

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

RAFAELA MARQUES RODRIGUES

**ESTUDO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES EM BIODIESEL POR
VOLTAMETRIA COM ANÁLISE DIRETA**

Porto Alegre, junho de 2015.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

RAFAELA MARQUES RODRIGUES

**ESTUDO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES EM BIODIESEL POR
VOLTAMETRIA COM ANÁLISE DIRETA**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso - QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química.

Profa. Dra. Clarisse Maria Sartori Piatnicki
Orientadora

Porto Alegre, junho de 2015.

AGRADECIMENTOS

Ao final desta etapa, alguns nomes devem ser lembrados, muitos pelo carinho e apoio que me deram desde o início da vida, outros por terem surgido para me auxiliar, outros por simplesmente estarem lá.

Agradeço primeiramente à Professora Dra. Clarisse Piatnicki, uma de minhas mães acadêmicas, por ter me dado a oportunidade de trabalhar sob sua orientação, sempre desvendando os mistérios da eletroanalítica, de forma esclarecedora e empolgante.

À minha dupla dinâmica, Andrea e Yara, pela ajuda, apoio, incentivo, e-mail, correção, carinho e companhias maravilhosas; sem a competência, paciência e amizade de vocês esse trabalho não teria sido possível.

Aos colegas dos laboratórios K112 e K125 pela ajuda sempre bem vinda, em vários momentos.

Agradeço à Professora Dra. Nádyá Pesce, minha orientadora, e a colega Daiani Canabarro, por terem permitido que eu realizasse meu trabalho nos momentos livres na bolsa Premium desenvolvida no laboratório E116. Obrigada pelo apoio e ajuda!

Um especial agradecimento à minha mãe, Elizabeth, minha inspiração, que me ensinou desde cedo o valor do estudo. Obrigada pelo amor, carinho, apoio e por sempre me trazer palavras motivadoras. Obrigada por acreditar em mim.

Ao meu namorado Renato, por me acompanhar desde o início, incentivando e apoiando, com amor e carinho.

À minha amiga-irmã, Karoline, por me fazer sentir inteligente e estar ao meu lado há 19 anos.

Às minhas amigas Bruna e Pâmela, por sofrerem junto e da mesma forma que eu, pelos cafés, chocolates e RU's da vida acadêmica, obrigada pelos cadernos, polígrafos, materiais e principalmente, pela amizade verdadeira de sempre.

Agradeço à minha outra mãe acadêmica, Mara Bertrand, por ter sido a minha primeira professora da graduação, por ter me enlouquecido em suas aulas de química geral experimental, despertando ainda mais o amor pela química e pelo estudo. Obrigada pelos livros, sugestões, cafés, e por ter permitido tornar-me tua amiga.

*“Há uma força motriz mais poderosa que o vapor,
a eletricidade e a energia atômica: a vontade.”*

Albert Einstein

RESUMO

Novas metodologias eletroanalíticas em meios eletricamente resistentes têm sido propostas para a quantificação de analitos em combustíveis. O biodiesel, alquil éster de ácido graxo, tem considerável importância na economia, porém a autooxidação de biodiesel puro, também chamado B100, origina produtos de oxidação secundários (epóxidos, álcoois, aldeídos e ácidos carboxílicos) que podem vir a causar danos aos motores de combustão. Devido a isso, a estabilidade à oxidação do B100 é um critério de qualidade que deve ser monitorado regularmente. Hoje em dia, utiliza-se o método Rancimat (período de indução de oxidação acelerada) para a caracterização da estabilidade oxidativa, o qual requer um número elevado de horas para sua execução. Com isso, a quantificação rápida e direta de antioxidantes adicionados ao B100 é de suma importância para permitir que ajustes sejam feitos na composição durante o seu processamento, visando assim minimizar ao máximo os processos de oxidação. Neste estudo, microemulsões de água em óleo (a/o) livres de surfactante (MELS) e contendo propanol foram utilizadas como meio solvente, viabilizando a determinação eletroanalítica direta de antioxidantes em B100. Amostras dessa microemulsão contendo ferroceno (Fc) como molécula sonda, foram analisadas com sucesso, empregando os métodos de voltametria potenciostática (VP) e voltametria de pulso diferencial (VPD) em ultramicroeletrodos (UMES) de ouro e de platina. Os resultados mostraram que os UMEs de Au e Pt apresentaram parâmetros de mérito satisfatórios, entretanto, menor sensibilidade e um processo de adsorção pronunciado é observado no UME de Pt. A técnica de adição de padrão do analito permitiu quantificar o antioxidante terc-butil-hidroquinona (TBHQ) tanto em eletrodo de Au como de Pt, com erro relativo menor para o eletrodo de Pt do que para o de Au. A concentração de TBHQ encontrada ficou acima do esperado indicando a possível presença de um contaminante oriundo do óleo de origem do biodiesel.

