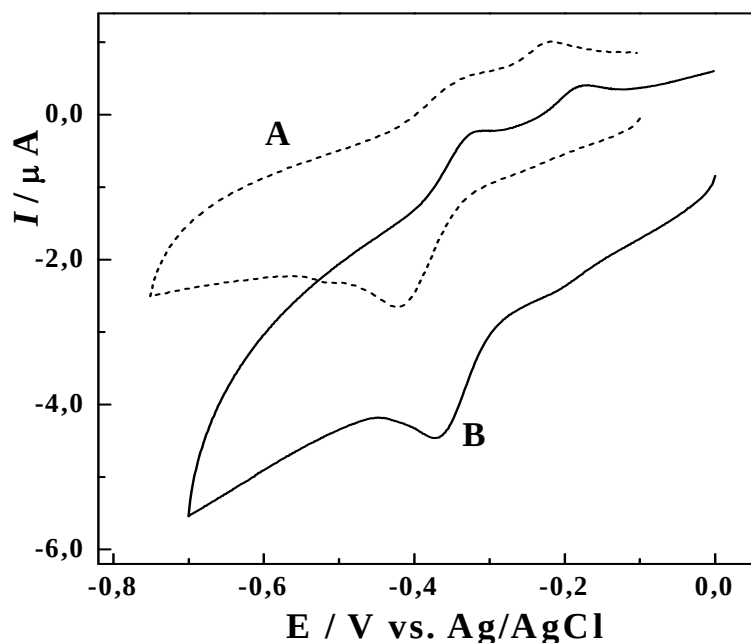


Figura 45 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. (A) presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS e (B) presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante SDS. $v = 200 \text{ mV s}^{-1}$.

A Figura 46 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para comparação do perfil voltamétrico do corante SB-14 usando dois sistemas de referência: o pseudo-referência do próprio eletrodo constituído de tinta de carbono impresso e um eletrodo referência convencional de Ag/AgCl. De acordo com a Figura 46 (voltamograma **B**), verifica-se que o voltamograma cíclico registrado na presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS usando eletrodo de pseudo-referência do próprio ECI é caracterizado por um pico de redução bem definido em aproximadamente $-0,66 \text{ V vs. } C_{\text{impresso}}$ com respectivo pico na varredura reversa em $-0,60 \text{ V vs. } C_{\text{impresso}}$.

Na Figura 46 (voltamograma **C**) é possível verificar que na mesma condição experimental, a redução eletroquímica do corante SB-14 empregando um referência convencional de Ag/AgCl ocorre em $-0,50 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, deslocado 160 mV em relação ao obtido anteriormente com o uso do pseudo-referência do ECI. Em ambos os casos, a presença do pico na varredura reversa foi consideravelmente comprometida, revelando que o processo eletródico é fortemente influenciado por reações paralelas.

O deslocamento do E_p de aproximadamente 160 mV verificado nos voltamogramas registrados com o uso do pseudo-referência do próprio ECI, não foi constante nas repetições usando diversos eletrodos, principalmente em varreduras sucessivas, mostrando que o eletrodo de pseudo-referência pode ser contaminado pela adsorção de espécies em solução e, isto inviabiliza sua utilização para fins analíticos quantitativos.

A contaminação por adsorção de espécies na superfície do material eletródico pode ser atribuída às características rugosa do material e uma maior área superficial impressa como pseudo-referência. Deste modo, nas medidas subsequentes utilizou-se como sistema de referência o eletrodo de Ag/AgCl a fim de prevenir variações no potencial provenientes da exposição da superfície desprotegida do carbono impresso como pseudo-referência no ECI.

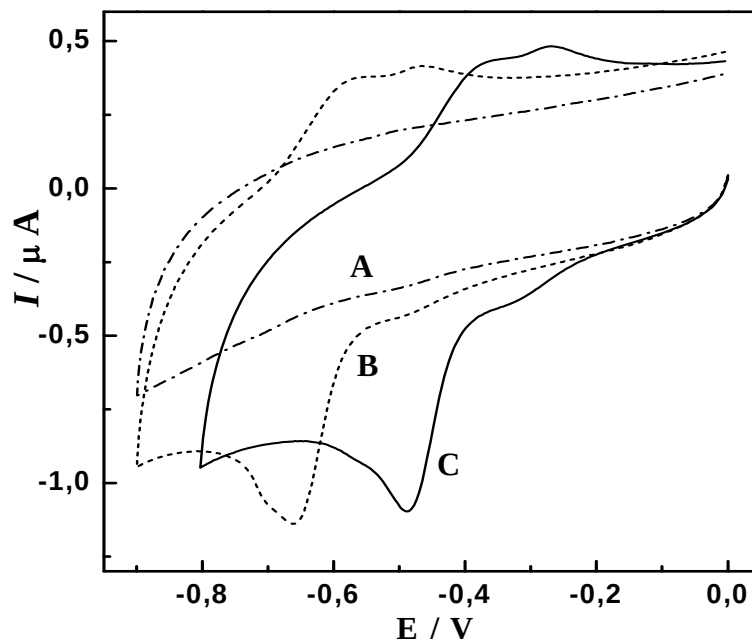


Figura 46 - Voltamogramas cíclicos registrados para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. (A) Branco, (B) pseudo-referência do próprio ECI e (C) referência convencional de Ag/AgCl. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.5.1. Influência da Velocidade de Varredura de Potencial

O comportamento voltamétrico do corante SB-14 em condição de pH 2,50 usando como referência externo um eletrodo de Ag/AgCl foi avaliado sob velocidades de varredura (ν) entre 10 e 750 mV s^{-1} . A Figura 47A mostra os voltamogramas cíclicos registrados no intervalo de ν avaliado, os quais revelam em baixos valores de ν não é possível detectar a ocorrência do pico anódico na varredura reversa, porém para valores maiores que 100 mV s^{-1} , o pico anódico com $E_p = -0,22 \text{ V}$ aumenta visivelmente com aumento de ν . Este comportamento indica que mesmo na presença do surfactante DSS em solução, houve ocorrência de reação química subsequente a transferência de carga e, cujo efeito é consideravelmente minimizado em altos valores de ν e, assim, o processo se aproxima da reversibilidade.

Uma relação linear foi observada entre a corrente de pico catódica (I_{pc}) e a ν , segundo a equação $I_{pc} (\mu\text{A}) = 0,25 + 3,70 \times 10^{-3} \times \nu (\text{mV s}^{-1})$, $r = 0,998$ (Figura 47B), cujos valores dos pontos no gráfico de I_{pc} vs. ν correspondem à média de duas medidas experimentais. O fato

da I_{pc} variar linearmente com a ν e não passar pela origem dos pontos é indicativo de que o processo de redução eletroquímica do corante SB-14 nesta condição é controlado por adsorção.

Os parâmetros eletroquímicos referentes à análise dos voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes ν estão reunidos na Tabela 15. A partir da análise desses parâmetros verifica-se que o E_{pc} desloca cerca de 10 mV para valores mais negativos à medida que se aumenta ν , novamente indicando que o processo eletródico é influenciado por reações químicas acopladas e/ou processos adsortivos [96]. Ao mesmo tempo, observou-se que a diferença entre o potencial de pico e o potencial de pico a meia altura $|E_p - E_{p/2}|$ (Tabela 15) varia marcadamente com o aumento da ν , todavia, em altas ν , encontra-se próximos ao esperado teoricamente para uma transferência eletrônica reversível envolvendo dois elétrons ($59/n$ mV) [96].

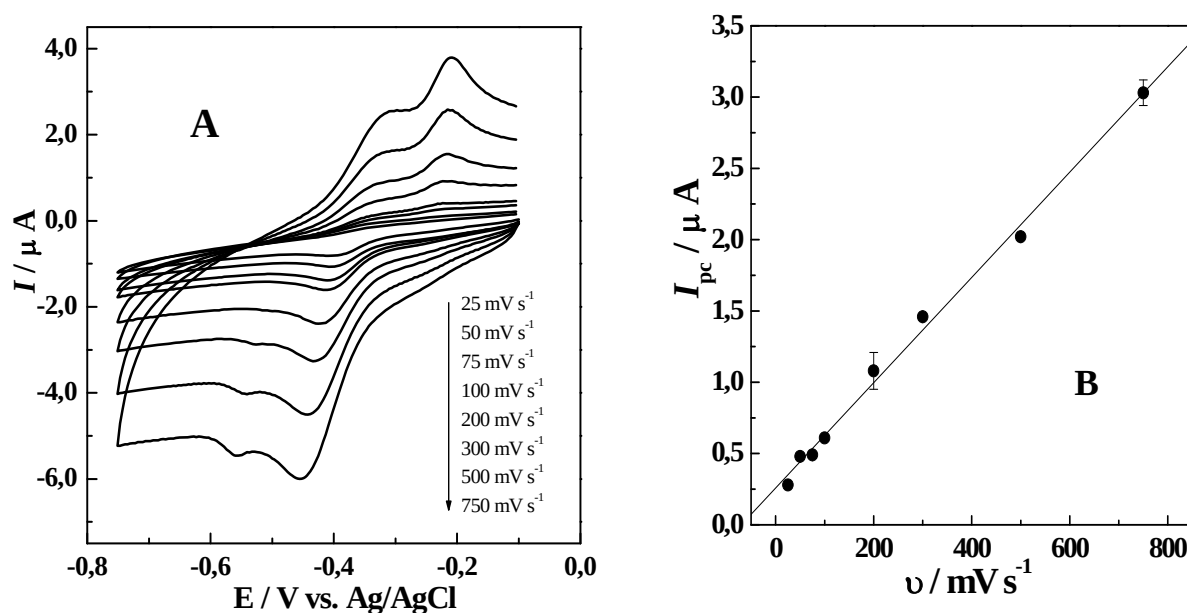


Figura 47 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes valores de ν para redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R contendo 30,0% de DMF e presença de $1,65 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} do surfactante DSS. (B) Variação da corrente de pico em função da ν .

Tabela 15 - Parâmetros voltamétricos obtidos para redução eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 em diferentes valores de ν (Figura 47).

ν (mV s ⁻¹)	I_{pc} (μ A)	I_{pa} (μ A)	$-E_{pc}$ (mV)	E_{pa} (mV)	$E_{pc} - E_{p/2}$ (mV)	$E_{pa} - E_{p/2}$ (mV)
25	0,28	-	393	-	37,0	-
50	0,48	-	396	-	36,0	-
75	0,49	-	401	-	37,0	-
100	0,61	-	405	-	39,0	-
200	1,08	0,28	415	222	42,0	30
300	1,46	0,47	425	220	47,0	30
500	2,02	0,80	436	215	49,0	28
750	3,03	1,17	450	210	56,0	28

Voltamogramas cíclicos registrados para o corante SB-14 sob varreduras sucessivas evidenciam uma queda bastante acentuada na intensidade da corrente de pico do primeiro para o segundo ciclo (Figura 48). Entretanto, após o segundo ciclo verifica-se que os valores de corrente não sofrem variações significativas na intensidade, permanecendo praticamente constantes até o quinto ciclo. Estes resultados novamente revelam que nesta condição de trabalho a redução eletroquímica do corante SB-14 na superfície do eletrodo ocorre sobre influência do fenômeno de adsorção.

Porém, este efeito foi menos intenso quando comparado ao observado anteriormente para redução eletroquímica deste corante na superfície do ECV sem a presença do surfactante (seção 3.3). Adicionalmente, em presença de surfactante DSS a superfície eletródica do ECI pode ser eficientemente regenerada após deixá-lo em repouso na célula eletroquímica por aproximadamente 35 s antes de cada medida experimental. Neste caso, além de melhorar a aplicabilidade deste material para fins analíticos quantitativos, um mesmo conjunto de eletrodos pode ser usado em mais de 10 repetições sem perdas consideráveis na performance do mesmo.

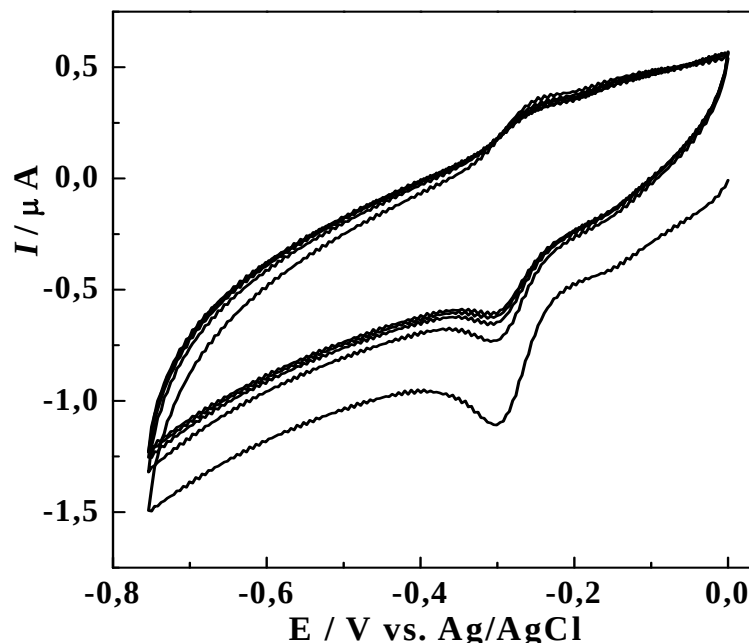


Figura 48 - Voltamogramas cíclicos sucessivos registrados para redução de $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R contendo 30% de DMF e presença de $1,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.5.2. Redução Eletroquímica do Corante SB-14 por Voltametria de Onda Quadrada

3.5.2.1. Influência da Concentração do Surfactante DSS

A partir do estudo do comportamento voltamétrico do corante SB-14 realizado por VOQ e mostrado anteriormente (seção 3.3.1), foi possível observar que esta técnica originou pico mais intenso com perfil voltamétrico mais definido em relação ao obtido pela técnica de voltametria cíclica. Assim, a técnica voltamétrica de onda quadrada foi usada nos estudos da melhor condição de trabalho visando desenvolvimento de um método eletroanalítico.

A influência da concentração do surfactante DSS no comportamento voltamétrico foi investigada testando-se intervalo de concentração entre $2,00 \times 10^{-4}$ a $2,70 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ monitorando-se a redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante em meio de tampão B-R pH 2,40 contendo 30,0% de DMF, cujos resultados são apresentados na Figura 49. O aumento da concentração do surfactante DSS na célula promove significativo aumento na intensidade da I_{pc} até concentrações abaixo de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Em níveis de concentrações superiores a $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a intensidade da I_{pc} permanece praticamente constante, seguido de uma ligeira diminuição em maiores concentrações do DSS.

Diferentemente do observado previamente nos estudos por VC, onde o efeito na intensidade da corrente de pico não foi significativamente importante, a Figura 50 mostra que efeitos mais pronunciados foram obtidos usando a técnica de VOQ na qual o sinal foi mais intenso e melhor definido. A adição do surfactante aniônico DSS em solução contendo $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 promove um grande aumento na intensidade do sinal (Figura 50B e C) quando comparado com aquele obtido na ausência do mesmo (Figura 50A). Considerando-se que o surfactante DSS caracteriza-se por cadeia aniônica, sua influência no comportamento voltamétrico e na intensidade da corrente pode ser atribuídas as interações eletrostáticas entre o DSS e o SB-14, uma vez que, em pH 2,50 este corante encontra-se na forma protonado.

O efeito de surfactantes sobre diferentes tipos de analitos tem sido descrito na literatura [83-95]. Em concentrações de surfactante abaixo da concentração micelar crítica (CMC) os mesmos encontra-se como monômero e as interações ocorridas entre analito/surfactante pode ser predominantemente eletrostáticas [91]. Micelas formadas por surfactantes também são capazes de solubilizar espécies com variedades de polaridade e tamanho [92], entretanto, devido ao fato de que uma quantidade considerável de íons de carga oposta à do surfactante estarem em solução eletrolítica, estes se tornam parte integrante das micelas formadas. Assim, o decréscimo da CMC de surfactantes iônicos em presença de eletrólitos é típico, uma vez que estes eletrólitos atuam na minimização das forças repulsivas entre as caldas polares, favorecendo a formação dos agregados micelares.

Desta forma, durante este processo, pode ocorrer uma redução no número de espécies disponíveis para o transporte de corrente elétrica, bem como na carga total dos agregados micelares para interação com o analito de interesse. Sendo assim, em estudos eletroquímicos envolvendo interações analito/surfactante torna-se importante monitorar a CMC, uma vez que, a partir desse ponto a presença do surfactante pode não promover efeitos esperados, afetando diretamente o coeficiente de difusão da espécie eletroativa na superfície do eletrodo.

Analisando a Figura 49 é possível que o aumento da concentração do surfactante acima de $2,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ pode ter excedido a CMC e, por conseguinte, a formação de agregados micelares torna-se dominante. Assim, os agregados micelares formados a partir da CMC atuam somente na solubilidade do analito levando a uma ligeira diminuição da corrente de pico. De qualquer forma, o uso do surfactante DSS permitiu diminuir consideravelmente a quantidade de solvente orgânico no meio eletródico sem comprometer a solubilidade do corante, uma vez que, maior quantidade de solvente orgânico afeta drasticamente a composição do material eletródico.

Portanto, concentração do surfactante próximo a $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi adotada como sendo ideal para monitorar a detecção do corante SB-14 sobre a superfície dos ECIs visando desenvolvimento de um método eletroanalítico.

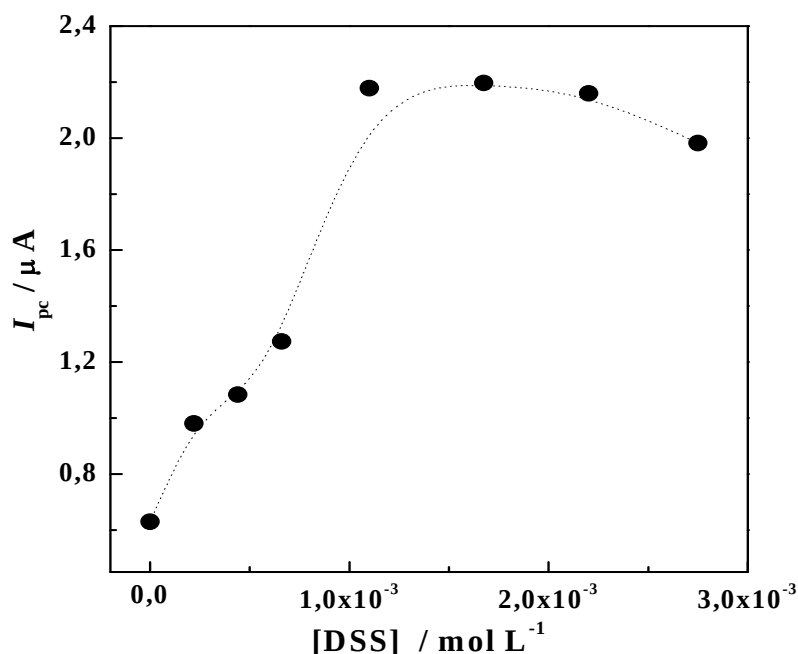


Figura 49 - Estudo da variação da concentração do surfactante DSS realizado para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 2,40 contendo 30,0% de DMF. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

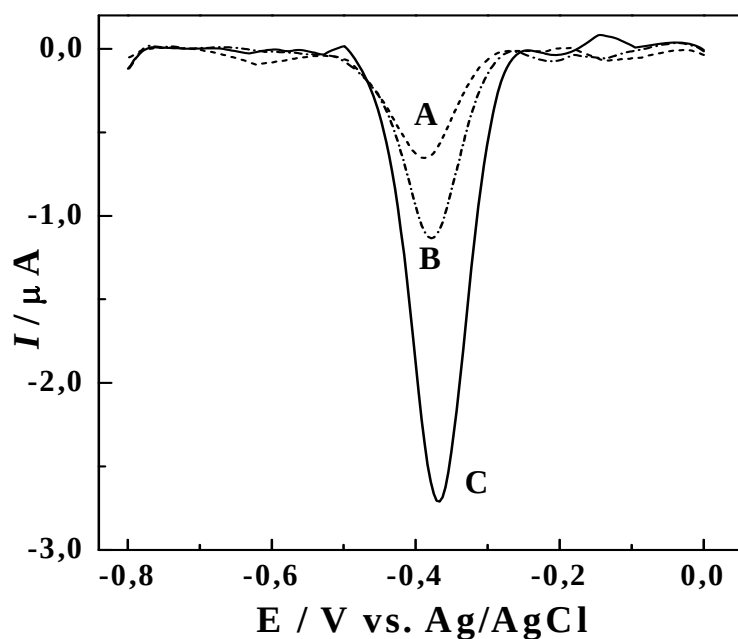


Figura 50 - Voltamogramas de onda quadrada registrados para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 2,50 contendo 30,0% de DMF. (A) ausência surfactante DSS, (B) presença de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS e (C) presença de $8,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

O comportamento voltamétrico do corante SB-14 sobre a superfície do ECI também foi comparado registrando voltamogramas empregando as técnicas de voltametria de varredura linear (VVL), voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ).

Analisando os voltamogramas obtidos para a redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante em meio de tampão B-R / DMF (7:3, v/v) e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS, observa-se que picos bem definidos em -0,40 V vs. Ag/AgCl (VVL), -0,35 V vs. Ag/AgCl (VPD) e -0,38 V vs. Ag/AgCl (VOQ) são obtidos (Figura 51). A comparação do sinal analítico verificado com a técnica de VOQ (Figura 51C) novamente revela que este é muito mais intenso do que o obtido pela técnica de VPD (Figura 51B). Assim, os parâmetros instrumentais inerentes a essa técnica foram avaliados a fim de obter a melhor condição de trabalho para propósitos analíticos quantitativos.

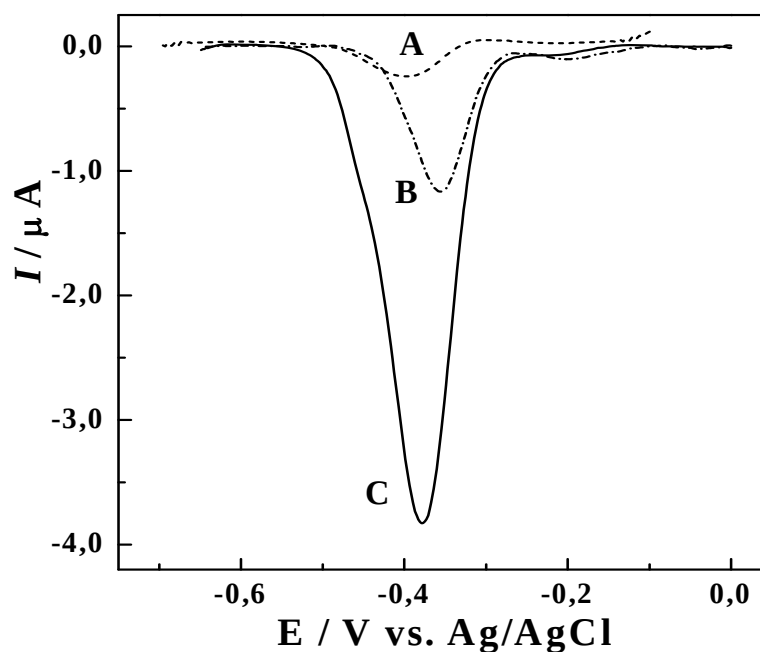


Figura 51 - Voltamogramas de: (A) varredura linear (B) pulso diferencial e (C) onda quadrada registrados para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: (VVL) $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$; (VOQ): $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$. (VPD): $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$, tempo de pulso (t_p) = 20 ms e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$.

3.5.2.3. Efeito do pH

A influência do pH sobre o comportamento voltamétrico do corante SB-14 foi investigado utilizando-se a técnica de VOQ. A relação entre I_{pc} vs. pH e entre E_{pc} vs. pH obtida para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do corante em meio de tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ do surfactante DSS é mostrado na Figura 52 e 53. Os voltamogramas de onda quadrada registrados em valores de pH entre 2,00 e 7,00 apresentam picos bem definidos, no entanto, não se observa sinal mensurável acima de pH 9,00. Como verificado na Figura 53A, um máximo na intensidade da I_{pc} é obtido em um valor de pH ao redor de 3,00 e, a partir deste valor observa-se uma queda bastante pronunciada até pH 7,00. Este comportamento indica que a interação do surfactante aniônico DSS em meio onde o corante encontra-se na forma protonada é favorecida, culminando em maior intensidade de corrente. Assim, a melhor condição para monitorar a redução do corante sobre a superfície do ECI ocorre em tampão B-R 0,10 mol L⁻¹ pH entre 2,00 e 3,00 contendo 30,0% de DMF e esta condição foi escolhida para fins analíticos.

Um deslocamento do E_{pc} para valores mais negativos é observado com o aumento do pH, cujo comportamento revela o envolvimento de reações de protonação. Uma relação linear foi observada em todo intervalo de pH estudado (Figura 53B) segundo a equação de regressão linear: $E_{pc}(\text{mV}) = -181 - 67,0 \times \text{pH}$ ($r = 0,9989$). A partir da inclinação de 67,0 mV pH⁻¹ obtida para a relação E_{pc} vs. pH e aplicação da equação: $\Delta E_p / \Delta \text{pH} = 59m_{H^+} / n$, atribuindo $n = 2,00$ obtém-se um valor de m_{H^+} igual a 2,30, ou seja, dois prótons estão sendo envolvidos na etapa química. Estes resultados estão em concordância com aqueles obtidos para redução eletroquímica de grupos antraquinonas sobre eletrodos convencionais [98, 103, 104], sugerindo que o grupo eletroativo envolvido no processo é o mesmo.

A presença de surfactante no meio, neste caso, não altera significativamente no equilíbrio de protonação e sugere que o processo é semelhante aqueles observados para outros compostos antraquinonas em meio totalmente aquoso e/ou misto [98, 103, 104].