Palavras-chave: Biodiesel. Antioxidantes. Voltametria. Ultramicroeletrodos. Microemulsão de a/o livre de surfactante.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Esquema geral da reação de transesterificação de um óleo vegetal.....	14
FIGURA 2 - Mecanismo geral de oxidação lipídica, onde: RH, ácido graxo insaturado; R*, radical livre; ROO*, radical peróxido e ROOH, hidroperóxido	15
FIGURA 3 - Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e galato de propila (GP).....	16
FIGURA 4 - Mecanismo geral da reação de antioxidantes primários: ROO* e R* são os radicais livres, AH o antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A* o radical inerte ..	16
FIGURA 5 - (A) Sinal de excitação de tensão vs. tempo para voltametria de pulso diferencial. (B) variação das correntes faradaica e capacitiva em técnicas de pulso.....	19
FIGURA 6 - Representação vetorial das linhas de campo difusional para: (a) eletrodo planar convencional e (b) UME de disco embutido, mostrando o efeito esférico predominante neste último e (c) uma visão ampliada do apresentado em (b)	20
FIGURA 7 - Representação esquemática: (A) ME o/a; (B) ME a/o (adaptado); (C) Microemulsão bicontínua (adaptado).....	22
FIGURA 8 - Estruturas do (A) oleato de metila; (B) linoleato de metila e (C) estrutura do tensoativo SDS	24
FIGURA 9 - Voltametria potenciodinâmica em UME de Pt (10 µm de raio) de 0,000 a 0,500 V, a 1 mVs ⁻¹ , varreduras direta e inversa. ME B: (a) sem Fc e (c) com 2,3 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de Fe; ME1: (b) sem Fc e (d) com 2,3 10 ⁻³ mol L ⁻¹ . Eletrodo de pseudo-referência e contra eletrodo de Pt.....	25
FIGURA 10 – Fotografias da cela eletroquímica e dos eletrodos e UME de Au.	29
FIGURA 11 - Voltametria potenciodinâmica (VP) do Fc em MELS, a/o, de biodiesel, em UME de Au.....	30
FIGURA 12 - Voltametria potenciodinâmica (VP) do Fc em MELS, a/o, de biodiesel, em UME de Pt.....	31
FIGURA 13 - Voltametria de pulso diferencial (VPD) para o Fc em UME de Au.....	33
FIGURA 14 - Voltametria de pulso diferencial (VPD) para o Fc em UME de Pt	34
FIGURA 15 - Curva de calibração para adição de Fc em UME de Au.....	35
FIGURA 16 - Curva de calibração para adição de Fc em UME de Pt	35

FIGURA 17 – Voltametria de pulso diferencial (VPD) em UME de Au da MELS contendo TBHQ.....	37
FIGURA 18 – Curva de adição de padrão de TBHQ na MELS em UME de Au.....	38
FIGURA 19 – Dispersão do desvio padrão no estudo da MELS em UME de Au	39
FIGURA 20 – Voltametria de pulso diferencial (VPD) em UME de Pt da MELS contendo TBHQ.....	40
FIGURA 21 – Curva de adição de padrão de TBHQ na MELS em UME de Pt	40
FIGURA 22 – Dispersão do desvio padrão no estudo da MELS em UME de Pt.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Figuras de mérito para a curva de calibração do Fc na MELS em UMEs de Au e Pt	37
Tabela 2 - Parâmetros de mérito para a curva de calibração do TBHQ na MELS em UME de Au	38
Tabela 3 - Parâmetros de mérito para a curva de adição de padrão do TBHQ na MELS em UME de Pt	41
Tabela 4 - Comparação entre os parâmetros de mérito para a curva de calibração do Fc e da adição de padrão de TBHQ na MELS em UMEs de Au e Pt.....	41
Tabela 5 - Concentrações de TBHQ em B100 encontradas empregando eletrodos de Au e Pt.....	42
Tabela 6 - Determinação de TBHQ na amostra de biodiesel aditivada em MELS a/o: eletrodos de Au e Pt.....	42

LISTA DE ABREVIACÕES

B100 – biodiesel puro

BHA – butilhidroxianisol

BHT – butilhidroxitolueno

$E_{1/2}$ – potencial de meia onda

E_f – potencial final

E_i – potencial inicial

Fc – Ferroceno

HPLC/TOF-MS – cromatografia líquida de alto desempenho/tempo de vôo acoplado a espectrômetro de massas (do inglês, *high performance liquid chromatography/time off light-mass spectrometry*).

ME – microemulsão

ME a/o – microemulsão água em óleo

ME o/a – microemulsão óleo em água

MELS – microemulsão livre de surfactante

PG – galato de propila

SDS – dodecilsulfato de sódio

TBHQ – terc-butil-hidroquinona

UME – ultramicroeletrodo

VP – voltametria potenciodinâmica

VPD – voltametria de pulso diferencial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3 DESENVOLVIMENTO	14
3.1 Biodiesel: Obtenção e autooxidação	14
3.2 Estabilidade oxidativa do biodiesel	15
3.3 Métodos analíticos instrumentais utilizados na análise de óleos vegetais e biodiesel.....	17
3.4 Técnicas eletroquímicas na análise de óleos vegetais e demais amostras gordurosas	17
3.5 Voltametria em ultramicroeletrodos	19
3.6 Voltametria no estado estacionário.....	20
3.7 Microemulsões na análise de meios resistivos.....	22
3.8 Microemulsões livres de surfactantes (MELS).....	23
3.9 Ferroceno em microemulsões.	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1 Materiais e reagentes.	27
4.2 Limpeza do material	27
4.3 Amostras	27
4.4 Preparo das amostras.	27
4.4.1 Preparo da microemulsão.....	27
4.4.2 Curva de calibração do Fc.....	28
4.4.3 Técnica de adição de padrão para a quantificação de TBHQ: ensaio de recuperação.	28
4.4.4 Solução estoque de TBHQ.....	28
4.5 Instrumentação.	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Voltametria potenciodinâmica de ferroceno em MELS.....	30

5.1.1 Oxidação de Fc em UME de ouro e de platina.....	30
5.2 Oxidação do Ferroceno em MELS por Voltametria de Pulso Diferencial.	33
5.2.1 Oxidação do Fc por voltametria de pulso diferencial em UME de ouro e de platina.....	33
5.3 Curvas de calibração do Fc em UME de Au e de Pt.	34
5.4 Figuras de mérito.....	36
5.4.1 Limites de detecção e quantificação..	36
5.5 Determinação de TBHQ em B100.....	37
5.5.1 Determinação de antioxidante TBHQ por VPD em UME de ouro.	37
5.5.2 Determinação de antioxidante TBHQ por VPD em UME de platina.	39
6 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

INTRODUÇÃO

A crescente demanda de energia, conseqüente do aumento da população mundial e atendida, principalmente, pela queima de combustíveis de origem fóssil, tem nestes os principais fatores responsáveis pelo efeito estufa. Com essa preocupação ambiental, a procura de fontes energéticas alternativas renováveis e menos poluentes aumentou significativamente nos últimos anos.

Biocombustíveis originados de óleo de soja poluem menos do que os combustíveis fósseis por emitirem menos compostos no processo de combustão em motores e também devido ao processo de produção, que tende a ser mais limpo.¹ O controle de qualidade dos combustíveis gasolina, etanol e diesel, é feito segundo normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR) e ASTM (American Standard Technical Methods). Entretanto, para o biodiesel, em razão da natureza das oleaginosas empregadas em sua síntese, faz-se necessário desenvolver normas brasileiras específicas. Por outro lado, é de grande importância o estudo e a quantificação dos antioxidantes sintéticos utilizados no biodiesel, de modo a comprovar sua eficácia. Na indústria, a avaliação dessa eficácia requer rapidez, porém o método mais utilizado para este fim, o ensaio de oxidação acelerada (Rancimat), é uma técnica que demanda, entre a preparação e a execução, um período de tempo frequentemente superior a 6 horas. Com isso, o desenvolvimento de uma metodologia mais rápida e de parâmetros confiáveis, quando comparada ao ensaio Rancimat, é de suma importância.