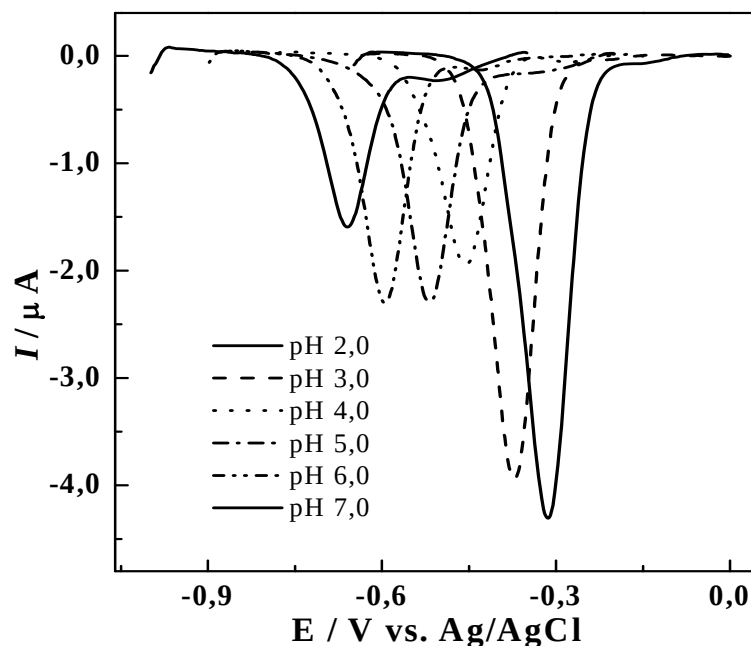


Figura 52 - Voltamogramas de onda quadrada registrados em diferentes valores de pH para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$.

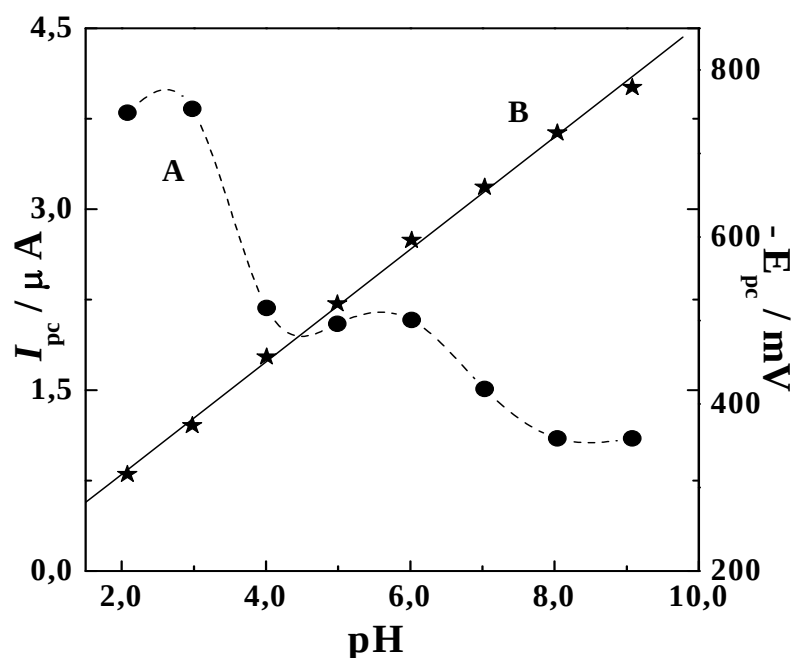


Figura 53 - Influência do pH na resposta da corrente de pico (A) e do potencial de pico (B) para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 25 \text{ mV}$.

A Figura 54 mostra ainda os voltamogramas de onda quadrada com a separação das componentes de correntes direta (I_d) (voltamograma **a**), inversa (I_i) (voltamograma **b**) e resultante (I_r) (voltamograma **c**), cujo comportamento eletroquímico possibilita uma observação prévia sobre o tipo de processo eletródico envolvido.

Os voltamogramas obtidos revelam que a presença de picos nas componentes de corrente direta e inversa, em que a contribuição destas duas componentes origina uma corrente resultante (Figura 54, voltamograma **c**). Como previsto teoricamente [99, 100], este comportamento novamente é indicativo de um processo eletródico reversível, mas controlado pelo fenômeno de adsorção.

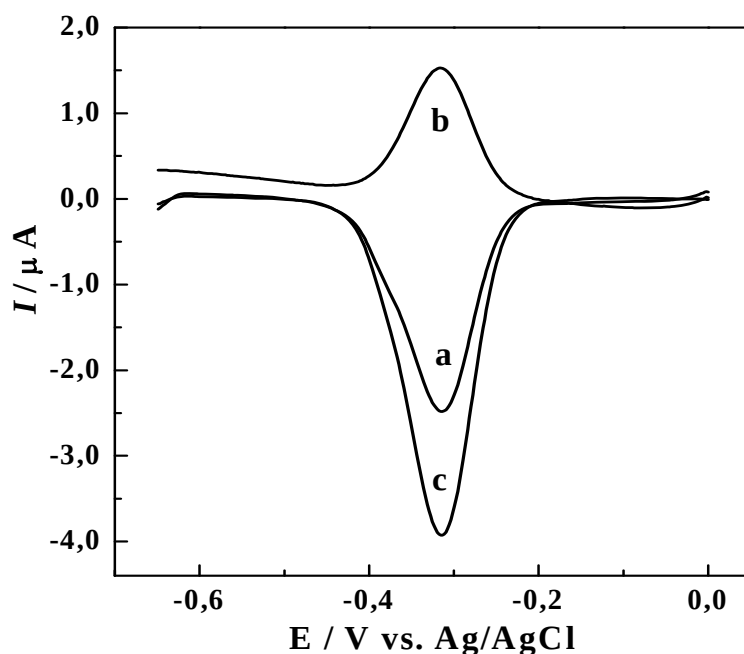


Figura 54 - Voltamograma de onda quadrada registrado para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R pH 2,50 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ do surfactante DSS. (a) corrente direta, (b) corrente inversa e (c) corrente resultante. Condições: $f = 60$ Hz, $\Delta E_s = 2$ mV e $E_{sw} = 25$ mV.

3.5.3. Otimização dos Parâmetros Instrumentais e Obtenção da Curva de Calibração Analítica

Os parâmetros instrumentais que influenciam na resposta voltamétrica obtidos pela técnica de VOQ, os quais se destacam, a frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), o incremento de varredura de potencial (ΔE_s) e a amplitude de aplicação dos pulsos de potencial (E_{sw}) foram avaliados nos seguintes intervalos: f de 10 a 250 Hz, E_{sw} de 10 a 100

mV e ΔE_s de 2 a 12 mV. Assim como anteriormente citado, a escolha da melhor condição de trabalho foi um compromisso entre intensidade do sinal voltamétrico e largura do pico a meia altura ($W_{1/2}$), aqui chamado de resolução voltamétrica.

Inicialmente, avaliou-se a influência da f sobre a intensidade da corrente de pico e no comportamento voltamétrico do corante SB-14, pois este parâmetro além de oferecer melhora na resposta voltamétrica possibilita, ainda, obter informações importantes a respeito do tipo de processo eletródico envolvido. Variando-se a f no intervalo de 10 a 250 Hz e mantendo-se constantes os demais parâmetros (ΔE_s 2 mV e E_{sw} 50 mV), observou-se uma melhora bastante significativa no perfil voltamétrico do corante SB-14 (Figura 55A). Entretanto, esta melhora é mais evidente somente para valores até 90 Hz, a partir do qual este aumento compromete a $W_{1/2}$ e a razão corrente faradaica/corrente capacitiva torna-se menor, cujo comportamento também compromete o perfil do pico. Assim, um valor de frequência entre 60 e 90 Hz foi adotado como sendo ideal para estudos futuros.

A partir da Figura 55B, verifica-se uma dependência linear entre a I_{pc} e a $f^{1/2}$, o que, de acordo com a literatura é característico de um processo eletródico reversível com transporte de massa controlado por adsorção [99, 100], cuja linearidade obedece a seguinte relação matemática: $I_{pc} (\mu A) = -1,36 + 0,62 \times f^{1/2} (Hz)$, $r = 0,997$.

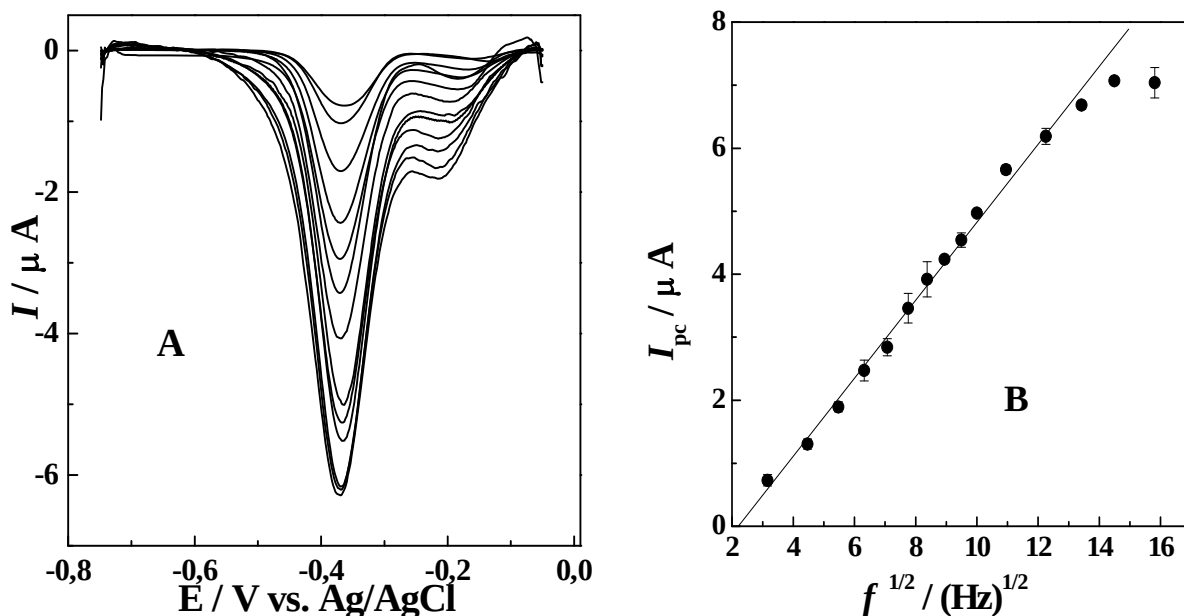


Figura 55 - Influência da variação da f sobre os valores de I_{pc} para redução de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $E_{sw} = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Na Figura 56 observa-se o comportamento voltamétrico do corante SB-14 frente à análise do pico no voltamograma reverso durante estudo da variação da f . Como pode ser verificado o aumento da f promove um aumento na razão $I_{\text{reversa}}/I_{\text{direta}}$ aproximando-se de 0,85 em valores de f superiores a 60 Hz. Este comportamento indica que o processo eletródico na condição experimental adotada corresponde ao de uma transferência eletrônica influenciada por reações químicas acopladas que consome o produto eletrogerado na superfície eletródica em baixas f . Entretanto, em altos valores de f a reação química é minimizada, de modo que, não mais exerce forte influência sobre a etapa eletroquímica. Assim, os resultados obtidos por voltametria de onda quadrada fornecem fortes indícios de um mecanismo E_rC , o que está em concordância com os resultados obtidos anteriormente por voltametria cíclica.

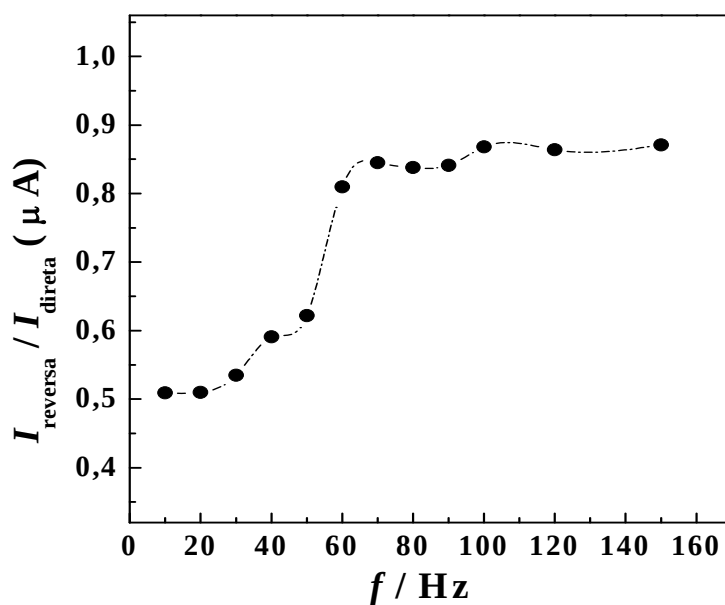


Figura 56 - Variação da razão $I_{\text{reversa}}/I_{\text{direta}}$ em função da frequência para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $E_{\text{sw}} = 25 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$.

Visando melhora na sensibilidade voltamétrica e no limite de detecção do método proposto, foi avaliado a seguir à influência da amplitude de aplicação dos pulsos de potencial (E_{sw}) sobre a intensidade da I_{pc} , mantendo-se, $f = 60 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. A Figura 57 apresenta o efeito da variação da E_{sw} no intervalo de 10 a 100 mV para redução eletroquímica de $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 na presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS.

Como pode ser visto, a I_{pc} aumenta em todo intervalo avaliado, todavia, o perfil voltamétrico do pico fica comprometido para valores de E_{sw} acima de 50 mV com ligeiro alargamento e, conseqüentemente perda da resolução. Assim, um valor de E_{sw} de 50 mV foi escolhido para propósitos analíticos por atender as expectativas em termos de intensidade de corrente e resolução voltamétrica.

Por fim, estudou-se o efeito da variação do incremento de varredura de potencial (ΔE_s) mantendo-se, $f = 60$ Hz e $E_{sw} = 50$ mV os quais foram previamente otimizados. Analisando o comportamento da I_{pc} (Figura 58) após variação do ΔE_s de 2 para 12 mV, verifica-se um aumento significativo em todo intervalo estudado. Porém, em valores de ΔE_s acima de 4 mV, o perfil voltamétrico foi marcadamente influenciada pelo aumento da $W_{1/2}$. Desta forma, um valor de ΔE_s de 4 mV foi adotado para estudos futuros onde a $W_{1/2}$ foi inferior a 100 mV.

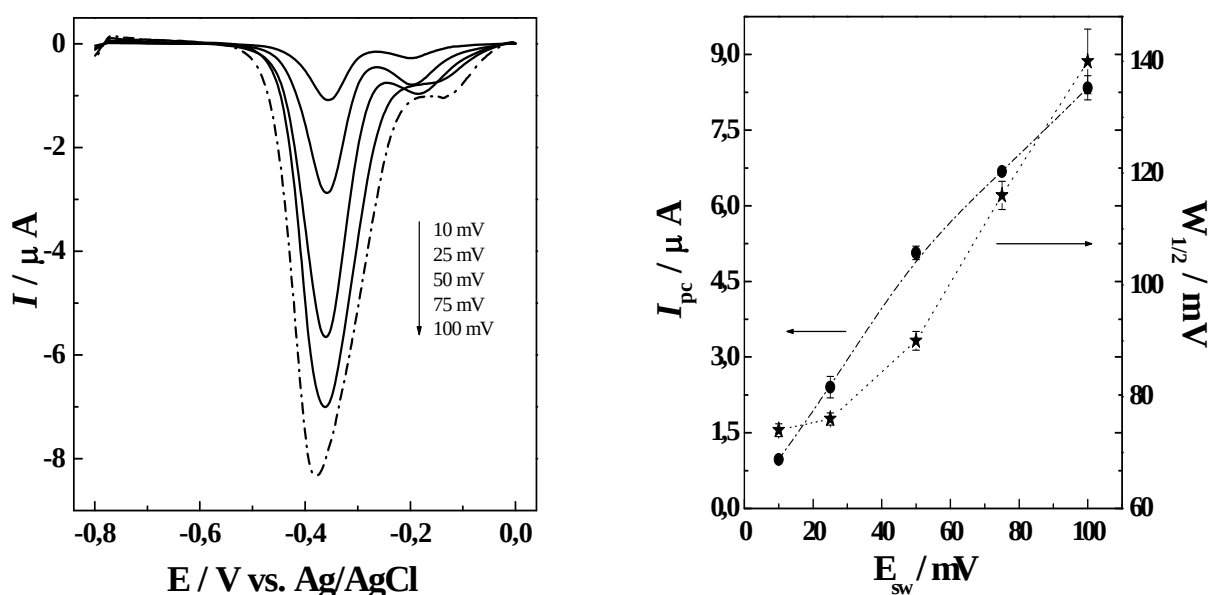


Figura 57 - Influência da variação da E_{sw} sobre os valores de I_{pc} para redução de $5,00 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície ECI em meio de tampão B-R 0,10 mol L $^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3}$ mol L $^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60$ Hz e $\Delta E_s = 2$ mV.

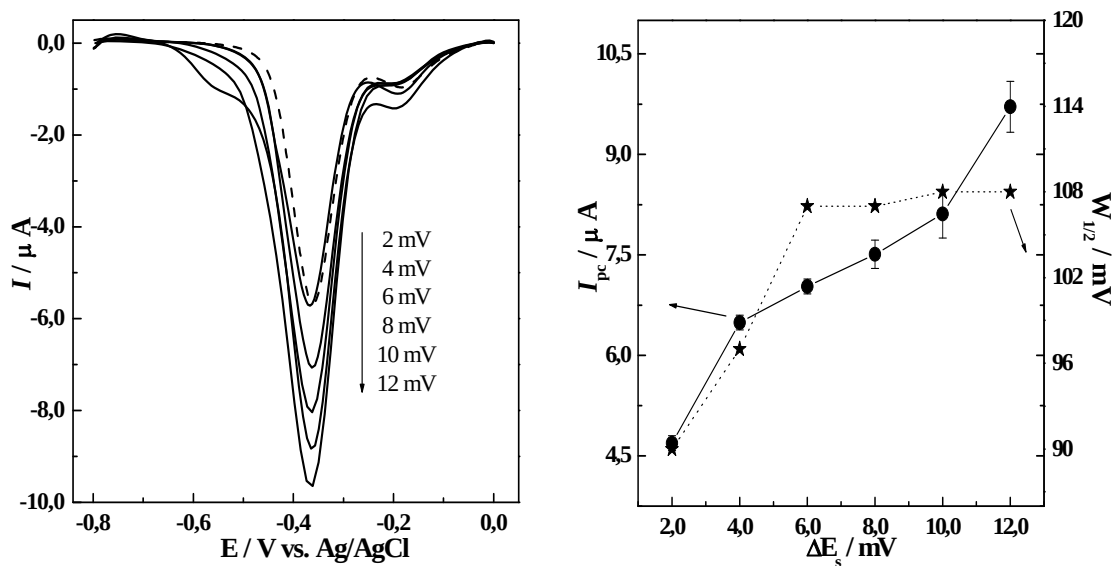


Figura 58 - Influência da variação da ΔE_s sobre os valores de I_{pc} para redução de $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante SB-14 sobre a superfície ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2,50 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Usando a melhor condição de trabalho, estudos foram realizados monitorando a redução eletroquímica do corante SB-14 em diferentes concentrações, cujos voltamogramas registrados nas concentrações entre $2,00 \times 10^{-7}$ a $40,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ estão apresentados na Figura 59A. A partir dos valores de I_p obtidos dos voltamogramas curva de calibração foi construída (Figura 59B), em que cada ponto representa à média de quatro medidas experimentais. Uma relação linear foi obtida somente no intervalo de concentração do corante entre $2,00 \times 10^{-7}$ e $20,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 59B) com equação de regressão linear: $I_{pa} (\mu A) = -0,22 + 2,80 \times 10^6 \times C_{SB-14} (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,998$, cujos valores dos parâmetros obtidos para esta curva estão reunidos na Tabela 16.

A partir dos parâmetros obtidos para esta curva e apresentados na Tabela 16 foi calculado o limite de detecção (LD) do sistema proposto usando a seguinte relação matemática: $(3 \times DP/b)$ [101]. **DP** representa o desvio padrão da média aritmética de dez medidas do branco obtidas no mesmo potencial de redução do corante e **b**, a inclinação da curva de calibração. O valor obtido para o LD foi de $9,30 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (Tabela 16), indicando detectibilidade adequada do sistema quando comparado com o sistema de referência apresentado na seção 3.4, o que viabiliza a utilização da técnica no desenvolvimento de um método analítico para quantificação deste corante em amostras de combustíveis.

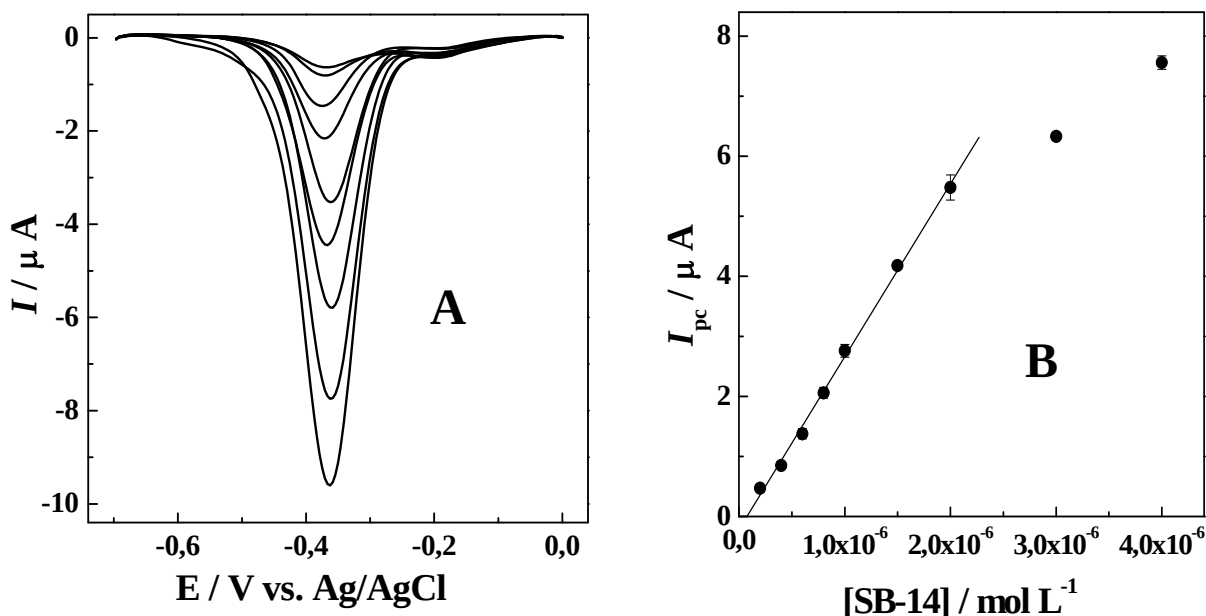


Figura 59 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados sobre a superfície do ECI em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS para diferentes concentrações do corante SB-14 $(2,00-40,0) \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Dependência da I_{pc} em função da concentração do SB-14. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Tabela 16 - Parâmetros estudados e otimizados usando ECI para redução eletroquímica do corante SB-14 na obtenção da curva analítica comparados com método de referência (seção 3.4).

Parâmetros	Método proposto	Método espectrofotométrico	
		$\lambda = 590 \text{ nm}$	$\lambda = 640 \text{ nm}$
Intervalo linear (mol L^{-1})	$(2,00-20,0) \times 10^{-7}$	$(2,00-10,0) \times 10^{-6}$	$(2,00-10,0) \times 10^{-6}$
Intercepto	-0,22	$4,90 \times 10^{-3}$	$5,80 \times 10^{-3}$
Coeficiente angular	$2,80 \times 10^6$	18850	21500
Coeficiente de Correlação (r)	0,998	0,998	0,999
LD (mol L^{-1})	$9,30 \times 10^{-8}$	$7,20 \times 10^{-7}$	$5,00 \times 10^{-7}$

3.5.6. Determinação do Corante SB-14 em Amostras de Combustíveis

O método desenvolvido foi aplicado para a determinação do corante SB-14 em amostras de álcool combustível seguindo a metodologia descrita na parte experimental (seção 2.3.1.7). Alíquotas contendo 0,35 mL de amostra de álcool comercial contendo $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ do corante SB-14 foi diluída para 5,00 mL diretamente na célula eletroquímica com a solução do tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 3,00 contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. Voltamogramas registrados para a amostra de álcool contendo o padrão (Figura 60A, voltamograma **a**) e as respectivas adições do padrão (Figura 60A, voltamogramas **b-d**), revelam que não há interferência dos contaminantes inerentes a matriz.

A curva de adição de padrão obtida foi linear segundo a equação: $I_{pc} (\mu\text{A}) = 0,68 + 2,00 \times 10^6 \times C_{\text{SB-14}} (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,999$, conforme pode ser visto na Figura 60B, cujos valores compilados na Tabela 17 mostram que são da mesma ordem de grandeza daqueles obtidos com o padrão do corante (Tabela 16). O limite de quantificação calculado foi da ordem de $3,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

A eficiência de extração obtida para este caso foi de aproximadamente 96,0% para uma média de quatro determinações (Tabela 17), evidenciando que o método proposto pode ser aplicado na quantificação do corante SB-14 em amostras de álcool.

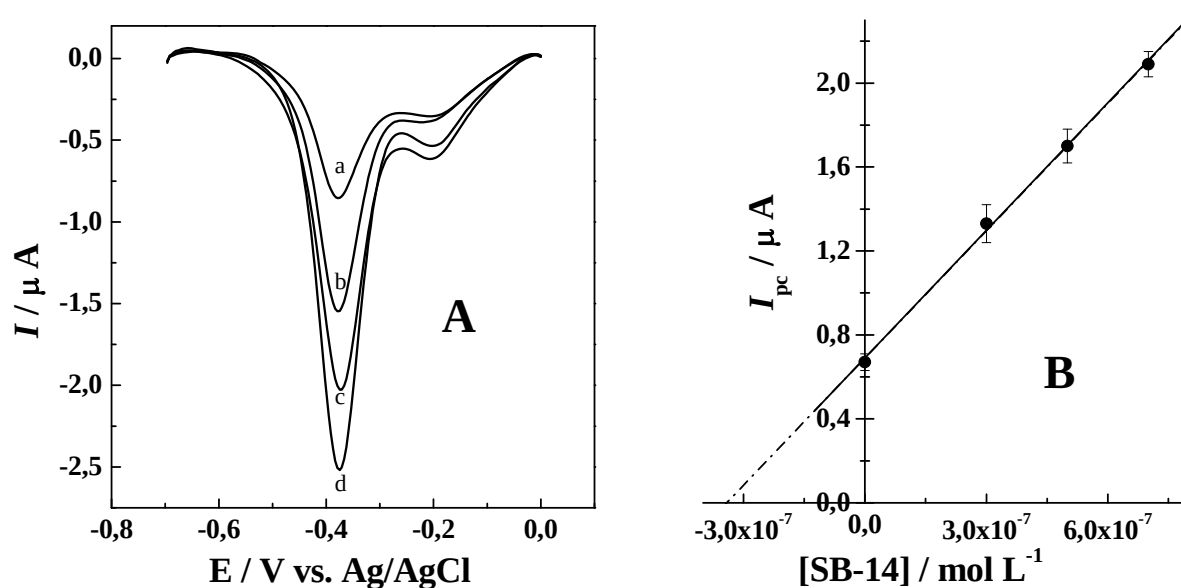


Figura 60 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. (a) Amostra de álcool contendo o corante SB-14 e (b-d) adições sucessivas de $10,0 \mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do SB-14. (B) Curva de adição do padrão obtida. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

O método proposto também foi aplicado para quantificação do corante SB-14 em amostras de querosene usando o procedimento de extração adotado na seção experimental (2.3.1.8). O registro de voltamogramas para as amostras de combustíveis contendo $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ de SB-14 após o procedimento de extração mostra que não há picos de corrente de espécies que possam sobrepor ao pico da substância em análise (Figura 61, voltamograma **a**). Do mesmo modo, os perfis voltamétricos obtidos para as respectivas adições do padrão (Figura 61, voltamogramas **b-e**) não são significativamente comprometidos pela presença de espécies interferentes.

A curva de adição de padrão apresentada na (Figura 61, inserção) mostrou-se linear segundo a equação: $I_{pc} (\mu\text{A}) = 0,73 + 1,40 \times 10^6 \times C_{\text{SB-14}} (\text{mol L}^{-1})$, $r = 0,997$, cujo LQ estimado foi de $3,50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. A eficiência de extração obtida foi entre 82,0 e 99,0% (Tabela 17), demonstrando que o método proposto pode uma alternativa para determinação do corante SB-14 em amostras de querosene.

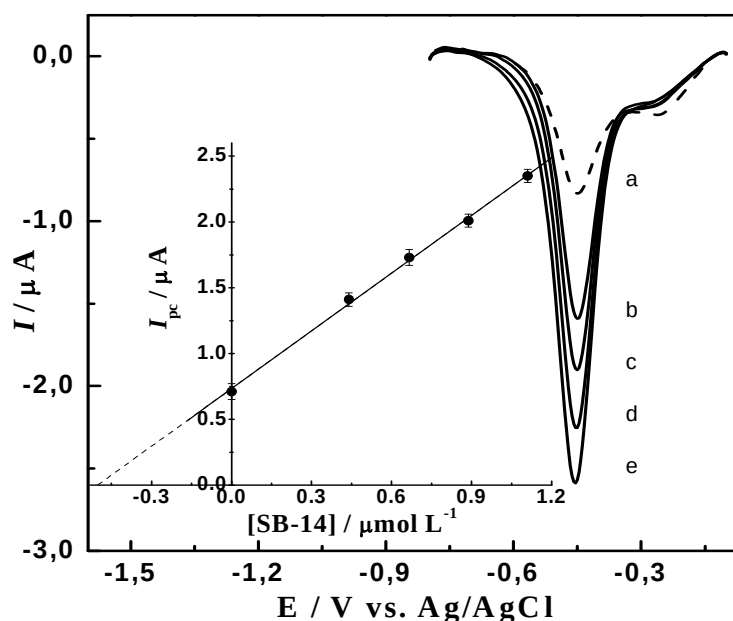


Figura 61 - (A) Voltamogramas de onda quadrada registrados em meio de tampão B-R $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 30,0% de DMF e presença de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do surfactante DSS. (a) Amostra de querosene contendo o corante SB-14 (seção 2.3.1.8), (b) adição de $20,0 \mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do SB-14, (c-e) adições sucessivas de $10,0 \mu\text{L}$ de solução padrão $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição do padrão. Condições: $f = 60 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$ e $E_{sw} = 50 \text{ mV}$.

Tabela 17 - Resultados obtidos para medidas de eficiência de extração do padrão de SB-14 adicionado na amostra de combustíveis pelo método proposto comparado com o método espectrofotométrico.

Métodos	Matriz	Adicionado (mg L ⁻¹)	Encontrado (mg L ⁻¹)	Eficiência (%)	RSD (%)
Método proposto	Álcool ^[a]	2,00	1,92	96,0	2,40
	Querosene ^[a]	2,00	1,85	92,5	8,30
Método	($\lambda = 590$ nm)				
Espectrofotométrico	Querosene ^[a]	5,00	5,42	108	3,15
	Álcool ^[a]	5,00	5,26	105	3,10
	($\lambda = 640$ nm)				
	Querosene ^[a]	5,00	5,45	109	3,37
	Álcool ^[a]	5,00	5,47	109	5,05

^[a] media de 4 determinações; DPR: desvio padrão relativo.

3.5.4. Considerações Finais Sobre Eletroanálise do Corante SB-14 em Amostras de Combustíveis

De acordo com a avaliação de alguns dos critérios que caracterizam o tipo de processo eletródico obtidos pelas técnicas de VC e VOQ sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo, foi possível concluir que a redução eletroquímica do corante SB-14 ocorre reversivelmente. No entanto, os critérios diagnosticados por VOQ forneceram maiores evidências de um processo eletródico fortemente influenciado pelo fenômeno de adsorção e complicado por reações químicas acopladas. Assim, foi necessário o polimento da superfície do eletrodo antes de cada medida experimental.

Do ponto de vista analítico, empregou-se a técnica voltamétrica de onda quadrada no desenvolvimento do método proposto, uma vez que, esta proporcionou realizar as análises em um menor tempo além de apresentar um maior sinal analítico. Assim, a quantificação do corante SB-14 em amostras de combustíveis monitorando a redução em alguns casos foi possível adotando um procedimento simplificado de extração e purificação a partir da otimização da eficiência de extração empregando extração em fase sólida contendo sílica como material sorvente.

Este método forneceu resultados satisfatórios, eliminando consideravelmente interferências associadas aos constituintes da matriz. Por outro lado, a quantificação do corante SB-14 na amostra de álcool combustível necessitou apenas de diluição prévia com a solução do eletrólito de suporte.

A eficiência de extração obtida em todos os casos forneceu resultados aceitáveis e concordantes com os níveis requeridos para um método analítico, de maneira que, estão próximos aos encontrados por técnicas cromatográficas com detecção no UV-Vis. Assim, considerando o fato das análises serem realizadas em um curto intervalo de tempo, o baixo custo do equipamento e materiais utilizados, este método pode ser uma alternativa simples de quantificação deste corante em amostras de combustíveis.

A redução eletroquímica do corante SB-14 sobre a superfície dos ECIs empregando as técnicas de VC e VOQ apresentou resultados concordantes com aqueles obtidos sobre a superfície do ECV quanto à reversibilidade e complicações por reações químicas paralelas. Além disso, alguns dos critérios de diagnósticos forneceram evidências de um processo eletródico fortemente influenciado pelo fenômeno de adsorção, cujo fenômeno foi ainda mais drástico devido a grande rugosidade do material composto por tinta de carbono impressa.

Os problemas decorrentes de adsorção foram contornados pelo uso de um surfactante aniônico DSS, cuja estabilidade da corrente em diversas medidas foi alcançada regenerando a superfície eletródica deixando em repouso na solução por aproximadamente 35 s. A estratégia do uso de surfactante permitiu ainda diminuir consideravelmente a quantidade de solvente orgânico necessária sem comprometer a solubilidade do corante no meio e, conseqüentemente ampliar a estabilidade dos ECIs onde foi possível utilizar um mesmo conjunto de eletrodos em mais de 15 análises.

Entretanto, os fatores fundamentalmente importantes com os estudos realizados empregando o surfactante na detecção do corante SB-14 foram a ampliação da intensidade do sinal melhorando sua aplicação para fins analíticos quantitativos e a melhora na reversibilidade do processo, observado principalmente com a técnica de VOQ que permitiu visualizar nitidamente o sinal na componente de corrente reversa, cujo comportamento melhorou significativamente a sensibilidade da técnica.

A quantificação do corante SB-14 nas amostras de álcool combustível e querosene avaliado em termos de eficiência de extração mostrou que o método eletroanalítico forneceu resultados concordantes com aqueles obtidos pelo método utilizado como referência (seção 3.4), com níveis de eficiência de extração e precisão compatíveis aos encontrados por técnicas cromatográficas. Logo, aliando o fato de realização das medidas em um curto

intervalo de tempo e ao baixo custo do equipamento e materiais utilizados, é possível observar que este método pode ser alternativamente utilizado para a determinação deste corante em amostras de combustíveis.

3.6. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção no UV/Vis

3.6.1. Otimização dos Parâmetros Cromatográficos

Durante os estudos realizados anteriormente utilizando-se técnicas eletroanalíticas observou-se que os corantes QNZ e SB-14 são bem solúveis em solventes orgânicos de média polaridade, tais como: acetonitrila (ACN), N,N-dimetilformamida (DMF) e acetona. Dentre estes solventes, a ACN é amplamente utilizada em análises envolvendo técnicas cromatográficas em função de sua adequada polaridade levando a boa separação, além de ser conveniente em sistemas cromatográficos de alta pressão devido sua baixa viscosidade, cuja propriedade pode influenciar tanto no efeito de transferência de massa entre a fase estacionária e a fase móvel como na vazão da fase móvel [27]. Assim, os estudos preliminares foram inicialmente realizados com os corantes QNZ, SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 e conduzidos em um cromatógrafo líquido de alta performance equipado com detector operando no ultravioleta/visível (UV/Vis), cuja separação foi realizada em um sistema binário composto por um solvente A (H₂O) e um solvente B (ACN).

Para estabelecer a melhor condição de trabalho, estudos preliminares foram conduzidos traçando o perfil cromatográfico de cada corante monitorando o sinal no comprimento de onda de 254 nm e separação em coluna de C-18 com análise realizada em modo gradiente. Com objetivo de estimar a porcentagem ideal do solvente B (ACN) para a análise desses corantes, uma porcentagem inicial de 60,0% de ACN (solvente B) foi adotada aumentando-se gradativamente para 100% de ACN durante 60 min de análise sob vazão de 1,00 mL min⁻¹. Os resultados foram avaliados comparando-se os parâmetros cromatográficos: fator de retenção (k), seletividade (α) e resolução (R_s), tal como preconizado por Snyder, Kirkland e Glajch [27] a fim de obter uma melhor resolução e seletividade dos picos amparados por um menor tempo de análise. O volume morto (V_m) da coluna também foi calculado e este foi de 1,00 mL a partir da equação ($V_m = 0,50 \times L \times d^2$; em que, L = comprimento da coluna,

d = diâmetro interno da coluna), portanto, com as análises realizadas a uma vazão de $1,00 \text{ mL min}^{-1}$, o tempo morto (t_0) para este caso foi de $1,00 \text{ min}$.

A Figura 62 apresenta o cromatograma obtido após eluição em modo gradiente e detecção em 254 nm para solução padrão dos corantes separados em coluna Prontosil 120-5-C18-H ($125 \times 4,00 \text{ mm}$, $5,00 \mu\text{m}$). A análise deste cromatograma permite observar que com o modo gradiente a partir de $40,0\%$ de H_2O , os corantes mais hidrofóbicos eluíram em um longo tempo de análise devido uma maior interação com a fase estacionária da coluna, com tempo de retenção (t_r) de aproximadamente $5,00 \text{ min}$ para a substância de maior polaridade (picos 2 e 3) e $38,0 \text{ min}$ para a substância de menor polaridade (pico 7). Portanto, a porcentagem do solvente B (ACN) foi baseada no tempo de retenção do último componente de interesse (pico 7).

Para o pico do corante mais hidrofóbico (pico 7) com $t_r \cong 38,0 \text{ min}$ (Figura 62) foi estimada uma porcentagem de ACN de aproximadamente $70,0\%$ para obter uma separação eficiente e, portanto, a porcentagem inicial para composição da fase móvel e continuidade dos estudos foi atribuída em $80,0\%$ do solvente B (ACN) e $20,0\%$ do solvente A (H_2O).

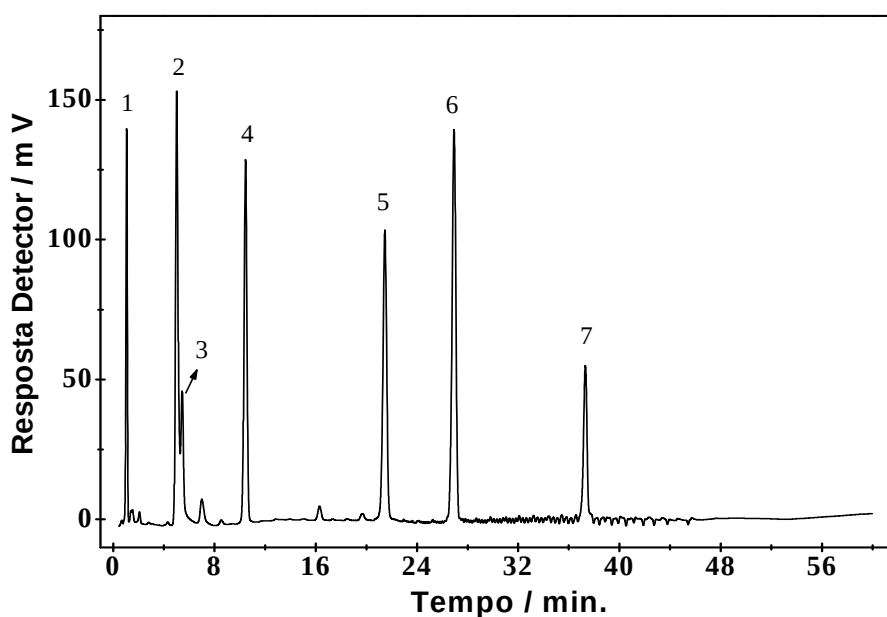


Figure 62 - Cromatograma obtido para separação em coluna C-18 dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 ($12,0 \text{ mg L}^{-1}$) e QNZ ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) eluídos em fase móvel ACN / H_2O . Condições: Gradiente $60,0 - 100\%$ de ACN em 60 min , vazão = $1,00 \text{ mL min}^{-1}$ e $\lambda = 254 \text{ nm}$.

De acordo com o cromatograma exposto na Figura 62, picos cromatográficos simétricos foram obtidos e não foi necessário o uso de aditivos como ácido trifluoro acético (TFA), trietilamina, etc. que, são frequentemente usados na fase móvel para mascarar os sítios de

adsorção fortes em silanóis residuais se o material usado não for de boa qualidade. Assim, a presença do ácido na fase móvel, tem a função de inativar os silanóis residuais presentes na coluna e, portanto, inibir troca iônica potencial entre estes e as substâncias de interesse. Deste modo, os estudos futuros foram realizados usando somente ACN e H₂O como fase móvel.

Para a identificação dos picos cromatográficos em aproximadamente 5, 10, 21, 26 e 38 min foram realizadas análises por meio da obtenção de cromatogramas no comprimento de onda de 254 nm e comparando-se os tempos de retenções para cada corante antes e após a mistura. A Figura 63 mostra os cromatogramas registrados usando uma percentagem inicial de ACN na fase móvel de 85,0% sob vazão de 1,00 mL min⁻¹, cuja composição e vazão foram suficientes para verificar a eluição dos respectivos corantes. Entretanto, mesmo sendo observado que a condição de fase móvel (ACN / H₂O 85:15, v/v) tenha sido considerado ideal para detecção dos corantes avaliados, a QNZ elui muito próximo do pico da fase móvel ainda que variando significativamente a percentagem de ACN (dados não mostrados). No entanto, considerando que o objetivo principal deste trabalho foi separar e identificar apenas os corantes SB-14, SO-7 e SR-24 (Figura 63, **II**, **IV** e **V**) investigou-se a seguir a melhor condição para análise destes corantes, utilizando-se a QNZ somente para explorar a eficiência do sistema de separação perante a presença de outros constituintes de estruturas similares.

A seguir investigou-se o perfil cromatográfico dos corantes monitorando-se a separação em modo isocrático e gradiente iniciando-se as análises com diferentes proporções de ACN sob vazão constante de 0,80 mL min⁻¹, cujo objetivo foi reduzir o tempo de análise para o composto menos polar (SR-24) sem comprometer a detecção dos demais corantes.

A Figura 64 compara os cromatogramas registrados para as análises realizadas em modo isocrático entre os primeiros 5,00 minutos com composição de fase móvel variando entre 80:20, 85:15 e 90:10 (ACN / H₂O, v/v), cujos cromatogramas revelam que a melhor condição de trabalho é obtida com percentagem inicial de ACN de 85,0% e modo isocrático entre 0 e 3,00 min, um rápido aumento para 100% de ACN entre 3,00 e 4,00 min e mantendo-se constante até 9,00 min (Figura 64, cromatograma **B**). Nesta condição, pode ser verificado que os picos são simétricos e bem resolvidos em relação aos picos interferentes mais próximos ($t_r \sim 2,00$ min) e, como consequência, um tempo de análise menor é requerido para o corante mais hidrofóbico (SR-24, $t_r = 7,32$ min, Figura 64, cromatograma **B**). Os parâmetros cromatográficos calculados a partir dos cromatogramas obtidos na Figura 64 estão apresentados na Tabela 18.

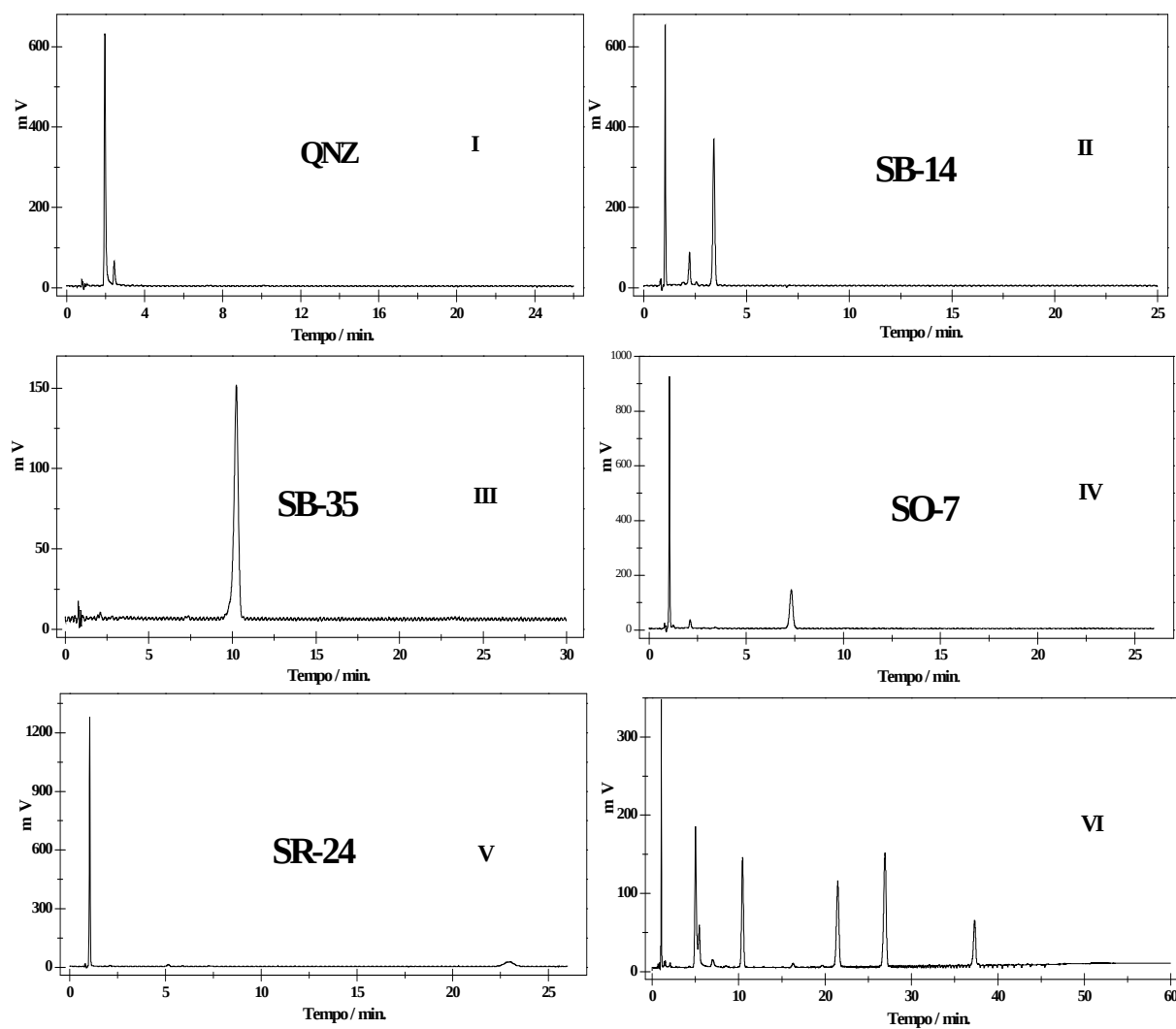


Figure 63 - Cromatogramas obtidos para separação em coluna C-18 de $12,0 \text{ mg L}^{-1}$ dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ QNZ eluídos em fase móvel ACN / H_2O 85:15 (v/v). Condições: Vazão = $1,00 \text{ mL min}^{-1}$ e $\lambda = 254 \text{ nm}$.

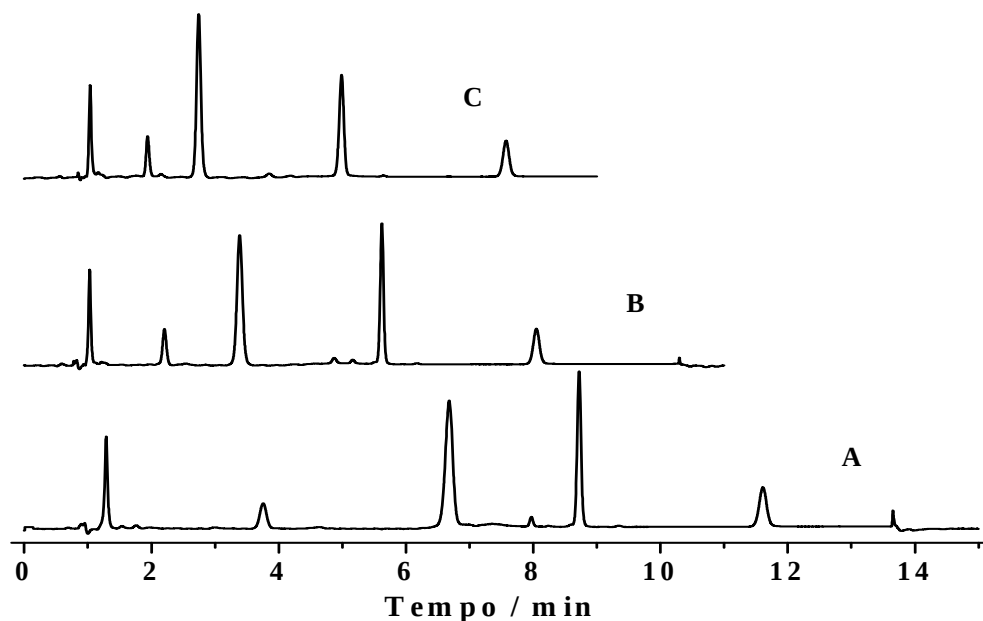


Figure 64 - Cromatogramas obtidos para separação em coluna C-18 dos corantes SB-14 ($12,0 \text{ mg L}^{-1}$), SR-24 ($12,0 \text{ mg L}^{-1}$) e SO-7 ($8,30 \text{ mg L}^{-1}$) e eluídos em fase móvel ACN / H_2O sob vazão de $0,80 \text{ mL min}^{-1}$ e $\lambda = 254 \text{ nm}$. Condição de análise: (A) 0-5 min 80,0% de ACN, 5-6 min 100% de ACN, 6-12 min 100% de ACN; (B) 0-3 min 85,0% de ACN, 3-4 min 100% de ACN, 4-9 min 100% de ACN; (C) 0-3 min 90% de ACN, 3-4 min 100% de ACN e 4-9 min 100% de ACN.

Tabela 18 - Parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico calculados a partir dos cromatogramas na Figure 64.

Composição	80:20				85:15				90:10			
Parametros	t_r	k	R_s	T	t_r	k	R_s	T	t_r	k	R_s	T
SB-14	6,68	5,68	36,0	0,94	2,87	1,87	8,40	0,99	2,74	1,74	7,20	1,06
SO-7	8,72	7,72	12,0	1,03	5,17	4,17	19,0	0,98	4,99	3,99	17,0	0,97
SR-24	11,6	10,6	17,0	1,00	7,32	6,33	17,0	1,01	7,57	6,57	16,0	1,00

t_r = tempo de retenção; k = fator de retenção; e R_s = resolução, o qual foi obtido em relação aos picos mais próximos; T = fator de cauda (simetria).

Nos estudos da melhor condição cromatográficas investigou-se ainda diferentes vazões de fase móvel a fim de otimizar a constante de retenção do pico para o corante SR-24 e, consequentemente diminuir o tempo de análise. Como verificado na Figura 65, cromatogramas bem resolvidos foram obtidos para variação da vazão entre $0,80$ e $1,20 \text{ mL min}^{-1}$, onde até o tempo final de eluição utilizando esta condição permite-se obter picos com parâmetros cromatográficos bastante acessíveis em apenas 10 minutos de análise. Os picos observados entre 1,00 e 2,50 min de análise foram desconsiderados no presente trabalho, uma

vez que sua presença pode ser atribuída a impurezas presentes nos padrões dos corantes avaliados e, assim, somente os picos em 3,38; 5,62 e 8,05 min foram considerados, os quais correspondem aos corantes SB-14, SO-7 e SR-24, respectivamente, (Figura 65).

Os parâmetros cromatográficos obtidos utilizando composição de fase móvel ACN / H₂O inicialmente proposto em (85:15, v/v) sob as diferentes vazões de fase móvel apresentam fator de retenção (k) dentro da faixa considerada ideal ($0,50 < k < 20,0$) [27], sendo estes entre 6,00 e 8,00 para os casos extremos de vazão (Tabela 19). Com isso um valor de k maior que 0,50, indica que não há ocorrência de sobreposição do pico do corante SB-14 no volume morto da coluna, e com k menor que 20,0 significa que análise não foi demasiadamente longa. Os demais parâmetros cromatográficos tais como: fator de seletividade (α) e resolução (R_s) foram calculados para os picos referentes aos corantes analisados tomando-se como base de comparação os picos potencialmente interferentes observados nos cromatogramas (Figura 65). Os resultados foram satisfatórios como mostrados na Tabela 19, de modo que, a melhor condição para análise desses corantes utilizando detecção em 254 nm ocorre em composição de fase móvel inicial de 85:15 (v/v) numa vazão de 1,00 mL min⁻¹, condição que foi adotada para fins analíticos.