Neste contexto, destaca-se a utilização de ultramicroeletrodos (UME) no desenvolvimento de metodologia eletroanalítica. Estes dispositivos apresentam vantagens, tais como: alta velocidade no transporte de massa, baixa queda ôhmica, elevada relação corrente faradaica/corrente capacitiva e elevadas densidades de corrente. Sua utilização viabiliza estudos eletroquímicos de sistemas redox em solventes com elevada resistência elétrica em razão de suas dimensões micrométricas, que geram correntes da ordem de nanoampéres e conseqüente queda ôhmica negligenciável. Os UMEs mais utilizados nos ensaios com biodiesel, são os em ouro e platina, que apresentam respostas eletroquímicas diferentes.

As técnicas voltamétricas de pulso (Voltametria de Pulso Diferencial e Voltametria de Onda Quadrada) são consideradas satisfatórias para a análise de biodiesel por serem mais sensíveis, devido à diminuição da contribuição da corrente capacitiva no sinal obtido, fator importante a ser minimizado já que esta corrente independe da concentração da espécie em estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver metodologia eletroanalítica para a quantificação de antioxidantes em biodiesel empregando técnicas de voltametria em microemulsão de água em óleo livre de surfactante (MELS) contendo o antioxidante TBHQ.

2.2 Objetivos específicos

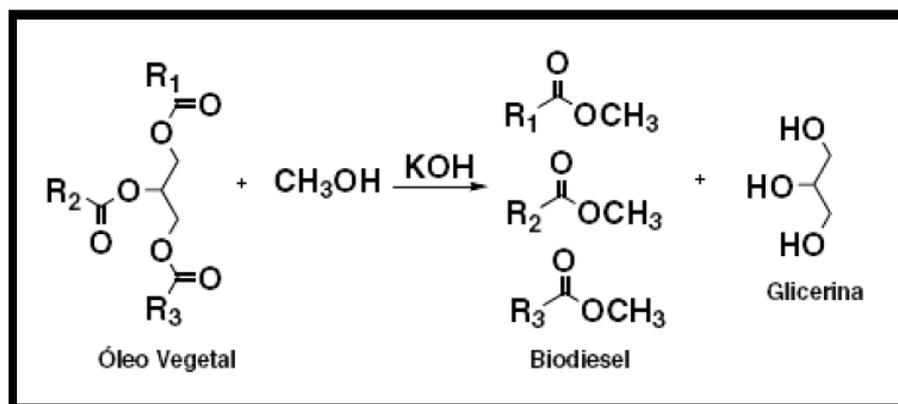
- a) Avaliar por medidas voltamétricas a resposta eletroquímica do TBHQ dissolvido em microemulsão do tipo água em óleo, livre de surfactante (MELS), utilizando UME de ouro e de platina.
- b) Otimizar as proporções dos constituintes da microemulsão livre de surfactante e do TBHQ de modo a aumentar a sensibilidade da resposta eletroquímica do sistema.
- c) Determinar as figuras de mérito na quantificação de TBHQ em biodiesel.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Biodiesel: Obtenção e autooxidação

O biodiesel pode ser definido como sendo um mono-álquil éster de ácidos graxos derivado de fontes renováveis como gorduras animais e/ou óleos vegetais.^{2,5} Ele é obtido através de vários métodos de síntese, como por exemplo, a reação de um álcool com um óleo vegetal ou gordura na presença de um catalisador (reação de transesterificação, mostrada no esquema da Figura 1), em que triglicerídeos são transformados em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos.^{3,6}

Figura 1 - Esquema geral da reação de transesterificação de um óleo vegetal.