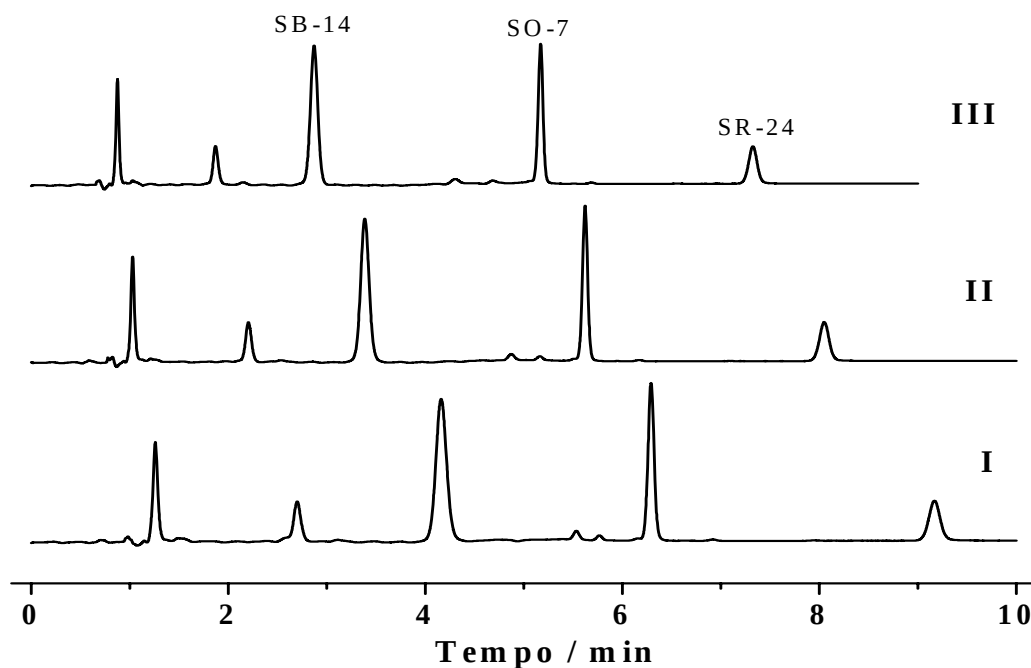


Figure 65 - Cromatogramas obtidos para separação em coluna C-18 de 12,0 mg L⁻¹ dos corantes SB-14 e SR-24 e 8,30 mg L⁻¹ do corante SO-7 eluídos em fase móvel ACN / H₂O. Condição: $\lambda = 254$ nm, (I) vazão = 0,80 mL min⁻¹, (II) vazão = 1,00 mL min⁻¹ e (III) vazão = 1,20 mL min⁻¹. Fase móvel: 0 - 3 min 85,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 10 min 100% de ACN.

Tabela 19 - Parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico calculados a partir dos cromatogramas na Figure 65.

Flow	0,80 mL min ⁻¹				1,00 mL min ⁻¹				1,20 mL min ⁻¹			
Parameters	t _r	k	Rs	T	t _r	k	Rs	T	t _r	k	Rs	T
SB-14	4,16	3,16	8,50	1,04	3,38	2,39	8,60	1,03	2,87	1,87	8,30	0,99
SO-7	6,29	5,29	13,0	1,03	5,62	4,62	17,0	0,99	5,17	4,17	19,0	0,98
SR-24	9,17	8,17	17,0	1,00	8,05	7,05	17,0	1,01	7,32	6,33	17,0	1,00

t_r = tempo de retenção; k = fator de retenção; e R_s = resolução, o qual foi obtido em relação aos picos mais próximos; T = fator de cauda (simetria).

Devido às diferenças de polaridade entre os corantes SB-14, SO-7 e SR-24 estudos também foram realizados comparando a separação desses corantes em coluna Prontosil 120-5-C18-H (125 × 4,00 mm, 5,00 μm) e Prontosil ENVIRO PHE (100 × 4,60 mm, 3,00 μm). Usando condição de trabalho adaptada para cada coluna, cromatogramas foram registrados para os corantes. Embora, o tempo de retenção tenha sido consideravelmente reduzido para análise usando coluna ENVIRO PHE (Figura 66 A), verifica-se que os picos são bastante alargados e, novamente resultados satisfatórios (forma do pico e resolução) foram obtidos com separação realizada em coluna C-18 (Figura 66 B), de modo que esta foi adotada em todos os experimentos envolvendo estes corantes.

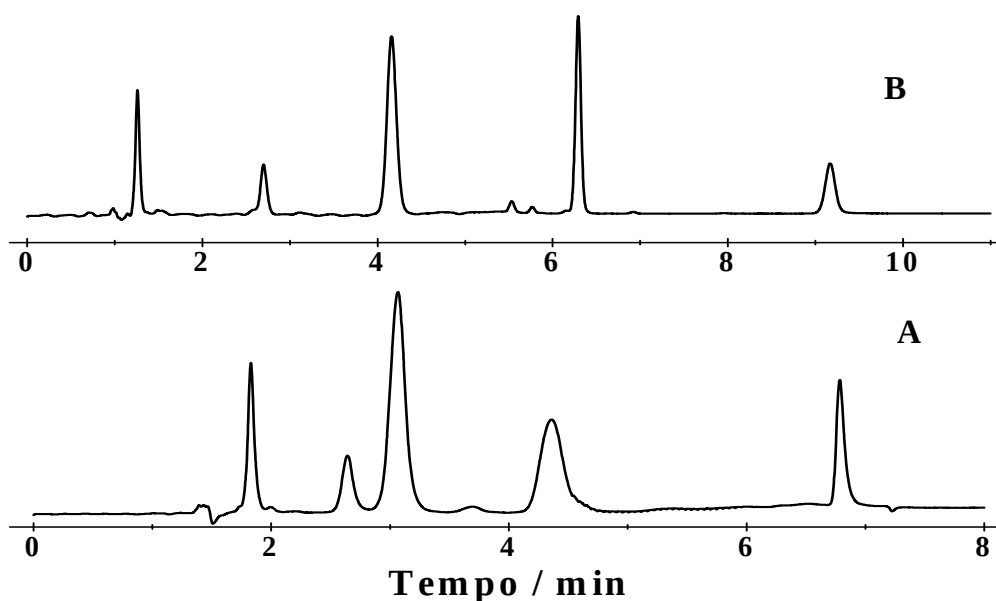


Figure 66 - Cromatogramas obtidos para separação dos corantes SB-14 e SR-24 (12,0 mg L⁻¹) e SO-7 (8,30 mg L⁻¹) separados em: (A) Prontosil Enviro PHE: fase móvel ACN / H₂O 0 - 3 min 75,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 8 com 100% de ACN. (B) Prontosil 120-5-C18-H: fase móvel ACN / H₂O 0 - 3 min 85,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 11 com 100% de ACN. Outras condições: λ = 254 nm, vazão = 0,80 mL min⁻¹.

Para melhorar a resposta do detector e a seletividade na análise dos corantes, cromatogramas foram registrados monitorando-se a detecção em comprimentos de onda (λ) fixo e após variação durante a análise, cujo mesmo foi escolhido adotando aquele mais seletivo para cada composto (Tabela 2, Introdução). Depois de realizada análises em diferentes λ fixo, verificou-se que somente em 254 nm foi possível detectar precisamente todos os corantes, uma vez que nos demais λ , não se observa aumento na área do pico em comum para todos os corantes. Por outro lado, os cromatogramas obtidos após variação do λ durante análise resultou em aumento considerável na altura dos picos de interesse (Figura 67, **I**), além de fornecer maior seletividade, uma vez que não apresentou o pico ao redor de 1,00 min, tal como visto na detecção em 254 nm (Figura 67, **II**). Sendo assim, a condição de análise ideal foi adotada mantendo $\lambda = 640$ nm entre 0 e 3,50 min e $\lambda = 490$ nm entre 3,50 e 9,00 min (Figura 67, **I**). A comparação dos cromatogramas obtidos na Figura 67 mostra ainda que a escolha da condição ideal permite suprimir a detecção de picos de espécies interferentes e/ou da fase móvel, altamente absorvidas na região do UV (Figura 67, **II**), região essa mais drasticamente afetada em análises envolvendo matrizes complexas como combustíveis, cujo efeito pode afetar a detecção dos picos dos corantes de interesse nos primeiros 5 minutos de análise.

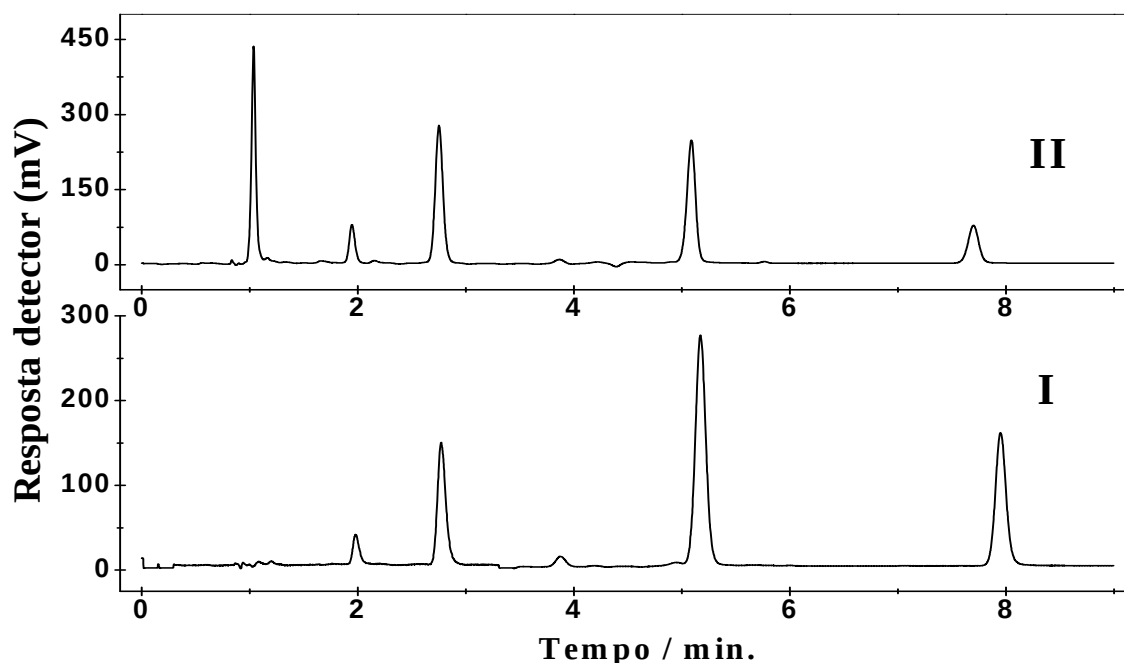


Figure 67 - Cromatogramas obtidos para separação em coluna C-18 de $15,0 \text{ mg L}^{-1}$ dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 eluídos em fase móvel ACN / H_2O . (I) $\lambda = 640$ nm entre 0 e 3,5 min e $\lambda = 490$ nm entre 3,5 e 9 min, (II) $\lambda = 254$ nm. Fase móvel: 0 - 3 min 85,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 9 min 100% de ACN. Condição: vazão = $1,00 \text{ mL min}^{-1}$.

Para testar a alça de amostragem, o sistema de detecção foi ajustado com a melhor condição previamente otimizada e oito consecutivas injeções do padrão contendo 12,0 mg L⁻¹ dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 foi realizada. O desvio padrão relativo (DPR) médio obtidos para área dos picos correspondentes aos corantes analisados foi menor que 5,00%.

3.6.2. Curva Analítica e Aplicação do Método

Usando a melhor condição cromatográfica previamente otimizada e apresentada na Figura 67 (I e II), estudos foram realizados monitorando-se a detecção em diferentes concentrações dos corantes. A Figura 68 apresenta os cromatogramas registrados no intervalo de concentração de 0,50 a 30,0 mg L⁻¹ monitorando-se a detecção nos comprimentos de ondas seletivos e sensíveis para cada corante (640 nm para SB-14 e 490 nm para SO-7 e SR-24, Figura 67 I). A curva analítica obtida construída a partir dos valores médios ($n = 3$) de área extraída nos correspondentes cromatogramas apresenta relação linear para todos os corantes em todo intervalo de concentração estudado Figura 69 com coeficiente de correlação sempre maior que 0,99. Ao mesmo tempo a Figura 69A, mostra a curva analítica obtida monitorando a detecção em 254 nm. Os valores dos parâmetros analíticos obtidos para estas curvas estão resumidos na Tabela 20, cujos valores podem ser usados para obter a equação de regressão linear.

A partir dos parâmetros extraídos da curva Analítica e reunidos na Tabela 20 calculou-se o limite de detecção (LD) do sistema usando a seguinte relação matemática: $(3 \times DP/b)$ [101]. **DP** representa a estimativa do erro relativo ao coeficiente linear e **b** a inclinação da curva de calibração. O valor de LD obtido para todos os corantes detectados nos λ citados anteriormente estão resumidos na Tabela 20, os quais são aceitáveis e encontram-se dentro do limite mínimo considerado ideal para os propósitos deste trabalho, de modo que pode ser aplicado na quantificação destes corantes em amostras de combustíveis.

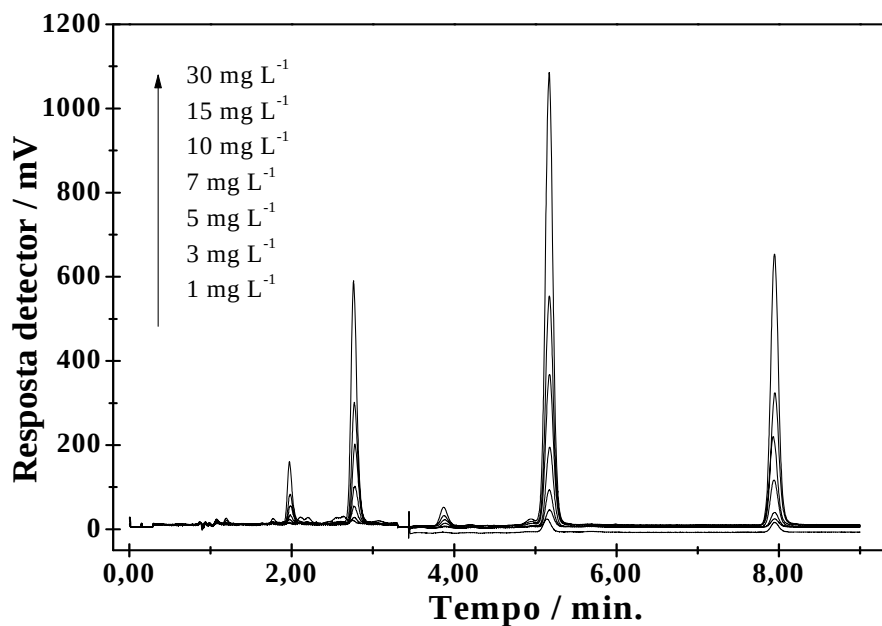


Figure 68 - Cromatogramas obtidos para separação dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 em diferentes concentrações usando $\lambda = 640$ nm entre 0 e 3,5 min e $\lambda = 490$ nm entre 3,5 e 9 min. Outras condições: Fase móvel: 0 - 3 min 85,0% de ACN, 3 - 4 min 100% de ACN e 4 - 9 min 100% de ACN sob vazão de $1,00 \text{ mL min}^{-1}$.

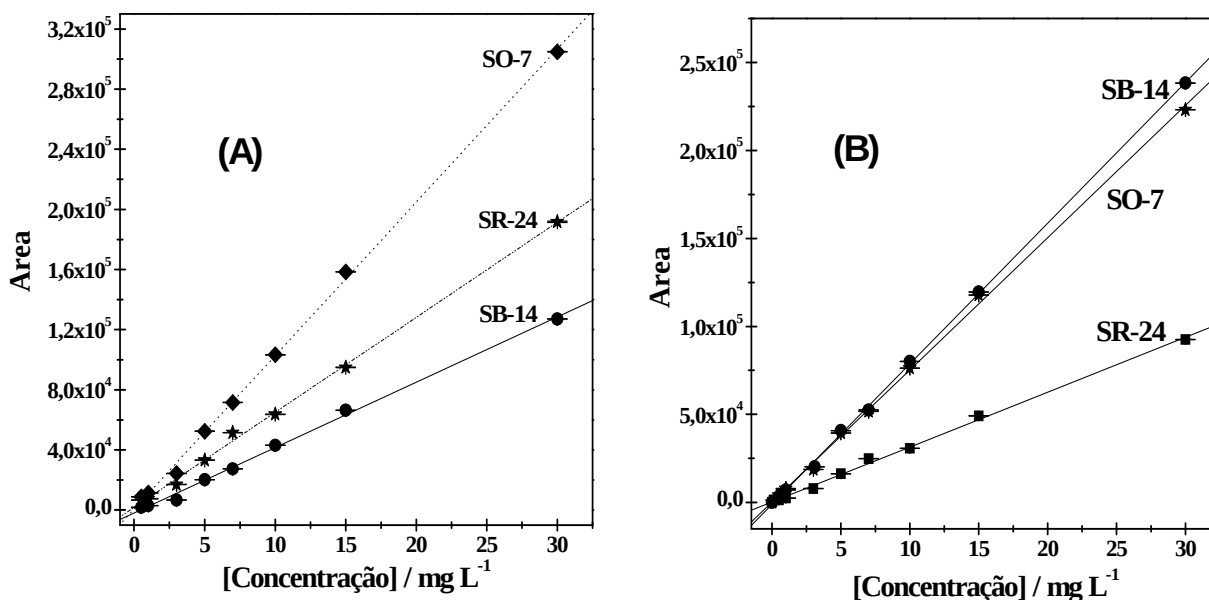


Figure 69 - (A) Curva analítica obtida para a detecção dos corantes em diferentes concentrações tal como mostrado na Figura 68. (B) detecção em 254 nm. Outras condições como na Figura 68.

Tabela 20 - Parâmetros analíticos obtidos da curva analítica representada na Figura 69.

Analito	Intervalo linear (mg L ⁻¹)	Intercepto (Área)	b (Área L mg ⁻¹)	r	LD (mg L ⁻¹)
SB-14					
$\lambda = 254$	0,50 – 30,0	-1084	$8,00 \times 10^3$	0,999	0,31
$\lambda = 640$	0,50 – 30,0	-1905	$4,35 \times 10^3$	0,998	0,85
SO-7					
$\lambda = 254$	0,50 – 30,0	234	$7,50 \times 10^3$	0,999	0,05
$\lambda = 490$	0,50 – 30,0	750	$1,02 \times 10^4$	0,999	0,55
SR-24					
$\lambda = 254$	0,50 – 30,0	2745	$3,10 \times 10^3$	0,998	0,71
$\lambda = 490$	0,50 – 30,0	1814	$6,30 \times 10^3$	0,999	0,70

r = coeficiente de correlação linear; **b** = Coeficiente angular; LD = limite de detecção.

Com o propósito de avaliar a exatidão do método proposto a partir de medidas de eficiência de extração, a quantificação dos três corantes em amostras de combustíveis contendo 2,00 e 5,00 mg L⁻¹ dos padrões intencionalmente adicionados foram analisadas empregando-se o método do padrão externo. Procedimentos de extrações e análises para cada nível de concentração estudado foram realizados em triplicata seguindo o método descrito anteriormente na seção experimental (2.3.2.2). Usando estes procedimentos de pré-tratamento da amostra de gasolina e monitorando a detecção em 254 nm não foi possível detectar os corantes de interesse, devido à presença de componentes interferentes fortemente absorvidos neste comprimento de onda, principalmente nos primeiros 5,00 minutos de análise.

A Figura 70 mostra os cromatogramas obtidos para amostra de gasolina isenta dos corantes (branco) e amostra contendo 2,00 mg L⁻¹ dos corantes (amostra C) após processo de extração (Procedimento II, seção 2.3.2.2) e submetidas a análise empregando a melhor condição cromatográfica anteriormente descrita na Figura 68. Como pode ser verificado, a presença de picos e perturbações na linha-base durante os primeiros 4,00 minutos de análise revelam que, nesta condição os componentes mais polares presentes na amostras não foram totalmente eliminados. Entretanto, este efeito não comprometeu a detecção do corante SB-14, cuja eluição em tempo de retenção de ~2,80 minutos permitiu identificar e quantificar com precisão e exatidão aceitável (Tabela 21). Os dados estatísticos calculados a partir da

eficiência de extração e apresentados na Tabela 21 indicam que estes são aceitáveis para quantificação de todos os corantes somente após emprego dos procedimentos I e II (amostras A-C).

Considerando a natureza apolar dos corantes SO-7 e SR-24 e a natureza polar do material sorvente (Sílica gel), o baixo valor de eficiência de extração verificado neste caso, pode ser explicado pela fraca interação entre estes corantes e a fase estacionária quando o procedimento III é utilizado. Assim, perdas consideráveis durante o processo de lavagem são inevitavelmente observadas devido à forte interação destes corantes com a fase móvel de limpeza (hexano) empregada. Embora, esse tenha sido um dos principais problemas no uso do método de extração (procedimento III), o hexano não pode ser de fato evitado no decorrer deste trabalho devido principalmente a falta de um solvente com polaridade similar a dos combustíveis que, eliminasse completamente os interferentes hidrocarbonetos sem interferir na retenção dos analitos retidos na fase estacionária.

Em geral, um importante ponto a ser considerado neste trabalho foram os diferentes procedimentos de preparação e extração dos analitos na amostra de gasolina, cujos resultados evidenciam que a eficiência na eluição/separação e detecção do composto mais polar (SB-14) depende principalmente da qualidade do processo de eliminação dos interferentes. Embora, um limitado número de amostra e análises tenha sido apresentado, estes resultados fornecem informações importantes para quantificação envolvendo amostras de combustíveis. Considerando a miscelânea de componentes interferentes de natureza apolares e polares presentes em combustíveis, o desenvolvimento de métodos de purificação de analitos presentes nessas matrizes são bastante comprometidos, principalmente quando o modo de separação escolhido é a fase reversa (C-8, C-18, etc.).

Finalmente, analisando os dados apresentados na Tabela 21 é possível inferir que o método proposto possui valores estatísticos aceitáveis dentro do esperado teoricamente para uma metodologia parcialmente validada [105, 106], de modo que, pode ser uma alternativa na detecção e quantificação destes corantes em amostra de gasolina.

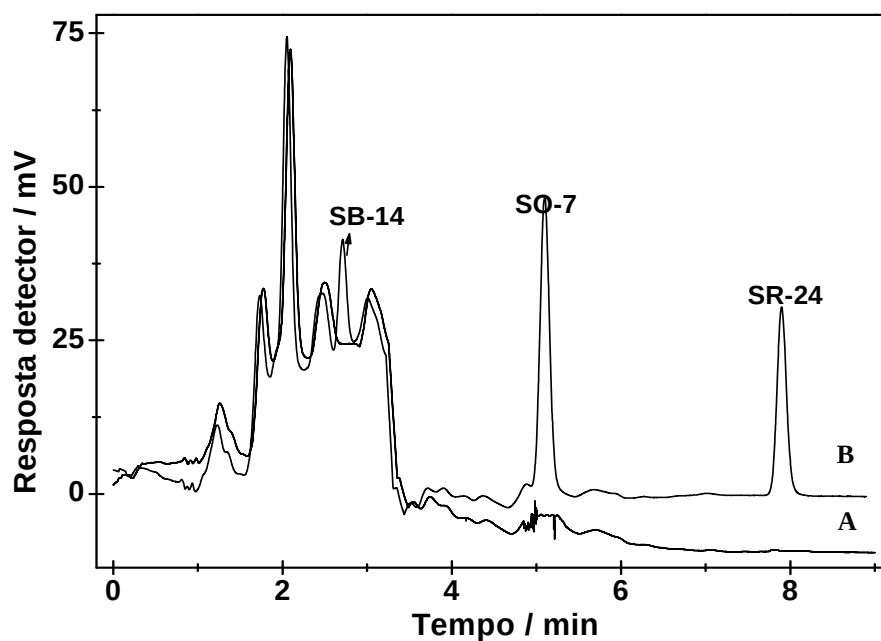


Figure 70 - Cromatogramas registrados para análise de amostras de gasolina depois de submetidas à extração como mencionada no procedimento II (seção 2.3.2.2). (A) amostra de gasolina isenta dos corantes e (B) amostra C contendo $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ dos corantes. Condições como descrito na Figura 68.

Tabela 21 - Resultados de eficiência de extração obtidos para quantificação dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 em amostras de gasolina.

Corantes	Amostras	Adicionado (mg L^{-1})	Encontrado ^[a] (mg L^{-1})	Eficiência (%)	DPR (%)
SB-14	Amostra A	2,00	1,70	85,0	7,50
	Amostra B	3,00	2,40	80,0	3,85
	Amostra C	2,00	1,34	67,0	4,80
	Amostra D	2,00	1,33	66,5	4,50
SO-7	Amostra A	2,00	2,30	115	0,30
	Amostra B	3,00	2,90	96,7	4,10
	Amostra C	2,00	2,08	104	3,10
	Amostra D	2,00	0,40	20,0	0,35
SR-24	Amostra A	2,00	2,04	102	1,50
	Amostra B	3,00	2,90	96,7	5,70
	Amostra C	2,00	2,20	110	2,30
	Amostra D	2,00	0,61	30,7	4,70

^[a] média de 3 determinações; DPR desvio padrão relativo.

3.7. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção Eletroquímica

3.7.1. Caracterização Voltamétrica dos Corantes

Previamente aos estudos cromatográficos com detecção eletroquímica, voltamogramas cíclicos para $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ dos corantes QNZ, SB-14, SO-7, SB-35 e SR-24 foram registrados em acetonitrila (ACN) contendo 30,0% de solução aquosa de acetato de amônio (0,10 mol L⁻¹), com o objetivo de investigar a oxidação voltamétrica desses corantes em condição similar aquela adotada na análise cromatográfica. A Figura 71 mostra que todos os corantes apresentam pico de oxidação bem definidos em potenciais de +0,43 V (QNZ), +0,59 V (SB-14), +0,60 V (SB-35), +0,70 V (SO-7) e +0,71 V (SR-24), respectivamente. O intervalo útil de potencial limita-se a +1,00 V, sendo que valores de potenciais iguais ou superiores a +1,00 V poderiam causar grandes flutuações na linha base em sistemas cromatográficos com detecção eletroquímica [40], necessitando um longo tempo de estabilização do sistema de detecção. No entanto, verifica-se que todos os corantes foram eletroquimicamente detectados em valores de potenciais entre +0,40 e +0,70 V vs. Ag/AgCl, evidenciando que aplicação de voltagens ao redor de +0,80 V é suficiente o bastante para promover a detecção de todos os corantes na mistura.

Deste modo, os estudos preliminares visando à otimização da melhor condição experimental de análise foram conduzidas a partir do estudo da composição da fase móvel, testando-se diferentes combinações adotando-se um potencial de oxidação de +0,80 V, o qual foi suficiente para detecção dos corantes analisados na mistura.

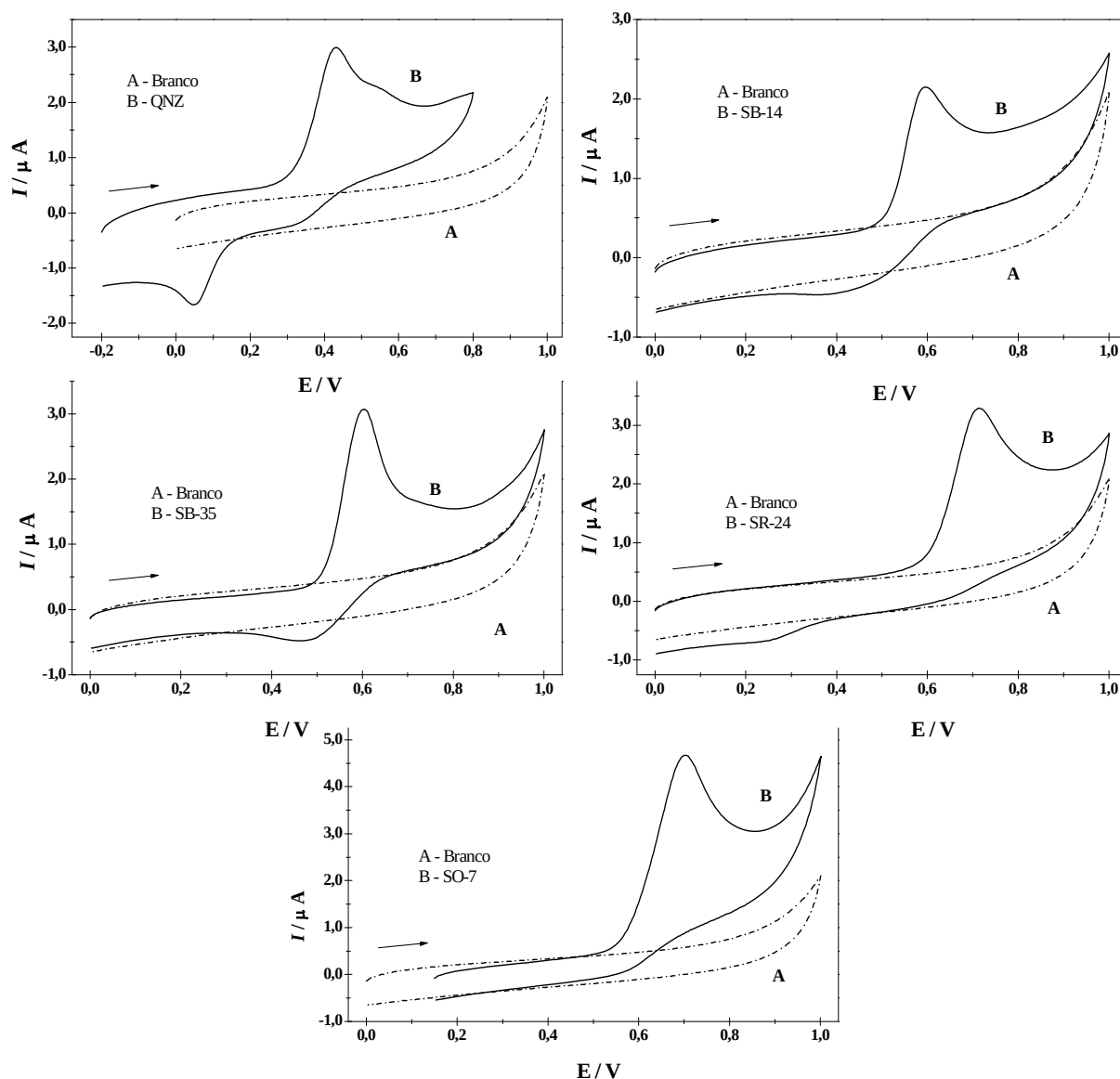


Figura 71 - Voltamogramas cíclicos registrados para oxidação eletroquímica de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ dos corantes QNZ, SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 em meio de ACN / acetato de amônio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (70:30, v/v). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

3.7.2. Otimização dos Parâmetros Cromatográficos

De acordo com os resultados obtidos previamente na análise dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 empregando-se a técnica de CLAE com detecção no ultravioleta e visível (UV-Vis), verificou-se que para um sistema otimizado com eluição em fase móvel ACN e H_2O em modo gradiente 85,0-100% de ACN e vazão de $1,00 \text{ mL min}^{-1}$ o tempo de retenção foi significativamente reduzido. No entanto, esta condição não pode ser adaptada ao sistema de CLAE com detecção eletroquímica, devido às drásticas mudanças na composição e

condutividade do meio em sistemas operando em modo gradiente que, conseqüentemente inviabiliza sua utilização. Do mesmo modo, estudos realizados em fase móvel contendo soluções ácidas como eletrólito suporte (ácido acético e ácido fórmico, 1,00 mmol L⁻¹) não se mostraram satisfatórios.

É importante ressaltar que na técnica de CLAE, a seletividade dos compostos está associada às características da fase móvel e da fase estacionária e as respectivas interações entre elas, e a força da fase móvel geralmente é obtida pela alteração nas proporções e nas variações de solvente de eluição [27, 37, 39]. Neste caso, ACN apresenta maior força de eluição em sistemas cromatográficos operando em fase reversa, de modo que, os ajustes dos parâmetros de performance analítica tais como: capacidade de retenção (*k*), resolução (*R_s*), eficiência da coluna, baixa pressão do sistema de bombeamento, etc., utilizando estes solventes combinados com uma variedade de soluções aquosas tem propiciado excelentes resultados [27, 37]. Entretanto, devido à maior hidrofobicidade dos corantes SO-7 e SR-24 em relação aos demais que, por conseguinte, são fortemente retidos em colunas cromatográficas operando em fase reversa (por exemplo, RP-C8, RP-C18) há necessidade de elevadas proporções do solvente orgânico na composição da fase móvel.

Dentro deste contexto e considerando as características físico-químicas dos corantes apresentadas na Tabela 2 (Introdução), cujo caráter menos polar confere altíssima afinidade por solventes de baixa à média polaridade como acetona e acetonitrila, os estudos foram conduzidos empregando-se ACN como solvente orgânico. Assim, a otimização da fase móvel foi realizada após ensaio de diferentes combinações, sendo inicialmente escolhida uma mistura de acetonitrila (ACN) e acetato de amônio (2,00 mmol L⁻¹), cujos cromatogramas registrados em diferentes proporções estão apresentados na Figura 72. Os respectivos cromatogramas são caracterizados por 6 picos principais detectados na mistura, os quais foram enumerados por **1**, **2**, **3**, **4**, **5** e **6**, respectivamente. Os parâmetros cromatográficos obtidos para avaliação da eficiência do sistema de separação extraídos dos cromatogramas estão resumidos na Tabela 22 em que, somente os picos **3**, **4**, **5** e **6** foram escolhidos para este estudo por apresentarem maior definição e intensidade.

A análise da Figura 72 (cromatograma **I**) revela que o estudo inicial realizado em fase móvel contendo alta proporção de fase orgânica (ACN) não promoveu resultados satisfatórios, confirmado pela pobre resolução apresentada entre os picos **2** e **3**, e **4** e **5**, comprometendo assim, a obtenção dos parâmetros cromatográficos. Ao mesmo tempo, verifica-se ainda um perfil cromatográfico bastante ondulado em altas percentagens de ACN Figura 72 (cromatogramas **I** e **II**), cuja oscilação é ainda maior quando a composição da fase

móvel é mantida em 85:15 (v/v). Estas ondulações podem ser associadas a uma maior resistividade do sistema de detecção devido a baixa concentração eletrolítica no meio que, eventualmente promove variações indesejáveis ao perfil do cromatograma. Por outro lado, a eluição para os compostos mais hidrofóbicos SO-7 e SR-24 requer um maior tempo de análise em baixas percentagens de ACN Figura 72 (cromatograma **IV**) e os picos são bastante alargados em função de uma maior interação com a fase estacionária.

Como anteriormente citado o uso de modo gradiente de eluição em sistemas cromatográficos com detecção eletroquímica não é comum devido principalmente a uma grande mudança na condutividade da fase móvel e o controle da estabilização da linha base é muito difícil. Este comportamento foi claramente observado quando modo gradiente foi usado na análise desses corantes.

O uso de fase móvel composta por ACN / acetato de amônio ($2,00 \text{ mmol L}^{-1}$) na proporção de 75:25 (v/v) Figura 72 (cromatogramas **III**) produziu resultados satisfatórios com picos bem definidos em tempos de retenção entre 2,00 e 12,0 min, cujos parâmetros cromatográficos mostrados na Tabela 22 expressam melhor essas observações. No entanto, como visto em todas as análises, a identificação do pico atribuído a detecção da QNZ (composto mais polar) foi praticamente comprometida devido à proximidade com o pico de injeção (tempo morto). Assim, valores de parâmetros cromatográficos (R_s , k , e seletividade) dentro do limite mínimo considerado ideal [27, 37] foram obtidos quando a fase móvel foi mantida em 75,0% de ACN, onde é possível verificar que a composição forneceu condutividade suficiente para o meio e, ao mesmo tempo, não foi necessário o uso de modificadores orgânicos para redução do fator de cauda (T).

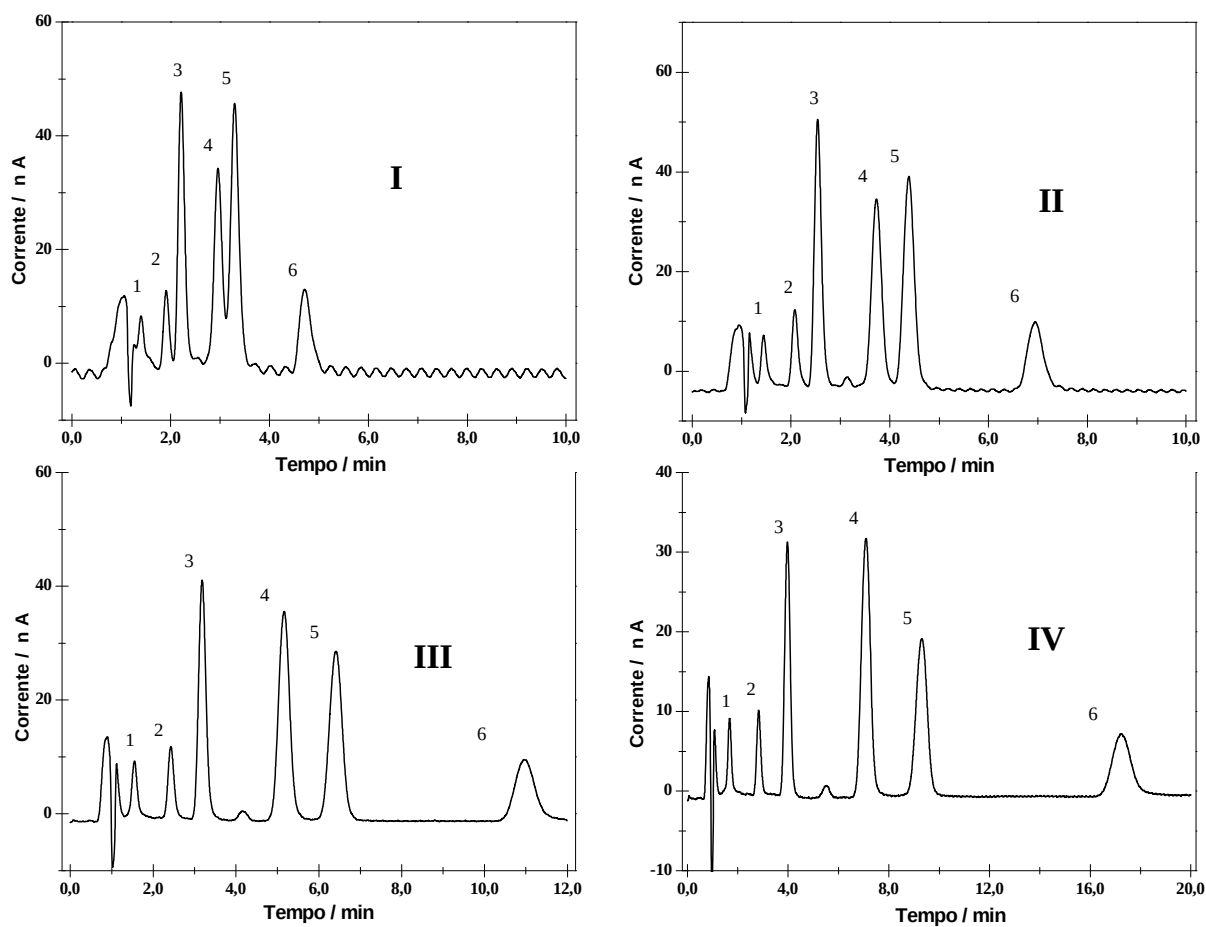


Figure 72 - Cromatogramas obtidos para detecção eletroquímica em +0,80 V dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 ($0,51 \text{ mg L}^{-1}$) e QNZ ($0,43 \text{ mg L}^{-1}$) separados em coluna C-8 e eluídos em fase móvel ACN / acetato de amônio ($2,00 \text{ mmol L}^{-1}$) em diferentes proporções: (I) 85:15, (II) 80:20, (III) 75:25 e (IV) 70:30. Condições: vazão = $0,75 \text{ mL min}^{-1}$.

Tabela 22 - Parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico obtidos para eluição dos corantes em diferentes proporções de fase móvel como na Figura 72.

Composição (Fase móvel)	Parâmetros	Picos			
		3	4	5	6
85:15	t_r (min.)	2,21	2,96	3,30	10,9
	k	1,21	1,96	2,30	3,72
	R_s	1,40	-	1,20	4,00
	T	1,23	-	-	1,29
80:20	t_r (min.)	2,54	3,73	4,39	6,95
	k	1,54	2,73	3,39	5,95
	R_s	2,10	3,90	1,70	5,20
	T	1,14	1,05	1,09	1,01
75:25	t_r (min.)	3,18	5,16	6,41	10,9
	k	2,18	4,16	5,40	9,97
	R_s	2,80	5,00	2,40	6,50
	T	1,15	1,08	1,07	1,01
70:30	t_r (min.)	3,98	7,07	9,30	17,2
	k	2,98	6,07	8,30	16,2
	R_s	3,50	5,80	3,00	7,50
	T	1,02	1,09	0,99	0,86

t_r = tempo de retenção; k = fator de retenção; e R_s = resolução, o qual foi obtido em relação aos picos mais próximos e T = fator de cauda (simetria).

De acordo com as estruturas moleculares dos corantes apresentadas na Tabela 2 (Introdução), verifica-se que há diferenças bastante consideráveis de polaridade entre os corantes QNZ e SR-24, de modo que, analisá-los na mistura com sistema cromatográfico operando em modo isocrático, podem levar a uma análise extremamente longa. Por outro lado, a tentativa de reduzir o tempo de análise em função do tempo de retenção do composto menos polar (SR-24) comprometeu significativamente a detecção dos compostos mais polares que, neste caso eluíram muito próximo ao volume morto (tempo morto). De acordo, com o verificado anteriormente para análise dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 em amostras de gasolina sob separação em coluna de fase reversa (C-18), a obtenção de cromatogramas na presença da matriz (Figura 70) é bastante perturbada pela presença de uma grande variedade

de interferentes que eluem e, conseqüentemente, são detectados nos primeiros três minutos de análise.

Dentre as possibilidades de melhorar a simetria dos picos e ao mesmo tempo reduzir o tempo de análise, pode-se destacar o estudo da composição e percentagem de solvente orgânico na fase móvel, bem como a vazão da fase móvel. Assim sendo, para adequação do sistema, com o objetivo de melhorar a condição cromatográfica de análise, novamente os estudos foram baseados na análise dos parâmetros cromatográficos: fator de retenção (k), seletividade (α) e resolução (R_s), os quais foram estimados a partir da obtenção de cromatogramas após ajustes de diferentes composições e vazão da fase móvel.

Deste modo, uma série de experimentos foram realizados na qual a vazão da fase móvel foi sistematicamente variado, a fim de reduzir o tempo de análise para o composto menos polar (SR-24) sem comprometer drasticamente a detecção dos demais corantes. Igualmente, os estudos visando à otimização da melhor condição experimental de análise também foram conduzidos ajustando-se diferentes composições da fase móvel, as quais foram inicialmente adotadas com composição de ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) em 70:30 e 75:25 (v/v) e medindo-se a resposta do detector eletroquímico após manter constante a vazão da fase móvel em 0,75 e 0,55 mL min⁻¹ (Figura 73, cromatogramas **I** e **II**). Os cromatogramas obtidos com sistema de eluição operando em modo isocrático mostram que a análise procedeu-se em um tempo razoavelmente longo. Neste caso, o tempo de retenção (t_r) para os compostos principais, cujos picos são mais evidentes é de aproximadamente 4,00 min para a substância de maior polaridade e entre 14,0 e 18,0 min para a substância de menor polaridade. Além disso, o pico referente à detecção do composto mais hidrofílico ($t_r = 16,0$ min) apresentou-se bastante alargado, possivelmente pela forte interação com a fase estacionária de característica apolar. Por outro lado, os picos atribuídos a detecção de possíveis contaminante nos padrões (picos em 2,00; 3,00 e 5,00 min, cromatogramas **I**, **III** e **IV**, respectivamente) apresentam boa resolução e, não se sobrepõem aos picos principais dos compostos de interesse, de modo que, não compromete a obtenção precisa dos valores de área para análises objetivando fins quantitativos.

Os cromatogramas mostrados na Figura 73 (cromatogramas **III** e **IV**) revelam um perfil cromatográfico ligeiramente melhor quando composição de fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) em 70:30 e 75:25 (v/v) e variando-se a vazão da fase móvel durante a análise é utilizado. No entanto, como a ACN tem uma alta força eluente para sistemas operando em modo reverso [27, 37-39], a melhor composição foi verificada com 75,0% de ACN (cromatograma **IV**) em que, os picos foram eluídos mais rapidamente diminuindo

consideravelmente o tempo de análise e, além disso, encontram-se satisfatoriamente separados. Os parâmetros cromatográficos do sistema calculados para os picos de maior intensidade são apresentados na Tabela 23. As informações contidas na Tabela 23 permitem verificar que, variando a vazão da fase móvel durante a análise (Figura 73, cromatograma IV) promoveu mudanças significativamente importantes nos parâmetros cromatográficos com resultados aceitáveis dentro da condição de análise e, valores bem próximos de uma faixa ótima de trabalho [27, 37].

Portanto, avaliando-se os resultados obtidos e mostrados nas Figuras 72 e 73, bem como, nas Tabelas 22 e 23, durante ajuste do k para os compostos de polaridade extrema, verifica-se que tanto os picos de interesse quanto os picos interferentes mais próximos são satisfatoriamente resolvidos. Levando-se em considerações os valores dos parâmetros cromatográficos reunidos nas Tabelas 22 e 23 e o tempo de análise, é possível constatar que o sistema composto por ACN / acetato de amônio ($5,00 \text{ mmol L}^{-1}$) na proporção de 75:25 (v/v) variando a vazão da fase móvel em $0,60 \text{ mL min}^{-1}$ entre 0 e 4,00 min e $1,20 \text{ mL min}^{-1}$ entre 6,00 e 12,00 min foi satisfatoriamente adequada. Assim, esta condição foi adotada para análises envolvendo fins analíticos.

O efeito da concentração do acetato de amônio no perfil cromatográfico também foi considerado e investigado em valores de concentrações de $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $2,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A diminuição da condutividade ocorrida pela baixa concentração do eletrólito provocou oscilações constantes na linha base dos cromatogramas registrados, possivelmente pelo ligeiro aumento na resistividade do sistema que, conseqüentemente aumentou consideravelmente o ruído do sistema de detecção. Dessa forma, em todos os casos utilizou-se acetato de amônio na concentração de $5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, cuja concentração foi suficiente para manter a condutividade do meio.

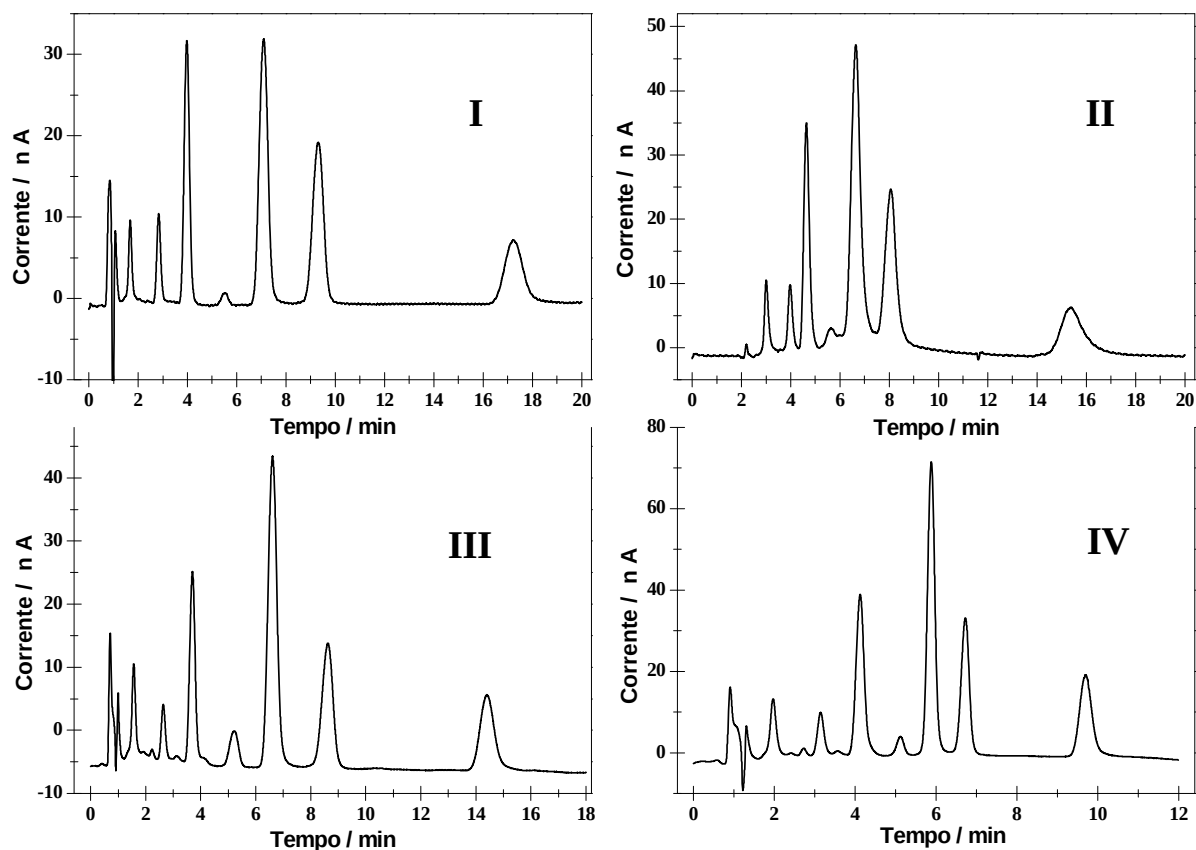


Figura 73 - Cromatogramas obtidos para detecção eletroquímica em +0,80 V dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 ($0,51 \text{ mg L}^{-1}$) e QNZ ($0,43 \text{ mg L}^{-1}$) separados em coluna C-8 e eluídos em fase móvel ACN / acetato de amônio (5 mmol L^{-1}). Condições: (I) composição fase móvel 70:30 e vazão = $0,75 \text{ mL min}^{-1}$; (II) 75:25 e vazão = $0,55 \text{ mL min}^{-1}$; (III) 70:30 e vazão iniciando em $0,60 \text{ mL min}^{-1}$ até 4 min e $1,20 \text{ mL min}^{-1}$ entre 6 e 12 min; (IV) 75:25 e vazão de $0,60 \text{ mL min}^{-1}$ entre 0 - 4 min e $1,20 \text{ mL min}^{-1}$ entre 6 e 12 min.

Tabela 23 - Parâmetros de conformidade do sistema cromatográfico obtidos para eluição dos corantes em diferente otimização da vazão da fase móvel como na Figura 73.

Cromatogramas	Parâmetros	Picos			
		3	4	5	6
Figura 73 (I)	t_r (min.)	3,98	7,07	9,30	17,2
	k	2,98	6,07	8,30	16,2
	R_s	3,50	5,80	3,00	7,50
	T	1,02	1,09	0,99	0,86
Figura 73 (II)	t_r (min.)	4,63	6,63	8,03	15,4
	k	3,63	5,63	7,03	14,4
	R_s	1,80	3,70	1,90	6,60
	T	1,24	1,18	1,14	1,07
Figura 73 (III)	t_r (min.)	3,70	6,61	8,63	14,4
	k	2,70	5,61	7,63	13,4
	R_s	3,60	2,40	3,10	6,90
	T	1,02	1,05	0,88	1,06
Figura 73 (IV)	t_r (min.)	4,12	5,88	6,73	9,71
	k	3,13	4,88	5,73	8,71
	R_s	3,10	2,50	2,40	6,50
	T	1,07	1,05	0,95	0,98

t_r = tempo de retenção; k = fator de retenção; e R_s = resolução, o qual foi obtido em relação aos picos mais próximos e T = fator de cauda (simetria).

De acordo com o certificado de pureza dos corantes também mostrados na Tabela 2, verifica-se que os azos corantes SO-7 e SR-24 possuem grau de pureza de 90,0 e 80,0%, respectivamente, e como consequências algumas dessas impurezas podem ser detectadas pela ocorrência de picos com tempos de retenção comparáveis aos picos de interesse. Assim, a identificação dos picos para os compostos de interesse nos cromatogramas das Figuras 72 e 73 foram conduzidas pela análise comparativa dos tempos de retenções por injeção individual e na mistura de 0,50 mg L⁻¹ dos corantes sempre utilizando a mesma condição experimental da Figura 73 (cromatograma IV). A Figura 74 apresenta os cromatogramas registrados para os padrões dos corantes após análise individual e na mistura, cuja comparação do tempo de retenção permite identificar os picos majoritários referente à detecção dos corantes de

interesse. De acordo com esses cromatogramas, observa-se que os corantes SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 são facilmente detectados e identificados usando a condição de análise com picos bem definidos e resolvidos. No entanto, como pode ser visto na Figura 74, a identificação do pico atribuído a detecção da QNZ foi completamente comprometida pela presença de um pico no volume morto, cuja presença não permite distinguir entre o sinal do composto de interesse e o sinal referente a oxidação da fase móvel. Além disso, analisando-se os cromatogramas referentes a detecção individual e na mistura dos demais corantes observa-se que, novamente, picos próximos ao volume morto da coluna com tempo de retenção comparável àquele registrado para QNZ é observado, cuja presença evidencia que este corante não é detectado usando esta condição de análise.

A seletividade do sistema de detecção eletroquímica foi testada analisando-se uma amostra de gasolina após extração usando procedimento I (seção 2.3.2.3) na ausência e presença dos corantes, cujo critério de aprovação adotado foi a não existência de picos potencialmente interferentes no mesmo tempo de retenção do analito de interesse. Para certificar de que os padrões dos corantes fossem seletivamente detectados, 1,00 mg L⁻¹ foram individualmente adicionados na matriz e submetidos a análise sob a mesma condição experimental acima descrita (Figura 74). Portanto, quando amostra de gasolina foi submetida à análise cromatográfica verifica-se que a composição química da matriz gera muitos picos interferentes nos primeiros 6,0 minutos (Figura 75), os quais são inteiramente sobrepostos ao pico principal do corante SO-7 comprometendo drasticamente sua identificação. Outros testes foram realizados com objetivo de maximizar a separação entre os picos interferentes da matriz e do corante SO-7, na qual a fase móvel e a vazão foram sistematicamente variados. Contudo, nenhuma mudança satisfatória foi verificada após realização dos diferentes procedimentos de análise. Sendo assim, comparando os testes realizados com os padrões dos corantes individualmente avaliados na ausência e na presença da matriz (Figura 75), é possível concluir que o sistema de detecção empregando a condição de análise otimizada é seletivo apenas para os corantes SB-14, SB-35 e SR-24, onde não há qualquer evidência de sobreposição de picos interferente nos cromatogramas registrados.

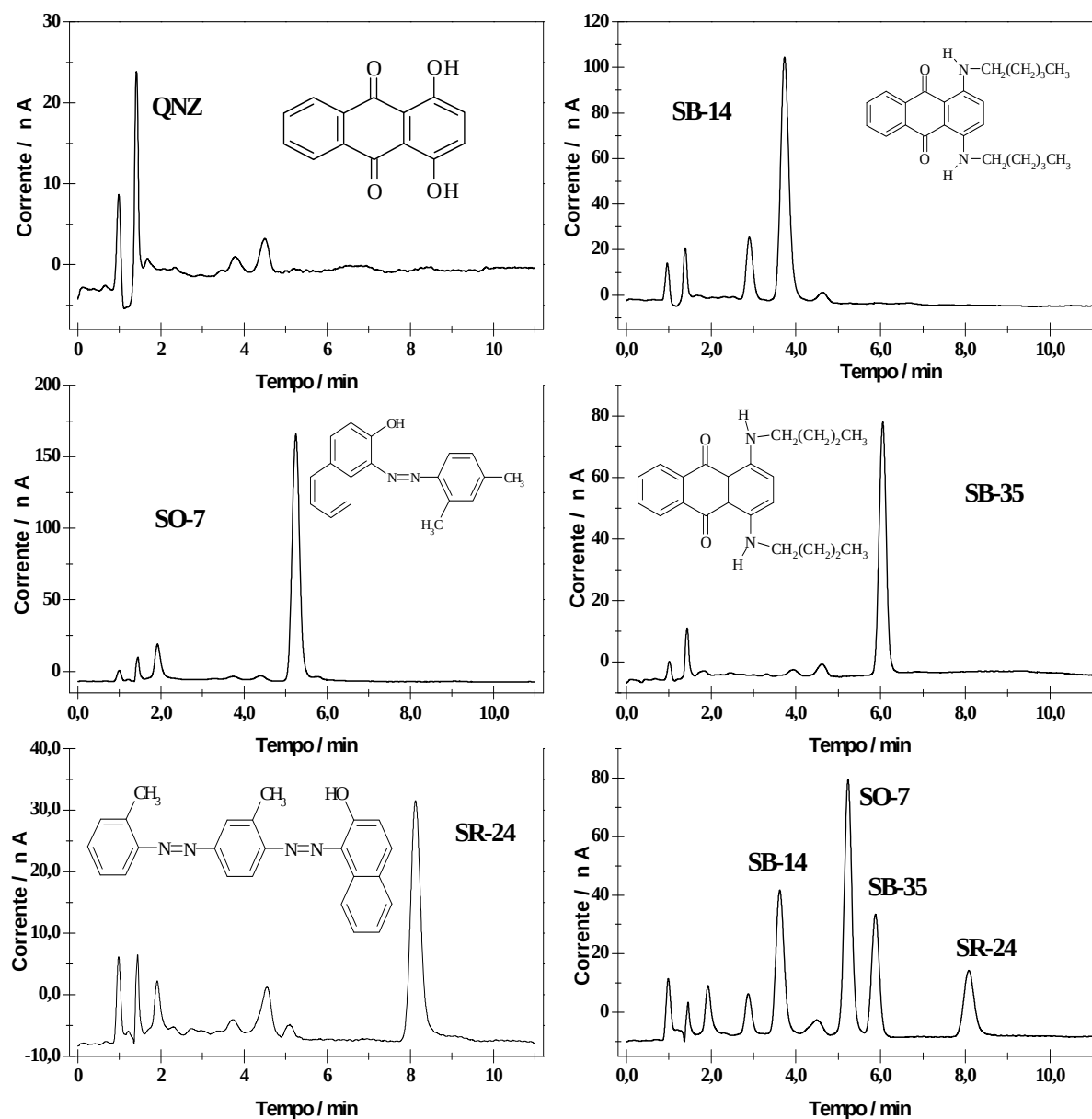


Figura 74 - Cromatogramas obtidos para detecção eletroquímica em +0,80 V dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 ($0,51 \text{ mg L}^{-1}$) e QNZ ($0,43 \text{ mg L}^{-1}$) separados em coluna C-8 e eluídos em fase móvel ACN / acetato de amônio ($5,00 \text{ mmol L}^{-1}$) 75:25 (v/v). Condições: vazão de $0,60 \text{ mL min}^{-1}$ entre 0 - 4 min e $1,20 \text{ mL min}^{-1}$ entre 6 e 11 min.

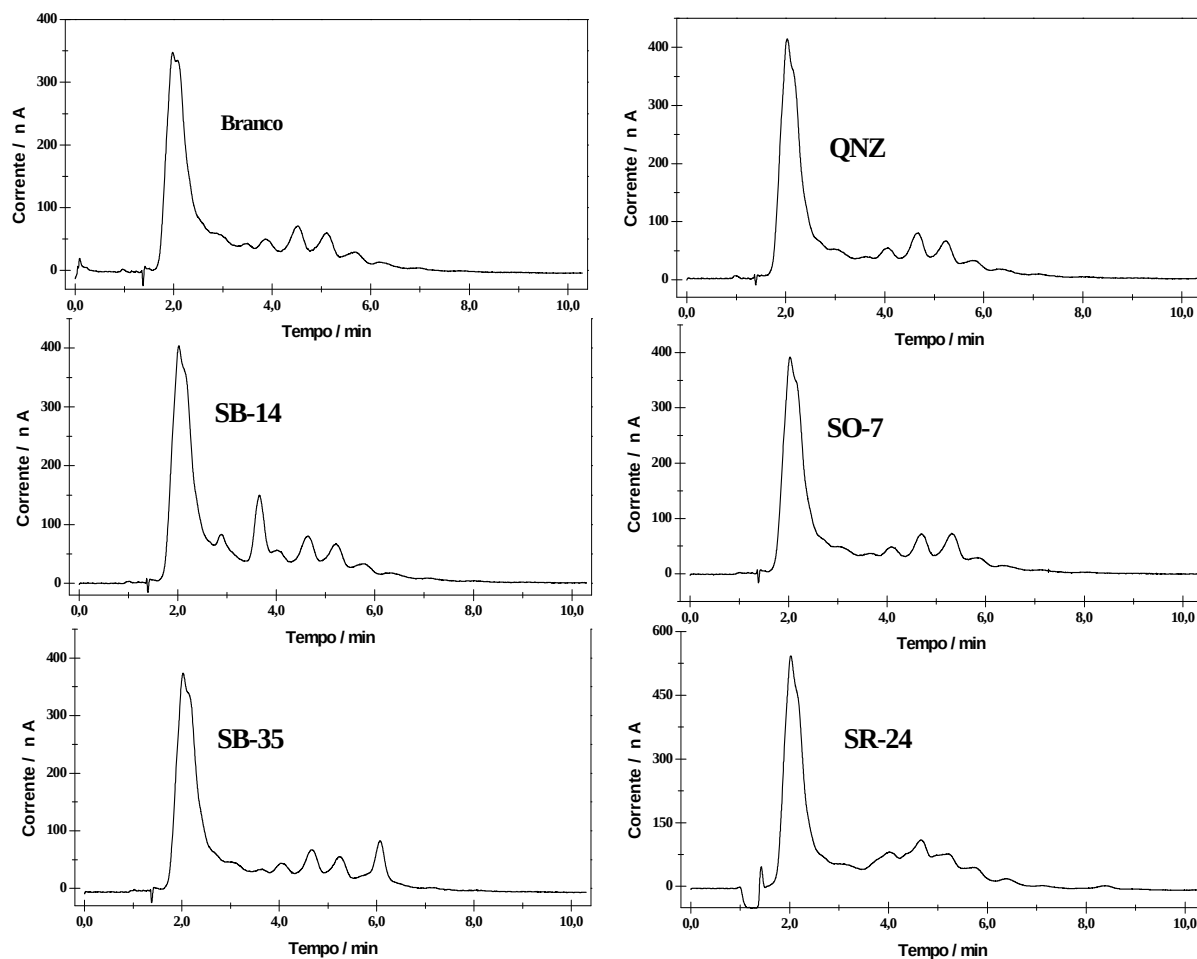


Figure 75 - Cromatogramas obtidos para detecção eletroquímica em +0,80 V dos corantes SB-14, SB-35, SO-7, SR-24 e QNZ ($1,00 \text{ mg L}^{-1}$) em presença da matriz após processo de extração tal como seção 2.3.2.3 (procedimento I). Condições: Fase móvel ACN / acetato de amônio ($5,00 \text{ mmol L}^{-1}$) 75:25 (v/v), vazão de $0,60 \text{ mL min}^{-1}$ entre 0 - 4 min e $1,20 \text{ mL min}^{-1}$ entre 6 e 11 min. Coluna C-8.

Tabela 24 - Parâmetros cromatográficos obtidos para detecção dos corantes em presença e ausência da matriz.

Condição	Parâmetros	Corantes					
		Branco	QNZ	SB-14	SO-7	SB-35	SR-24
Padrão na ausência da matriz Figura 74	t_r (min.)	-	-	3,73	5,25	6,05	8,13
	$W_{1/2}$ (min.)	-	-	12,3	11,3	10,4	15,4
	T	-	-	1,19	1,06	1,01	1,17
Padrão na presença da matriz Figura 75	t_r (min.)	4,51 5,10	-	3,66	-	6,07	8,37
	$W_{1/2}$ (min.)	14,4 14,4	-	12,7	-	12,0	16,0
	T	0,80 0,93	-	1,01	-	0,80	1,13

t_r = Tempo de retenção em min; $W_{1/2}$ = largura do pico a meia altura; T = fator de cauda (simetria).

3.7.3. Efeito do Potencial na Detecção Eletroquímica

Depois de estabelecida a melhor condição de trabalho para separação dos corantes avaliando-se a influência da composição da fase móvel, vazão e seletividade, o efeito do potencial de detecção foi avaliado. Os cromatogramas registrados para $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ dos corantes monitorando-se o efeito da voltagem aplicada no intervalo de $+0,50$ e $+1,00 \text{ V}$ (Figura 76) mostram que os corantes avaliados apresentam consideráveis diferenças no potencial de oxidação, de modo que, a seletividade e detectibilidade do sistema podem ser melhoradas pela seleção de um valor específico de potencial. Novamente, pode ser visto que o sinal cromatográfico para QNZ é suprimido. No entanto, para os demais corantes o máximo de intensidade de pico é observado em um valor de potencial ao redor de $+0,80 \text{ V}$, onde o perfil cromatográfico também foi significativamente alterado, principalmente pela minimização de perturbações na estabilização da linha base. Em valores de potencial extremos não é possível detectar satisfatoriamente todos os corantes, uma vez que em $+0,50 \text{ V}$ o sinal referente a detecção do corante SR-24 é significativamente inferior e, em $+1,00 \text{ V}$ perfil cromatográfico mal definido é observado juntamente com diminuição acentuada do sinal para todos os corantes de interesse.

Em concordância com o reportado na literatura [40], análises cromatográficas sob altos valores de potencial devem ser evitados, uma vez que, analitos e/ou impurezas presentes na fase móvel podem ser oxidados e contribuir consideravelmente para o aumento do fenômeno de adsorção e, conseqüentemente, afetar tanto a detectibilidade quanto seletividade e repetibilidade do sinal cromatográfico pela inativação da superfície. Além disso, o aumento do potencial de detecção acarreta em grande aumento na corrente de fundo (corrente da célula) que, dificulta a estabilização do sistema, de modo que, além de comprometer a detecção dos analitos de interesse acarreta em um longo tempo de espera. Neste trabalho, análises conduzidas com potencial de detecção superiores a $+0,90 \text{ V}$ acarretou em grandes perturbações no sistema, como pode ser visualizado no perfil cromatográfico da Figura 76, cuja perturbação foi acompanhada de uma excessiva elevação da corrente de fundo (aproximadamente 150 nA), necessitando maior tempo para estabilização da linha base. Nas análises realizadas com valores de potencial inferiores a $+0,85 \text{ V}$ verificou-se que a corrente de fundo é repetível com valor médio de $30,0 \pm 3 \text{ nA}$, cujo tempo de estabilização não ultrapassou $2,00$ minutos.

Voltamogramas hidrodinâmicos construídos para detecção dos corantes registrando-se o efeito da voltagem aplicada no intervalo de +0,50 a +1,00 V sob o perfil cromatográfico e a intensidade do pico são mostrados na Figura 77. Embora, a resposta do detector eletroquímico seja muito sensível às variações do potencial, efeito considerável na intensidade dos picos é verificado somente para detecção dos corantes contendo grupamento azo, tais como, o SO-7 e SR-24. Neste caso, observa-se que a intensidade do sinal aumenta proporcionalmente ao aumento do potencial e o comportamento do gráfico corrente vs. potencial é o que mais se aproxima de um sistema hidrodinâmico convencional [40]. Para os corantes antraquinona SB-14 e SB-35, cujas estruturas moleculares são similares, o aumento do potencial provoca uma leve queda na intensidade do sinal, uma vez que a oxidação desses dois compostos acontece ao redor de +0,60 V (Figura 71) e, assim, o perfil cromatográfico foi parcialmente afetado provavelmente pelo alto valor de potencial aplicado. Portanto, a escolha do melhor potencial para detecção dos corantes foi um compromisso entre intensidade de sinal em comum para todos os corantes, o qual analisando os cromatogramas da Figuras 76 evidencia como valor ótimo o potencial de +0,80 V, sendo este adotado para fins analíticos quantitativos.

O potencial de +0,80 V, representa o melhor compromisso entre máximo de altura do pico, razão sinal ruído e repetibilidade, de modo que foi escolhido para estudos futuros e construção da curva analítica. Nesta condição, a detectibilidade do sistema não foi alterada durante o período de trabalho e, para evitar efeitos de adsorção procedeu-se limpeza da célula eletroquímica a partir de polimento mecânico com pasta de diamante apenas ao início de uma semana de trabalho.

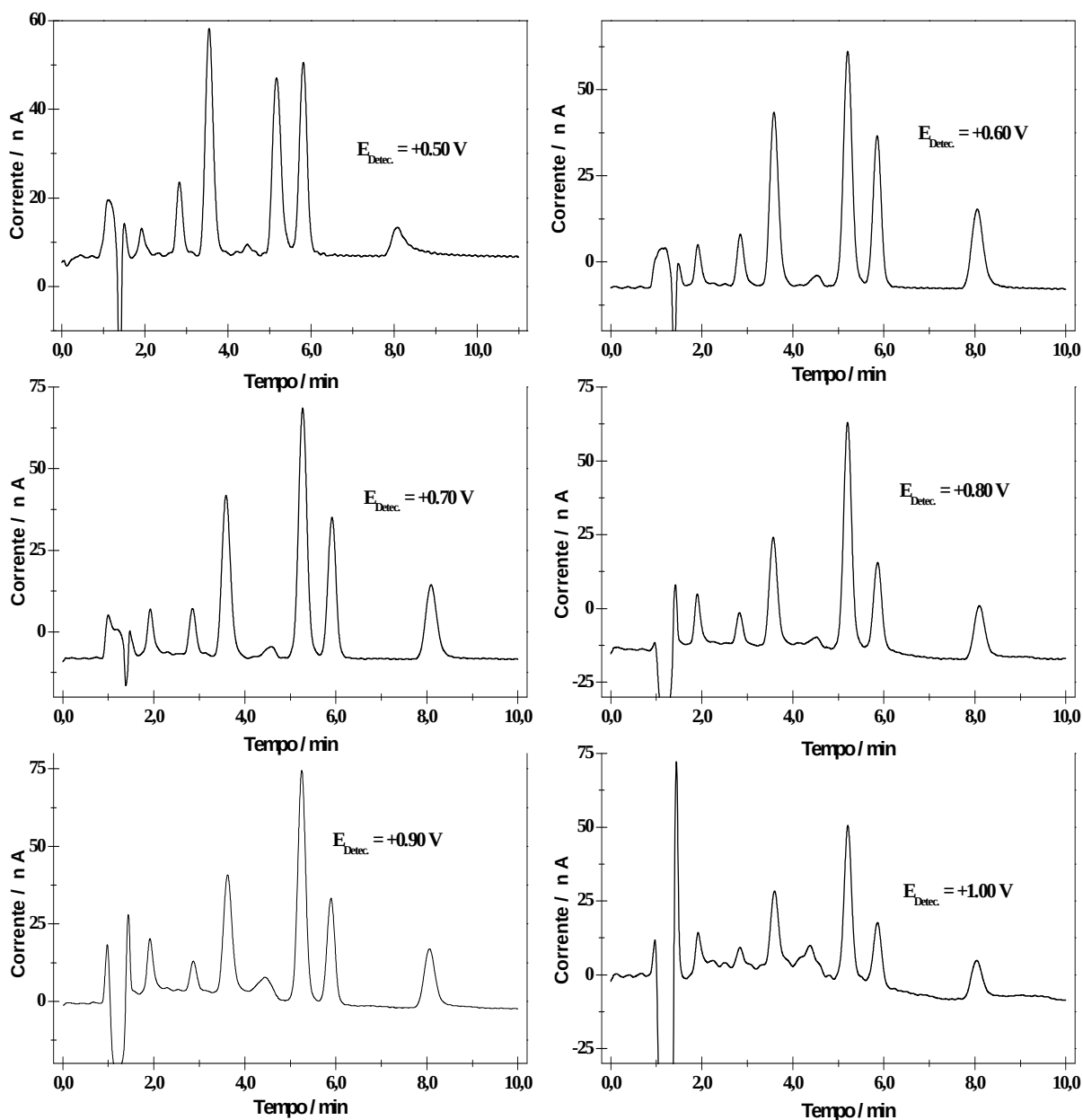


Figura 76 - Cromatogramas registrados para detecção de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ dos corantes QNZ, SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24 em diferentes potenciais. Condições: Fase móvel ACN / acetato de amônio ($5,00 \text{ mmol L}^{-1}$) 75:25 (v/v) e vazão de $0,60 \text{ mL min}^{-1}$ entre 0 - 4 min e $1,20 \text{ mL min}^{-1}$ entre 6 e 10 min. Coluna C-8.

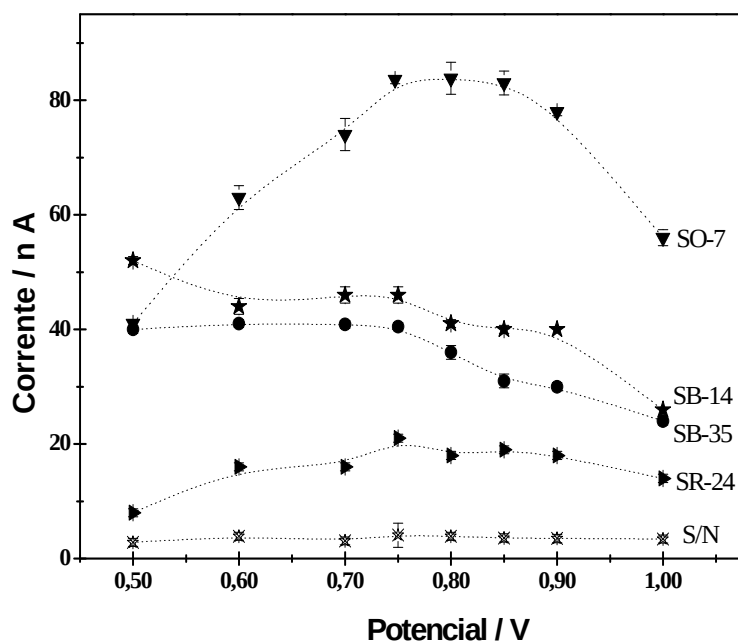


Figure 77 - Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para oxidação eletroquímica dos corantes como mostrado na Figura 76.

A repetibilidade de injeção foi avaliada após injetar 5 vezes uma solução padrão dos corantes contendo $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ (na ausência da matriz) e $0,60 \text{ mg L}^{-1}$ (na presença da matriz). Os cromatogramas registrados para detecção de injeções consecutivas do padrão dos corantes contendo $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ na ausência de matriz mostrou perfil cromatográfico bem definido com satisfatória repetibilidade expressada em termos da percentagem do desvio padrão relativo (%DPR) e, reunidos na Tabela 25. Neste caso, a repetibilidade calculada forneceu resultados satisfatórios para as duas formas de análise, cujos valores de DPR foram sempre inferiores ao limite máximo estipulado teoricamente para o nível de concentração avaliado [105]. Assim, o sistema de detecção indica ser preciso em termos de injeções consecutivas, de maneira que, pode ser empregado para estudos envolvendo a construção de uma curva analítica.

Tabela 25 - Parâmetros cromatográficos obtidos para estudos de precisão a partir da análise de repetibilidade.

Condição	Parâmetros	Corantes			
		SB-14	SO-7	SB-35	SR-24
Padrão na ausência da matriz	Área				
	Valor médio ^[a]	61260	107189	50522	35323
	DP	473	892	464	172
	DPR	0,77	0,83	0,92	0,49
Padrão na presença da matriz	Área				
	Valor médio ^[a]	74449	nd	39046	18290
	DP	797	nd	2029	2094
	DPR	1,07	nd	5,20	11,4

^[a] = média de 5 injeções; DP = desvio padrão; DPR= desvio padrão relativo; nd: não detectado devido coeluição com pico interferente da matriz.

3.7.4. Curva Analítica e Aplicação do Método

Inicialmente, soluções padrão dos corantes em intervalo de concentração entre 0,02 e 2,00 mg L⁻¹ foram injetadas usando condição cromatográfica previamente otimizada. Como apresentado na Figura 78, os cromatogramas registrados apresentam aumento proporcional da área do pico em função do aumento da concentração para todos os corantes avaliados. A resposta do detector eletroquímico (Área do pico) nas diferentes concentrações dos corantes foi usada para construir curva de calibração analítica (Figura 79), cuja mesma exibe relação linear em todo intervalo de concentração estudado com coeficiente de correlação sempre maior que 0,998. As equações de regressão linear para detecção de todos os corantes podem ser estimadas a partir dos parâmetros extraídos da Figura 79 e reunidos na Tabela 26.

O limite de detecção (LD) foi calculado para cada corante utilizando a relação matemática anteriormente descrita, $(3 \times DP/b)$, em que, **DP** novamente representa a estimativa do erro relativo ao coeficiente linear e **b** a inclinação da curva de calibração. Os LDs para os corantes estudados e reunidos na Tabela 26 são aceitáveis, de modo que, atendem as expectativas para os propósitos deste trabalho na detecção destes corantes em níveis inferiores daqueles inicialmente encontrado nestas matrizes. Observa-se ainda na Tabela 26, um

considerável aumento na sensibilidade do sistema de detecção quando comparada com aquela obtida com a detecção UV-Vis (Tabela 20).

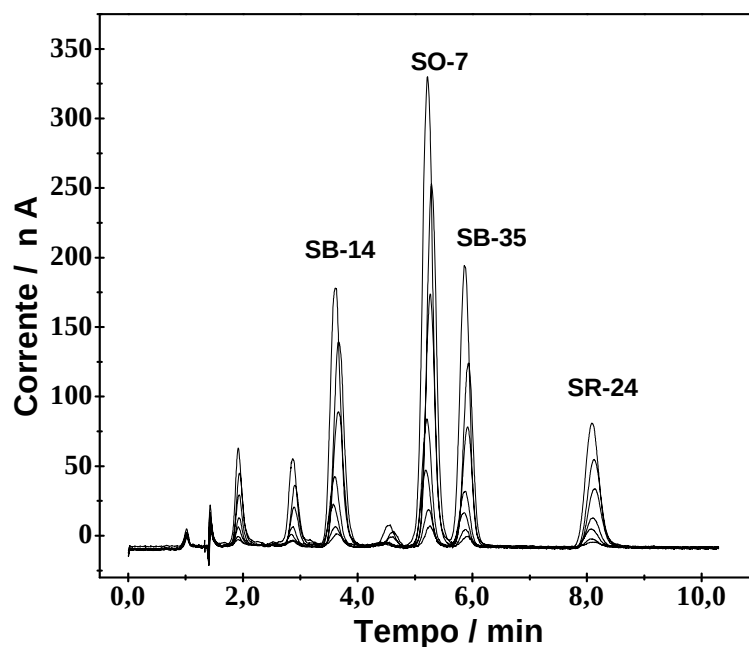


Figure 78 - Cromatogramas obtidos para detecção dos corantes em concentrações entre 0,08 e 2,00 mg L⁻¹ separados em coluna C-8 e eluídos em fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) na proporção de (75:25 v/v) e detecção em +0,80 V. Outras condições: Vazão: 0 - 4 min 0,60 mL min⁻¹, 4 - 6 min 1,20 mL min⁻¹ e 6 - 10,30 min 1,20 mL min⁻¹.

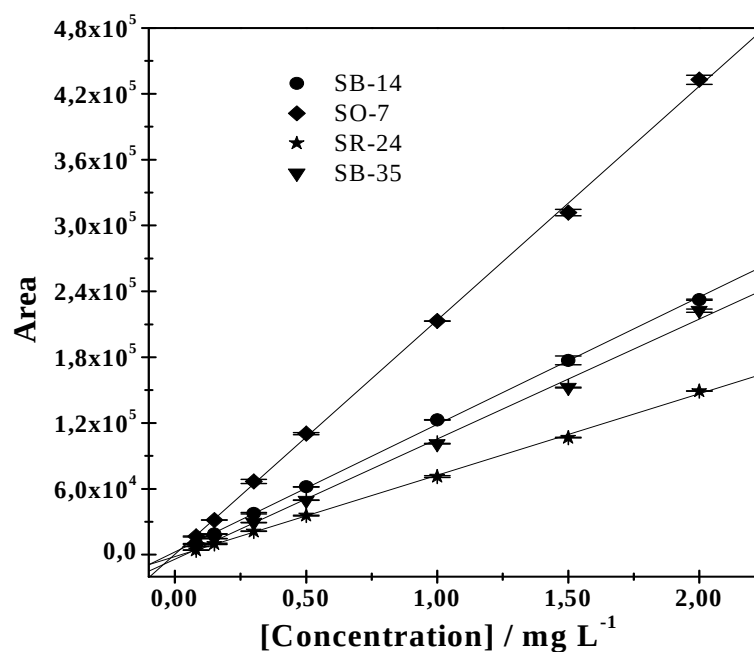


Figure 79 - Curva analítica obtida para detecção dos corantes em diferentes concentrações como mostrado na Figura 78.

Tabela 26 - Parâmetros analíticos extraídos da curva analítica apresentada na Figura 79.

Analito	Intervalo linear (mg L ⁻¹)	Intercepto (nA)	<i>b</i> (nA L mg ⁻¹)	<i>r</i>	LD (mg L ⁻¹)
SB-14	0,08 – 2,00	2716	1,20×10 ⁵	0,999	0,04
SO-7	0,08 – 2,00	544	2,10×10 ⁵	0,999	0,04
SB-35	0,08 – 2,00	-3832	1,10×10 ⁵	0,998	0,06
SR-24	0,08 – 2,00	-1687	7,40×10 ⁴	0,999	0,04

r = coeficiente de correlação; LD = limite de detecção.

Em seguida, a linearidade do sistema de detecção eletroquímica foi testada registrando-se cromatogramas em cinco diferentes concentrações dos padrões dos corantes diretamente adicionados em uma amostra de gasolina após submetida à processo de pré-tratamento (seção 2.3.2.3, Procedimento I). Neste caso, 500 µL dos padrões dos corantes foram misturados com 500 µL de amostra após procedimento de EFS para obter-se intervalo de concentração de 0,15; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mg L⁻¹. A Figura 80 mostra os respectivos cromatogramas registrados nas diferentes concentrações dos corantes SB-14, SB-35, SO-7 e SR-24, cuja resposta do detector para construção da curva analítica foi monitorada medindo-se a área dos picos de interesse. Como pode ser claramente verificado, somente os corantes SB-14, SB-35 e SR-24 são seletivamente detectados na presença da matriz e a curva analítica apresentou linearidade em todo intervalo de concentração estudado somente para os corantes SB-35 e SR-24 (Figura 81). Para o corante SB-14 uma relação linear foi observada somente no intervalo de concentração de 0,15 a 0,75 mg L⁻¹, cuja faixa foi considerada nos estudos futuros.

Os parâmetros cromatográficos referentes aos estes corantes SB-14, SB-35 e SR-24 foram extraídos e reunidos na Tabela 27. Uma análise crítica dos parâmetros cromatográficos apresentados na Tabela 27 nitidamente mostra que a sensibilidade do método cromatográfico para detecção desses corantes na ausência e presença de amostra de gasolina após extração estão muito próximos. No entanto, o intervalo linear de concentração foi ligeiramente reduzido quando o padrão foi adicionado na matriz, sendo esta redução mais pronunciada

quando a análise comparativa é realizada para detecção do corante SB-14. LD do sistema de detecção (Tabela 27) usando a relação matemática anteriormente descrita ($3 \times DP/b$), indicando que o procedimento proposto pode oferecer detectibilidade suficiente para detecção destes corantes em amostras de gasolina, pois atendem os propósitos iniciais do trabalho. Além disso, estes valores são estatisticamente aceitáveis [36, 101, 105], principalmente se comparados com aqueles obtidos anteriormente por outros métodos analíticos com diferentes sistemas de detecção [29, 32-34].

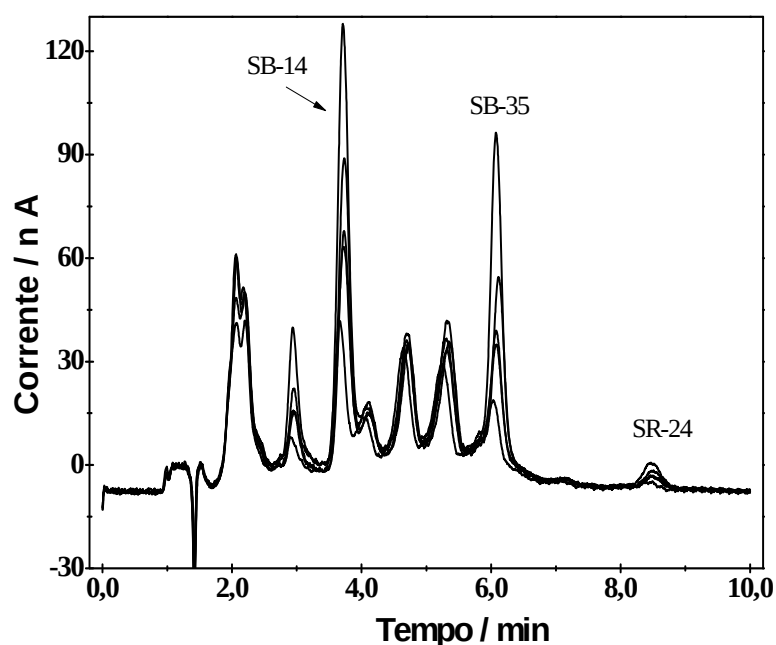


Figure 80 - Cromatogramas obtidos para detecção dos corantes no intervalo de concentração de 0,15 a 1,00 mg L⁻¹ diretamente adicionados sobre amostra de gasolina após extração (procedimento I, seção 2.3.2.3). Condições: Fase móvel ACN / acetato de amônio (5,00 mmol L⁻¹) na proporção de 75:25 (v/v), detecção em +0,80 V. Vazão: 0 - 4 min 0,60 mL min⁻¹, 4 - 6 min 1,20 mL min⁻¹ e 6 - 10,30 min 1,20 mL min⁻¹.

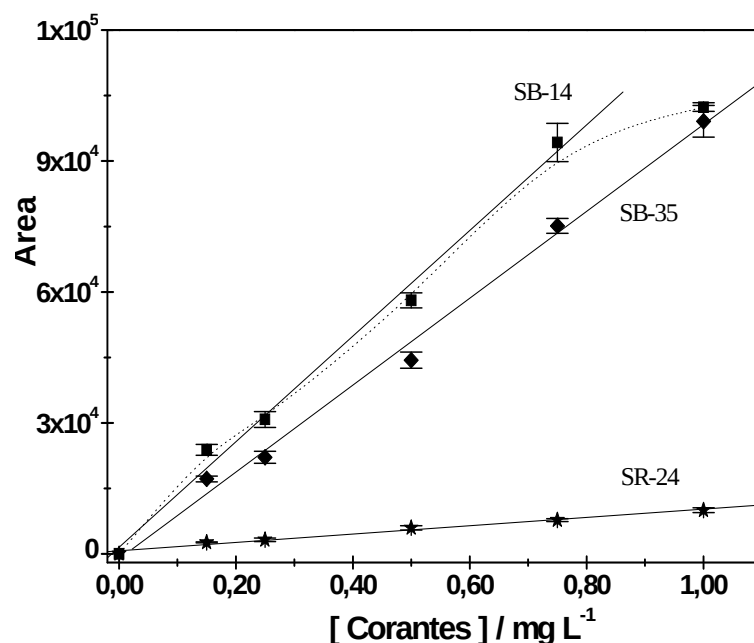


Figura 81 - Curva analítica obtida para detecção dos corantes em diferentes concentrações como mostrado na Figura 80.

Tabela 27 - Parâmetros analíticos extraídos da curva analítica apresentada na Figura 81.

Analito	Intervalo linear (mg L ⁻¹)	Intercepto (nA)	<i>b</i> (nA L mg ⁻¹)	<i>r</i>	LD (mg L ⁻¹)
SB-14	0,15 – 0,75	1468	1,21×10 ⁵	0,996	0,07
SB-35	0,15 – 1,00	-1159	1,00×10 ⁵	0,996	0,09
SR-24	0,15 – 1,00	700	1,00×10 ⁴	0,992	0,09

r = coeficiente de correlação; LD = limite de detecção.

Os dados preliminares obtidos para análise quantitativa dos corantes SB-14, SO-7 e SR-24 após serem submetidos aos diferentes métodos de extração e posterior detecção empregando a técnica de CLAE-UV/Vis foram fundamentalmente importantes, pois possibilitaram o conhecimento prévio da condição mais adequada para a aplicação do método usando a CLAE com detecção eletroquímica.

Estudos de eficiência de extração destes corantes em amostras de gasolina (Benzin 95), coletada em Regensburg, Alemanha, foram conduzidos de forma semelhante adicionado-se a

essas amostras uma concentração final de 0,50 e 1,50 mg L⁻¹ dos corantes, níveis significativamente inferiores aqueles estabelecidos pela legislação Europeia [4, 7] e bem abaixo daqueles estipulados pela legislação brasileira [15, 18-20]. Assim, para testar a eficiência de extração a quantificação dos corantes na amostra gasolina foi realizada empregando o método do padrão externo. Neste caso, dois procedimentos de extrações foram realizados, os quais para cada nível de concentração estudado foram realizadas análises em triplicata seguindo o método descrito anteriormente na seção experimental (2.3.2.3).

A Figura 83 apresenta cromatogramas registrados para amostra de gasolina isenta dos corantes (cromatograma **A**) após evaporação e reconstituição em ACN e também para amostra de gasolina contendo 1,50 mg L⁻¹ dos corantes (cromatograma **B**) submetido ao processo de extração tal como descrito na seção experimental 2.3.2.3 (procedimento **I**). Os cromatogramas revelam que, embora se observe a presença de outros componentes, possivelmente menos voláteis e de polaridade mais elevada, os quais contribuem para aumento da corrente de fundo (background) e flutuações na linha-base, nenhum pico é detectado nos tempos de retenção dos corantes SB-14, SB-35 e SR-24. Entretanto, baixos valores de eficiência de extração foram obtidos para a quantificação dos corantes SB-35 e SR-24 (Tabela 28), possivelmente devido às constantes variações na linha base que dificulta a medição precisa dos valores de área nesta condição de análise.

Por outro lado, analisando-se os resultados obtidos para análise quantitativa do corante SB-14 em amostras de gasolina após processo de evaporação e reconstituição em ACN, verifica-se que os mesmos apresentam valores satisfatórios com eficiência de extração sempre maiores que 100%, próximos ao teoricamente esperado e, com valores estatísticos dentro do considerado ideal [105, 106]. Se considerarmos o erro relativo ($\text{Concentração medida} - \text{concentração teórica} / \text{concentração teórica} \times 100$) valores aceitáveis e dentro do limite considerado ideal são obtidos somente para análise do corante SB-14. Assim, o método desenvolvido tanto de extração como de análise quantitativa pode ser utilizado apenas para este corante.

Os resultados obtidos para eficiência de extração dos corantes na análise quantitativa após o processo de extração desenvolvido no procedimento **II** (seção experimental 2.3.2.3) são apresentados na Tabela 29. Este procedimento foi testado a fim de avaliar a eficiência do processo de extração visando eliminar interferentes presentes na matriz (principalmente aqueles menos hidrofóbicos) e, assim, otimizar a detecção desses corantes na melhor condição de análise. Nenhuma mudança significativa nos resultados de eficiência de extração foi encontrada utilizando o método de extração modificado quando comparados com a proposta

anteriormente citada e reportada na Tabela 28. Da mesma maneira, resultados aceitáveis foram obtidos apenas para detecção do corante SB-14, onde os valores estatísticos indicam que a performance analítica do método é satisfatória e oferecem maior confiabilidade analítica [105, 106].

Embora o uso do método de extração em fase sólida (EFS) empregando C-18 como fase estacionária permita eliminar grande parte dos componentes interferentes devido a possibilidade de uma etapa de limpeza e purificação do analito ainda retido no cartucho, as variações na polaridade desses corantes dificultam os ajustes na eficiência do processo, uma vez que, as interações com a fase estacionária são decisivamente comprometidas.

Portanto, algumas importantes considerações podem ser feitas quanto aos dois diferentes procedimentos de purificação e preparação da amostra para análise. De fato, os resultados indicam que a qualidade e a eficiência da extração dependem fundamentalmente da escolha do material sorvente, bem como, ajustes apropriados durante as etapas que antecedem a eluição do analito retido. No entanto, qualquer afirmação categórica seria absolutamente prematura, uma vez que, juntamente com a complexidade da matriz com inúmeros componentes potencialmente interferentes, surgem os corantes avaliados neste trabalho, cujas estruturas moleculares e polaridades significativamente diferenciadas dificultam e contribuem decisivamente para o insucesso no processo de purificação desses analitos. Assim, os baixos valores de eficiência de extração mostrados nas Tabelas 28 e 29 podem ser associados a uma considerável perda dos corantes SB-35 e SR-24 durante as etapas que antecedem as análises. Esta parece ser a explicação mais plausível considerando-se as diferenças de hidrofobicidade desses compostos, suficiente para permanecer fortemente retidos no cartucho de extração contendo material sorvente apolar (C-18) mesmo tendo sido sistematicamente otimizado diferentes modos de limpeza e eluição.

Adicionalmente, estudos foram realizados para testes de eficiência de extração após uma pequena variação no potencial de detecção na qual os dados permitiram obter a robustez do sistema de detecção referente a este parâmetro. Como pode ser visto na Tabela 30, usando o procedimento II (seção 2.3.2.3) para purificação dos analitos e submetendo-os a análise pelo método do padrão externo, os valores de eficiência de extração não foram significativamente afetados quando comparados com aqueles obtidos nas Tabelas 28 e 29. Por conseguinte, o método desenvolvido e sua aplicação na quantificação desses corantes empregando o método do padrão externo indica que está adequada para análise quantitativa exclusivamente do corante SB-14.

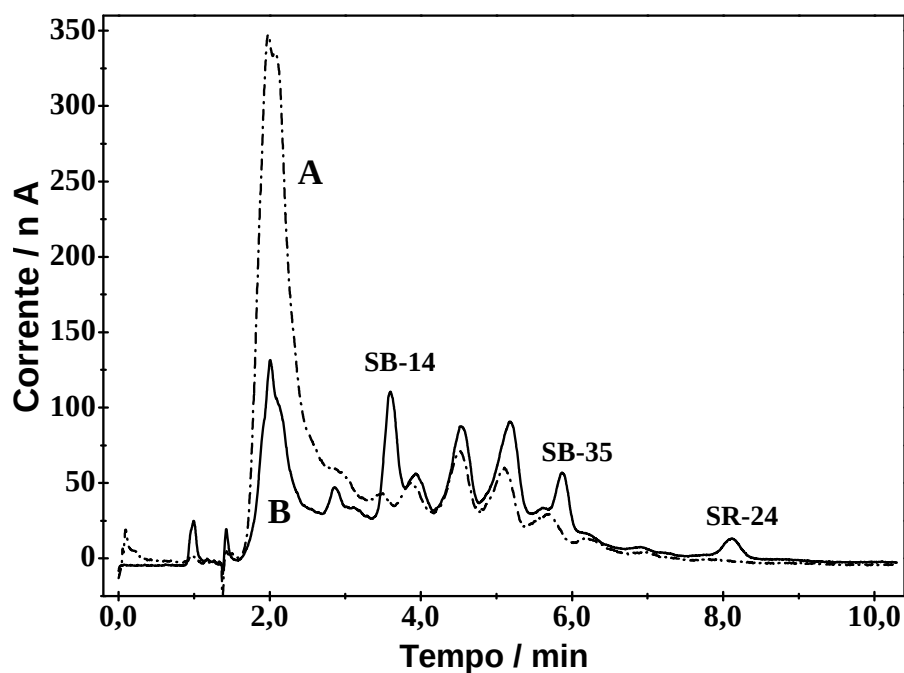


Figura 82 - Cromatogramas obtidos para: (A) amostra gasolina isenta de corante, (B) análise de amostra gasolina após extração usando o procedimento experimental I (seção 2.3.2.3). Condições: Fase móvel ACN / acetato de amônio ($5,00 \text{ mmol L}^{-1}$) na proporção de 75:25 (v/v), detecção em $+0,80 \text{ V}$. Vazão: 0 - 4 min $0,60 \text{ mL min}^{-1}$, 4 - 6 min $1,20 \text{ mL min}^{-1}$ e 6 - 10,30 min $1,20 \text{ mL min}^{-1}$.

Tabela 28 - Resultados de eficiência de extração obtidos para quantificação dos corantes em amostras de gasolina após extração (Procedimento I, seção 2.3.2.3).

Analito	Amostras	Adic. (mg L^{-1})	Encont. ^[a] (mg L^{-1})	Eficiência (%)	DPR (%)	E_r (%)
SB-14	GA	1,50	1,54	102	1,50	+2,70
SB-35	GA	1,50	0,85	57,0	8,00	-43,0
SR-24	GA	1,50	0,60	40,0	20,0	-60,0
SB-14	GB	0,50	0,32	64,0	2,20	-36,0
SB-35 ^[b]	GB	0,50	0,10	20,0	5,50	-80,0
SR-24 ^[b]	GB	0,50	0,14	28,0	8,90	-72,0

^[a] média de 3 determinações; ^[b] abaixo do LQ; DPR desvio padrão relativo; E_r = erro relativo.

Tabela 29 - Resultados de eficiência de extração obtidos para quantificação dos corantes em amostras de gasolina após extração (Procedimento II, seção 2.3.2.3).

Analito	Amostras	Adic. (mg L ⁻¹)	Encont. ^[a] (mg L ⁻¹)	Eficiência (%)	DPR (%)	E _r (%)
SB-14	GC	0,50	0,43	86,0	12,0	-14,0
SB-35 ^[b]	GC	0,50	0,11	22,0	10,5	-78,0
SR-24 ^[b]	GC	0,50	0,09	18,0	11,2	-82,0
SB-14	GD	1,50	1,67	111	3,45	+11,3
SB-35 ^[b]	GD	1,50	0,84	56,0	6,10	-44,0
SR-24 ^[b]	GD	1,50	0,16	10,7	40,0	-89,3

^[a] média de 3 determinações; ^[b] abaixo do LQ; DPR desvio padrão relativo; E_r = erro relativo.

Tabela 30 - Resultados de eficiência de extração obtidos para avaliar a robustez do método empregando extração como descrito no procedimento II (seção 2.3.2.3) e detecção em +0,70 V.

Analito	Amostras	Adic. (mg L ⁻¹)	Encont. ^[a] (mg L ⁻¹)	Eficiência (%)	DPR (%)
SB-14	GC	0,50	0,45	90,0	11,0
SB-35	GC	0,50	0,11	22,0	14,0
SR-24	GC	0,50	nd	-	-
SB-14	GD	1,50	1,60	106	5,00
SB-35	GD	1,50	0,82	55,0	3,70
SR-24	GD	1,50	nd	-	-

^[a] média de 3 determinações; nd = não detectado; DPR desvio padrão relativo; E_r = erro relativo.

Durante o processo de desenvolvimento dos métodos de extração (seção 2.3.2.3) optou-se ainda por testar o procedimento II como alternativa de purificação dos analitos em estudo e submetendo-os à análise quantitativa pelo método de adição do padrão. Neste caso, após extração dos analitos e em seguida com os padrões sucessivamente adicionados sobre a amostra processada, obteve-se medidas de área em condição semelhante e com valores repetíveis. Em contradição aos resultados obtidos empregando a padronização externa, o

método de adição do padrão gerou dados estatísticos com melhores correlações entre os valores teóricos e os valores encontrados para todos os corantes avaliados, cujos dados estão representados na Tabela 31.

A Figura 83 mostra os cromatogramas registrados e as respectivas curvas de adição do padrão para os três corantes analisados, cuja realização do procedimento acima citado, mostra que para a amostra após extração não há picos de componentes interferentes coeluídos aos picos das substâncias em análise (Figura 83, cromatograma **a**). A análise dos perfis cromatográficos obtidos para registro dos cromatogramas na amostra de gasolina e as respectivas adições dos padrões dos corantes revelam ainda que, não houve influências indesejáveis do efeito de matriz nesta condição de análise. As curvas de adição do padrão foram lineares com resultados satisfatórios, indicando que o método proposto é promissor não apenas para análise do corante SB-14, como também na quantificação dos demais corantes desde que sistematicamente otimizada a condição de extração do analito na matriz.

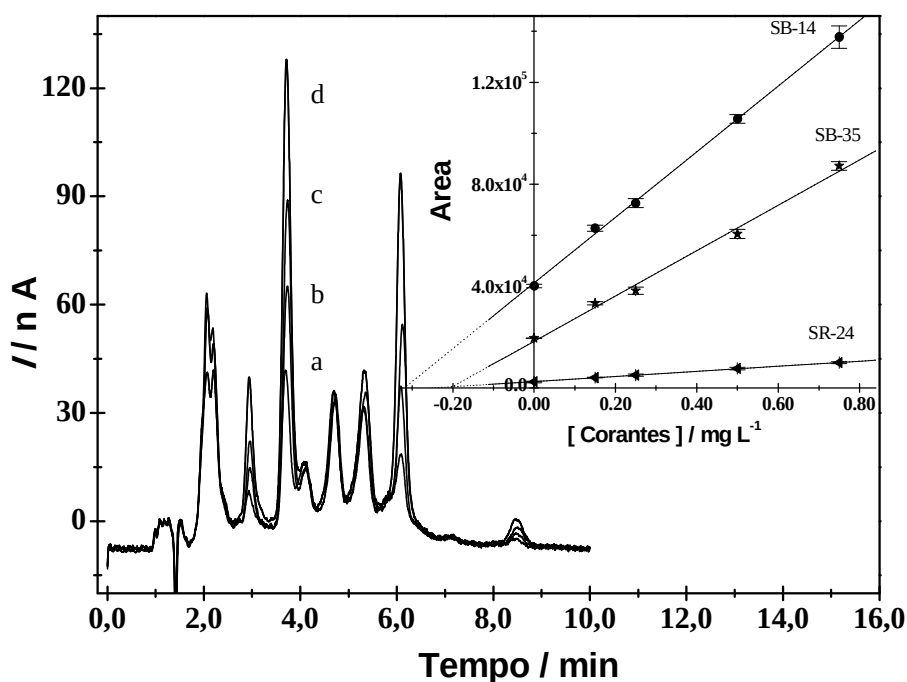


Figura 83 - Cromatogramas registrados para análise de: (a) amostra de gasolina depois de submetidas à extração como mencionada no procedimento II (seção 2.3.2.3), (b-d) adição dos padrões 0,15 a 1,00 mg L⁻¹. Condições como descrito na Figura 82.

Tabela 31 - Resultados de eficiência de extração obtidos para quantificação dos corantes em amostras de gasolina após extração (Procedimento II, seção 2.3.2.3) usando método de adição do padrão.

Analito	Amostras	Adic. (mg L ⁻¹)	Encont. ^[a] (mg L ⁻¹)	Eficiência (%)	DPR (%)	E _r (%)
SB-14	GD	1,50	1,60	106	0,65	+6,70
SB-35	GD	1,50	1,20	80,0	6,70	-20,0
SR-24	GD	1,50	1,35	90,0	12,7	-10,0

^[a] média de 3 determinações em duplicata; DPR desvio padrão relativo; E_r = erro relativo.

3.7.5. Considerações Finais Sobre Análise dos Corantes em Combustíveis Empregando Técnicas Cromatográficas

O procedimento proposto para análise cromatográfica dos corantes SB-14, SB-35 e SR-24 mostrou que estes corantes foram satisfatoriamente separados na ausência e presença da matriz e, podem ser seletivamente detectados em amostras de gasolina com níveis de concentração bem abaixo dos usualmente encontrados.

De acordo com os resultados obtidos pode-se constatar ainda que, a otimização dos parâmetros de performance analítica permitiu grande melhora na resposta do detector e desta forma foi possível ampliar a aplicabilidade do método proposto. Esta característica ficou evidente pela ampla faixa dinâmica de concentração encontrada, com baixos valores de limite de detecção e quantificação, de maneira que, o método pode ser aplicado na detecção desses corantes em concentrações a níveis bastante inferiores daqueles encontrados nessas matrizes, cujos valores podem variar de 1,00 a 10,0 mg L⁻¹.

A comparação dos métodos desenvolvidos para o processo de extração desses corantes nessa matriz revelou que o sucesso na análise depende fundamentalmente das características físicas e químicas dos analitos, cuja separação dos componentes interferentes em fase estacionária (C-18) foi bastante comprometida pelas diferenças de polaridades dessas moléculas, propiciando dificuldades em monitorar a eluição seletiva.

Do ponto de vista analítico, o sistema de detecção eletroquímica mostrou-se superior ao sistema de detecção no UV-Vis e, assim, o método desenvolvido foi aplicado para monitorar estes corantes em amostras mais diluídas de gasolina. Embora somente uma matriz tenha sido testada para avaliação dos testes estatísticos revela que o método proposto forneceu resultados

aceitáveis, de modo que, pode ser alternativamente empregado na análise destes corantes em amostras de combustíveis contendo níveis de concentrações inferiores aqueles comumente encontrados.

4. CONCLUSÕES

Os dados preliminares obtidos para os corantes QNZ e SB-14 empregando as técnicas de voltametria cíclica e onda quadrada sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo foram fundamentalmente importantes para o conhecimento prévio do comportamento voltamétrico, bem como, na escolha da melhor condição de análise adaptável ao uso dos ECIs na mistura aquoso/orgânico. Estes resultados também foram essenciais para um melhor conhecimento da condição ideal de trabalho, adequada ao uso do sistema cromatográfico de análise com detecção eletroquímica, permitindo obter maior estabilização do sistema com injeções de soluções menos concentradas que, permitiu minimizar efeitos de adsorção.

A baixa solubilidade desses corantes em meio aquoso ou contendo baixa quantidade de solvente orgânico foi contornada com uso de surfactantes que, conseqüentemente, auxiliou na amplificação do sinal analítico. As técnicas eletroquímicas, embora não apresentassem seletividade suficiente para detectar vários corantes simultaneamente nas matrizes investigadas, apresentou grande potencialidade para monitoramento desses corantes em diferentes amostras de combustíveis quando avaliados individualmente. Em adição, estas apresentam grande vantagem se considerarmos os aspectos positivos de miniaturização do sistema eletródico (ECIs), baixo custo instrumental, sensibilidade, faixa de linearidade, precisão e ainda um limite de quantificação compatível com o nível de concentração encontrado nessas matrizes.

Os métodos analíticos desenvolvidos empregando as técnicas eletroquímicas mostraram-se competitivas em relação a outros métodos e podem ser uma excelente alternativa na determinação de corantes em combustíveis, uma vez que, o uso de um menor volume de solução torna-as ainda mais atraentes, principalmente considerando a complexidade de matrizes como combustíveis.

O método cromatográfico com detecção eletroquímica, embora aumente consideravelmente o custo das análises mostraram-se, incomparáveis quanto à quantificação, principalmente em amostras mais diluídas. Pode separar satisfatoriamente o sinal de interesse daqueles potencialmente interferentes presentes na matriz, oferecendo maior seletividade em relação aos métodos usuais de análise.

De um modo geral, a análise desses corantes empregando os diferentes métodos desenvolvidos revelam que a complexidade das amostras como os combustíveis com diversidade de constituintes interferentes constituiu-se um grande problema a ser contornado.

Neste caso, diferentes procedimentos de extração e purificação desses analitos foram alternativamente desenvolvidos, os quais foram aperfeiçoados ao longo do trabalho. Ainda que, o uso do método de EFS empregando diferentes materiais como fase estacionária permitisse eliminar grande parte dos componentes interferentes, as variações na polaridade desses corantes também constituíram-se em dificuldades adicionais no ajuste da eficiência do processo, uma vez que, as interações com a fase estacionária foram decisivamente comprometidas.

Finalmente, os métodos desenvolvidos apresentam resultados analíticos satisfatórios, cujas informações são de grande relevância em estudos quantitativos envolvendo estas classes de compostos. Além disso, podem contribuir efetivamente para o sucesso em análises desses e/ou outros tipos de corantes portadores de grupos azos e antraquinona em amostras de combustíveis. A Tabela 32 apresenta de forma resumida as principais características dos métodos eletroanalíticos e cromatográficos desenvolvidos.

Tabela 32 – Análise comparativa dos diferentes métodos e sistema de detecção empregados para determinação dos corantes em amostras de combustíveis.

Método	Deteção	Analito	Região linear (mg L ⁻¹)	LD (mg L ⁻¹)	Amostra
VOQ	ECV	QNZ	0,50 - 3,40	0,10	Gasolina e Óleo diesel
VOQ	ECI	QNZ	0,12 - 1,40	0,06	Querosene e Óleo diesel
VOQ	ECV	SB-14	0,40 - 2,30	0,10	Álcool e Querosene
VOQ	ECI	SB-14	0,08 - 0,75	0,04	Álcool e Querosene
CLAE	UV-Vis	SB-14	0,50 - 30,0	0,85	Gasolina
		SO-7	0,50 - 30,0	0,55	
		SR-24	0,50 - 30,0	0,70	
CLAE	DE	SB-14	0,08 - 2,00	0,04	Gasolina
		SB-35	0,08 - 2,00	0,04	
		SR-24	0,08 - 2,00	0,04	

VOQ: Voltametria de onda quadrada; ECV: eletrodo de carbono vítreo; ECI: eletrodo de carbono impresso; DE: detecção eletroquímica; LQ: limite de detecção.

REFERÊNCIAS

- 1 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Portaria n. 248, de 31 de outubro de 2000. Estabelece o regulamento técnico ANP n. 3/2000 que trata do controle da qualidade do combustível automotivo líquido adquirido pelo revendedor varejista para comercialização. **Diário oficial da União**, Brasília, DF, 01 nov. 2000. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/doc/legislacao/P2482000.pdf>>. Acesso em: 05 fev. 2009.
 - 2 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Portaria n. 274, de 01 de novembro de 2001. Estabelece a obrigatoriedade de adição de marcador a solventes e a derivados de petróleo eventualmente indicados pela ANP bem como a proibição da presença de marcador na gasolina. **Diário oficial da União**, Brasília, DF, 20 dez. 2002. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/petro/legis_qualidade.asp>. Acesso em: 02 mar. 2007.
 - 3 MORTON THIOKOL INC. (United States). M. R. Friswel et al. **Silent markers for petroleum, method of tagging, and method of detection**. US 5156653, 18 Oct. 1991, 20 Oct. 1988.
 - 4 EUROPEAN REFINING & MARKETING. **Fuels refining & marketing in europe and the former soviet union**. 2002. v. 1, n. 10. Disponível em: <<http://www.process-nmr.com/pdfs/erm-v1-10-02.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2005.
 - 5 NOLLET, L. M. L. **Chromatographic analysis of the environmental**. 3rd ed. New York: Taylor & Francis, 2005. 1320 p.
 - 6 MENEZES, E. W.; CATALUÑA, R. Amostragem do material particulado e fração orgânica volátil das emissões em motor ciclo diesel sem a utilização de túnel de diluição. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2027-2030, out. 2008.
 - 7 STATUTORY INSTRUMENT 2002. **The hydrocarbon oil (marking) regulations 2002**. Disponível em: <<http://www.opsi.gov.uk/SI/si2002/20021773.htm>>. Acesso em: 10 fev. 2006.
 - 8 MORTON THIOKOL INC. (United States). R. B. Orelup. **Colored petroleum markers**. US 4735631, 16 Oct. 1986, 5 Apr. 1988.
 - 9 MORTON INTERNATIONAL INC. (United States). M. R. Friswell; R. B. Orelup. **Markers for petroleum, method of tagging, and method of detection**. US 5156653, 18 Apr. 1991, 20 Oct. 1992.
-

- 10 GREATVISTA CHEMICALS. **Dyes and pigments**. Disponível em: <http://www.greatvistachemicals.com/dyes_and_pigments/solvent_dye.html>. Acesso em: 05 ago. 2007.
- 11 TEIXEIRA, E. C.; FELTES, S.; SANTANA, E. R. R. Estudo das emissões de fontes móveis na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 244-248, 2008.
- 12 ZOLLINGER, H. **Color chemistry**: synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments. 2nd ed. New York: Wiley-VCH, 1991. 637 p.
- 13 GUARANTINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, fev. 2000.
- 14 LINSINGER, T. et al. Validation of the european union's reference method for the determination of solvent yellow 124 in gas oil and kerosene. **Energy & Fuels**, v. 18, n. 6, p. 1851-1854, Sept. 2004.
- 15 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Agência Nacional do Petróleo, gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP n. 36, de 6 de dezembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 07 dez. 2005. Disponível em: <http://www.puntofocal.gov.ar/notific_otros_miembros/bra199_t.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2009.
- 16 ABRAHART, E. N. **Dyes and their intermediates**. 2nd ed. London: Edward Arnold, 1977. 265 p.
- 17 VENKATARAMAN, K. **The chemistry of synthetic dyes**. New York: Academic Press, 1972. 1442 p.
- 18 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Portaria 309, de 27 de dezembro de 2001. Estabelece as especificações para a comercialização de gasolinas automotivas em todo o território nacional e define obrigações dos agentes econômicos sobre o controle de qualidade do produto. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 28 dez. 2001. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/doc/legislacao/P309_2001.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2009.
- 19 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Resolução ANP n. 3, de 25 de janeiro de 2006. Estabelece a especificação para comercialização do querosene de aviação, destinado exclusivamente ao consumo em turbinas de aeronaves, em todo o território nacional e define obrigações dos agentes econômicos sobre o controle de qualidade do produto. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 jan. 2006. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/petro/legis_qualidade.asp>. Acesso em: 02 fev. 2009.
-

- 20 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Portaria 310, de 27 de dezembro de 2001. Estabelece as especificações para comercialização de óleo diesel e mistura óleo diesel/biodiesel - B2, automotivo em todo o território nacional e define obrigações dos agentes econômicos sobre o controle de qualidade do produto. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 dez. 2001. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/petro/legis_qualidade.asp>. Acesso em: 10 jul. 2007.
- 21 MUHLEN, C. et al. Caracterização de amostras petroquímicas e derivados utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC). **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 765-775, jul. 2006.
- 22 OKUMURA, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Simultaneous determination of neutral nitrogen compounds in gasoline and diesel by differential pulse voltammetry. **Talanta**, v.72, n. 3, p. 1106-1113, May 2007.
- 23 OKUMURA, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Simultaneous determination of quinoline and pyridine compounds in gasoline and diesel by differential pulse voltammetry. **Electroanalysis**, v. 19, n. 6, p. 709-716, Mar. 2007.
- 24 LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida**. São Carlos: Rima, 2004. 93 p.
- 25 QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, fev. 2001.
- 26 HENNION, M. C. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 856, n. 1-3, p. 3-54, Sept. 1999.
- 27 SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. I. **Introduction to modern liquid chromatography**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1979. 896 p.
- 28 HARRISON, B. R. B.; HEAYSMAN, L. T. Methods for detection, determination and identification of quinizarine in hydrocarbon oils. **Analyst**, v. 86, n. 1026, p. 566-569, Sept. 1961.
- 29 LEUNG, C-P.; TAM, S. Y-K. Quantitative determination of solvent red 24 in hydrocarbon oils by derivative spectroscopy. **Analyst**, v. 110, n. 7, p. 883-884, July 1985.
- 30 ATLANTIC RICHFIELD CO. (United States). A. V. Nowak. **Method for detecting a marker dye in aged petroleum distillate fuels**. US 5304493. 22 Jan. 1993, 19 Apr. 1994.
-

- 31 MAY, E. M.; HUNT, D. C.; HOLCOMBE, D. G. Method for the determination of the marker and dye in heavy fuel oils. **Analyst**, v. 111, n. 8, p. 993-995, Aug. 1986.
- 32 SUNDBERG, L. N. et al. HPLC analysis of solvent yellow 124-the marker in diesel oil. **Journal of Forensic Sciences**, v. 41, n. 2, p. 300-303, Mar. 1996.
- 33 HENRICSSON, S.; WESTERHOLM, R. Liquid chromatographic method for analyzing the colour marker solvent yellow 124, N-ethyl-N-[2-(1-isobutoxyethoxy)ethyl](4-phenylazophenyl)amine, in diesel fuels. **Journal of Chromatography A**, v. 723, n. 2, p. 395-398, Feb. 1996.
- 34 BARWICK, V. J. et al. The evaluation of measurement uncertainty from method validation studies. Part 2: the practical application of a laboratory protocol. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 5, n. 3, p. 104-113, Mar. 2000.
- 35 TIMKOVICH, R. Analysis of regulatory dye in diesel petroleum. **Dyes and Pigments**, v. 46, n. 2, p. 69-79, Aug. 2000.
- 36 CHANG, C. C.; LAM, H.; ZHANG, X-M. **Analytical method validation and instrument performance verification**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. 303 p.
- 37 SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. I. **Practical HPLC method development**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1997. 765 p.
- 38 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, I. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bokman, 2002. 836 p.
- 39 CIOLA, R. **Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho-HPLC**. São Paulo: Edgard Blucher, 1998. 179 p.
- 40 KISSINGER, P.T. **Electrochemical detectors**. In: VICKREY, T. H. (Ed.). **Liquid chromatography detectors**. New York: Marcel Dekker, 1986. v. 23, cap. 4, p. 125-164.
- 41 SACZK, A. A. et al. Determination of acetaldehyde in fuel ethanol by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Analytical Sciences**, v. 21, n. 4, p. 441-444, Apr. 2005.
- 42 SACZK, A. A. et al. Determination of aldehydes and ketones in fuel ethanol by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Chromatographia**, v. 63, n. 1-2, p. 45-51, Jan. 2006.
-

43 LA COURSE, W. R. et al. Pulsed amperometric detection of aliphatic alcohols in liquid chromatography. **Analytical Chemical**, v. 63, n. 2, p. 134-139, Jan. 1991.

44 RANCAN, M.; ROSSI, S.; SABATINI, A. G. Determination of tvchiamethoxam residues in honeybees by high performance liquid chromatography with an electrochemical detector and post-column photochemical reactor. **Journal of Chromatography A**, v. 1123, n. 1, p. 60-65, Aug. 2006.

45 LIU, Z.; WOLFF, M. S.; MOLINE, J. Analysis of environmental biomarkers in urine using an electrochemical detector. **Journal of Chromatography B**, v. 819, n. 1, p. 155-159, May 2005.

46 HUANG, Y-B. et al. Highly sensitive analysis of the anti-tumor agent 1-[4-(furo [2,3-b]-quinolin-4-ylamino)phenyl]ethanone in rat plasma by high-performance liquid chromatography using electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 3, p. 551-555, July 2005.

47 PARK, J. B. Quantitation of clovamide-type phenylpropenic acid amides in cells and plasma using high performance liquid chromatography with a coulometric electrochemical detector. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 8135-8140, Sept. 2005.

48 VERA-AVILA, L. E. et al. Trace-level determination of benzidine and 3,3'-dichlorobenzidine in aqueous environmental samples by online solid-phase extraction and liquid chromatography with electrochemical detection. **Journal of Chromatographic Science**, v. 39, n. 7, p. 301-307, July 2001.

49 CHMIELEWSKA, A. et al. Sensitive quantification of chosen drugs by reversed-phase chromatography with electrochemical detection at a glassy carbon electrode. **Journal of Chromatography B**, v. 839, n. 1-2, p. 102-111, July 2006.

50 KUOA, C. Y.; WU, S. M. High-performance liquid chromatography with electrochemical detection for analysis of gliclazide in plasma. **Journal of Chromatography A**, v. 1088, n. 1-2, p. 131-135, Sept. 2005.

51 LARCHER, R. et al. Determination of 4-ethylcatechol in wine by high-performance liquid chromatography-coulometric electrochemical array detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 609, n. 2, p. 235-240, Feb. 2008.

52 SHAH, R.; LACOURSE, W. R. An improved method to detect ethyl glucuronide in urine using reversed-phase liquid chromatography and pulsed electrochemical detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 576, n. 2, p. 239-245, Aug. 2006.

- 53 MAZZO, T. M. et al. Analysis of aromatic amines in surface waters receiving wastewater from a textile industry by liquid chromatographic with electrochemical detection. **Analytical Letters**, v. 39, n. 14, p. 2671-2685, 2006.
- 54 NARITA, M.; MURAKAMIA, K.; KAUFFMANN, J. M. Determination of dye precursors in hair coloring products by liquid chromatography with electrochemical detection. **Analytica Chimica Acta**, n. 588, n. 2, p. 316-320, Apr. 2007.
- 55 RAO, T. N. et al. Electroanalytical study of sulfa drugs at diamond electrodes and their determination by HPLC with amperometric detection. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 491, n. 1-2, p. 175-181, Sept. 2000.
- 56 WAKABAYASHI, H. et al. Simultaneous determination of vitamin K analogs in human serum by sensitive and selective high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Nutrition**, v. 19, n. 7-8, p. 661-665, July/Aug. 2003.
- 57 CASELLA, I. G.; COLONNA, C.; CONTURSI, M. Electroanalytical determination of some phenolic acids by high-performance liquid chromatography at gold electrodes. **Electroanalysis**, v. 19, n. 14, p. 1503-1508, July 2007.
- 58 KOTANI, A. et al. Determination of organic acids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection during wine brewing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1440-1444, Feb. 2004.
- 59 SKRINJAR, M. et al. Application of HPLC with electrochemical detection for the determination of low levels of antioxidants. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 7, p. 539-545, Nov. 2007.
- 60 LEBIEDZINSKA, A. et al. Reversed-phase high-performance liquid chromatography method with coulometric electrochemical and ultraviolet detection for the quantification of vitamins B₁ (thiamine), B₆ (pyridoxamine, pyridoxal and pyridoxine) and B₁₂ in animal and plant foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1173, n. 1-2, p. 71-80, Nov. 2007.
- 61 AGUÍ, L. et al. Determination of β -carboline alkaloids in foods and beverages by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection at a glassy carbon electrode modified with carbon nanotubes. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, n. 2, p. 323-330, Mar. 2007.
- 62 CASELLA, I. G.; CONTURSI, M. Determination of aliphatic aldehydes by liquid chromatography with pulsed amperometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1063, n. 1-2, p. 129-135, Jan. 2005.
-

- 63 CHAILAPAKUL, O. et al. Analysis of sudan I, sudan II, sudan III, and sudan IV in food by HPLC with electrochemical detection: comparison of glassy carbon electrode with carbon nanotube-ionic liquid gel modified electrode. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 876-882, Aug. 2008.
- 64 OSUGI, M. E.; CARNEIRO, P. A.; ZANONI, M. V. B. Determination of the phthalocyanine textile dye, reactive turquoise blue, by electrochemical techniques. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 4, p. 660-665, July/Aug. 2003.
- 65 ZANONI, M. V. B. et al. Electrochemical investigations of reactive dyes; polarographic determination of anthraquinone-based chlorotriazine dyes. **Analytica Chimica Acta**, v. 315, n. 1-2, p. 41-54, Oct. 1995.
- 66 ZANONI, M. V. B. et al. Electrochemical investigations of reactive dyes; cathodic stripping voltammetric determination of anthraquinone-based chlorotriazine dyes at a hanging mercury drop electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 349, n. 1-3, p. 101-109, Aug. 1997.
- 67 GUARATINI, C. C. I.; FOGG, A. G.; ZANONI, M. V. B. Assessment of the application of cathodic stripping voltammetry to the analysis of diazo reactive dyes and their hydrolysis products. **Dyes and Pigments**, v. 50, n. 3, p. 211-221, Sept. 2001.
- 68 GUARATINI, C. C. I.; FOGG, A. G.; ZANONI, M. V. B. Studies of the voltammetric behavior and determination of diazo reactive dyes at mercury electrode. **Electroanalysis**, v. 13, n. 18, p. 1535-1543, Dec. 2001.
- 69 GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B.; FOGG, A. G. Cathodic stripping voltammetric detection and determination at a hanging mercury-drop electrode of dye contaminants in purified biomaterials: study of the human serum albumin and reactive dye 120 system. **Microchemical Journal**, v. 71, n. 1, p. 65-72, Jan. 2002.
- 70 ZANONI, M. V. B. et al. Determination of the vinylsulphone azo dye, remazol brilliant orange 3R, by cathodic stripping voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 385, n. 1-3, p. 385-3925, Apr. 1999.
- 71 MONK, P. M. S. **Fundamentals of electroanalytical chemistry**. Manchester: John Wiley & Sons, 2001. 361 p.
- 72 WANG, J. Voltammetry following nonelectrolytic preconcentration. In: BARD, A. J. (Ed.). **Electroanalytical chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1992. v. 16, p. 1-88.
- 73 OSTERYOUNG, J.; O'DEA, J. J. Square-wave voltammetry. In: BARD, A. J. (Ed.). **Electroanalytical chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1986. v. 14, p. 209-308.
-

- 74 NASCIMENTO, V. B.; ANGNES, L. A. Eletrodos fabricados por "silk-screen". **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 614-629, set./out. 1998.
- 75 HART, J. P.; WRING, S. A. Recent developments in the design and application of screen-printed electrochemical sensors for biomedical, environmental and industrial analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 16, n. 2, p. 89-103, Feb. 1997.
- 76 BERGAMINI, M. F. et al. A disposable electrochemical sensor for the rapid determination of levodopa. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, n. 1-2, p. 54-59, Sept. 2005.
- 77 BERGAMINI, M. F. et al. Flow injection amperometric determination of procaine in pharmaceutical formulation using a screen-printed carbon electrode. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, n. 1, p. 315-319, Jan. 2007.
- 78 BERGAMINI, M. F.; ZANONI, M. V. B. Anodic stripping voltammetric determination of autothiomalate in urine using a screen-printed carbon electrode. **Electroanalysis**, v. 18, n. 15, p. 1457-1462, June 2006.
- 79 BERGAMINI, M. F.; OLIVEIRA, F. C. M.; ZANONI, M. V. B. Análise voltamétrica do corante têxtil do tipo antraquinona empregando eletrodos de carbono impresso. **Eclética Química**, v. 30, n. 2, p. 53-59, 2005.
- 80 MASAWAT, P.; SLATER, J. M. The determination of tetracycline residues in food using a disposable screen-printed gold electrode (SPGE). **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 124, n. 1, p. 127-132, June 2007.
- 81 BERGAMINI, M. F.; SANTOS, D. P.; ZANONI, M. V. B. Development of a voltammetric sensor for chromium(VI) determination in wastewater sample. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 123, n. 2, p. 902-908, May 2007.
- 82 HONEYCHURCH, K. C.; HART, J. P. Screen-printed electrochemical sensors for monitoring metal pollutants. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 7, p. 456-469, July/Aug. 2003.
- 83 HOYER, B.; JENSEN, N. Use of sodium dodecyl sulfate for suppression of electrode fouling in the voltammetric detection of biologically relevant compounds. **Electroanalysis**, v. 17, n. 22, p. 2037-2042, Oct. 2005.
- 84 HOYER, B.; JENSEN, N. Suppression of surfactant interferences in anodic stripping voltammetry by sodium dodecyl sulfate. **Electrochemistry Communications**, v. 5, n. 9, p. 759-764, Sept. 2003.
-

- 85 HOYER, B.; JENSEN, N. Suppression of protein interferences in anodic stripping voltammetry by sodium dodecyl sulphate. **Electrochemistry Communications**, v. 5, n. 3, p. 257-261, Mar. 2003.
- 86 HOYER, B.; JENSEN, N. Stabilization of the voltammetric serotonin signal by surfactants. **Electrochemistry Communications**, v. 8, n. 2, p. 323-328, Feb. 2006.
- 87 HOYER, B.; JENSEN, N. Stabilization of the voltammetric response of organic analytes with self-passivating electrode reactions: synergistic effect of surfactants and high buffer strength. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 601, n. 1-2, p. 153-160, Mar. 2007.
- 88 JARA-ULLOA, P.; NÚÑEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A. Micellar effects on the reduction of 4-nitroimidazole derivative: detection and quantification of the nitroradical anion. **Electroanalysis**, v. 19, n. 14, p. 1490-1495, July 2007.
- 89 AVRANAS, A.; SAZOU, D. Electoreduction of 2,2'-Dinitrobiohenyl in anodic, cationic and nonionic micellar systems. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 164, n. 2, p. 309-317, May 1994.
- 90 FARHADI, K.; SHAMSIPUR, M. Effect of surfactants on the AC voltammetry of 9,10-Anthraquinone derivatives at glassy carbon electrode and its utilization for the determination of anthraquinones and cationic surfactants. **Analytical Sciences**, v. 17, n. ICAS2001, p. i1733- i1736, 2001.
- 91 ZUMAN, P.; GERMAN, C. Ion-pair formation in aqueous solutions of pyruvate anions: polarographic study. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 253, n. 1, p. 29-38, Mar. 1988.
- 92 SANZ-MEDEL, A. et al. Organised surfactant assemblies in analytical atomic spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, n. 2, p. 251-287, Feb. 1999.
- 93 HU, C.; YANG, C.; HU, S. Hydrophobic adsorption of surfactants on water-soluble carbon nanotubes: a simple approach to improve sensitivity and antifouling capacity of carbon nanotubes-based electrochemical sensors. **Electrochemistry Communications**, v. 9, n. 1, p. 128-134, Jan. 2007.
- 94 AVRANAS, A.; RETTER, U.; MALASIDOU, E. The adsorption and condensed film formation of cetyltrimethylammonium bromide at the mercury/electrolyte interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 248, n. 2, p. 347-354, Apr. 2002.
- 95 AVRANAS, A.; KOIMTZOGLOU, P.; SEDLÁČKOVÁ, N. Effect of the deaeration on the adsorption of some cationic surfactants at the mercury/electrolyte solution interface.
-

Journal of Colloid and Interface Science, v. 296, n. 2, p. 634-639, Apr. 2006.

96 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 2001. 833 p.

97 NICHOLSON, R. S.; SHAIN, I. Theory of stationary electrode polarography: single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 4, p. 706-723, Apr. 1964.

98 ZINGER, B. Electrochemistry of quinizarine adsorbed on a glassy carbon electrode in aqueous solutions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 239, n. 1-2, p. 209-225, Jan. 1988.

99 LOVRIĆ, M.; LOVRIĆ, S. K. Square-wave voltametry of an adsorbed reactant. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 248, n. 2, p. 239-253, July 1988.

100 SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, jan./fev. 2003.

101 MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Statistics for analytical chemistry**. 3rd ed. New York: Ellis Horwood West Sussex, 1993. 256 p.

102 BODINI, M. E.; ARANCIBIA, V. Redox chemistry of 1,4-dihydroxy-9,10-anthraquinone (quinizarine) and its manganese(II) complexes in dimethylsulphoxide. **Polyhedron**, v. 10, n. 16, p. 1929-1937, 1991.

103 DOMÉNECH-CARBÓ, A. et al. Electrochemical identification of anthraquinone-based dyes in solid microsamples by square wave voltammetry using graphite/polyester composite electrodes. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, n. 8, p. 1169-1175, Apr. 2003.

104 AMATORE, C. et al. Mechanism of the electrochemical reduction of hydroxyiminoanthraquinones in DMF. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 207, n. 1-2, p. 151-160, July 1986.

105 WOOD, R. How to validate analytical methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 9-10, p. 624-632, Sept. 1999.

106 GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. A.; ASUERO, A. G. Intra-laboratory testing of method accuracy from recovery assays. **Talanta**, v. 48, n. 3, p. 729-736, Mar. 1999.