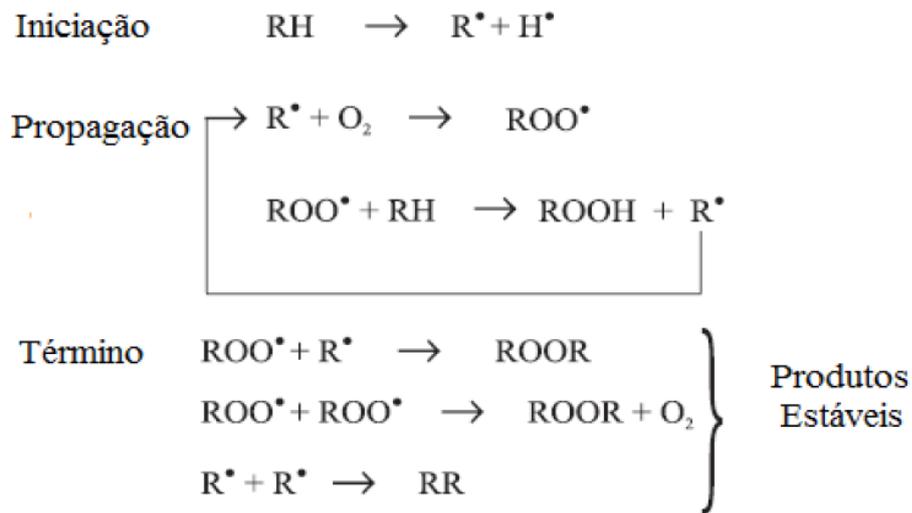


Fonte: NOUREDDINI et al, 1998.

O biodiesel assim obtido pode conter, além de glicerina, sub-produtos tais como ácidos graxos livres e produtos intermediários, além de resíduos de álcool e catalisador,^{6,7} os quais podem acelerar a degradação química do biodiesel durante sua estocagem.^{3,8}

A autooxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras (Figura 2). Na etapa de iniciação, o radical livre do éster e/ou do ácido graxo (R*) é formado pela remoção de um hidrogênio do carbono alílico. Na etapa de propagação, os radicais livres susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico são convertidos em outros radicais, formando os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Ao final, formam-se produtos mais estáveis (os produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos, sendo eles os epóxidos, álcoois, aldeídos e ácidos carboxílicos.^{9,11}

Figura 2 – Mecanismo geral de oxidação lipídica, onde: RH, ácido graxo insaturado; R*, radical livre; ROO*, radical peróxido e ROOH, hidroperóxido.



Fonte: RAMALHO et al, 2006.

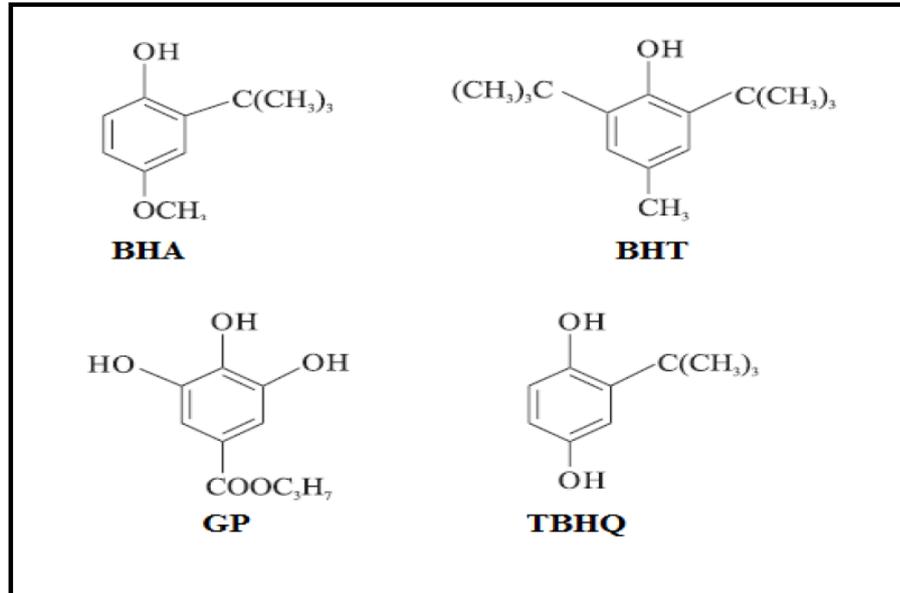
3.2 Estabilidade oxidativa do biodiesel

Estudos anteriores mostram que parâmetros como viscosidade e teores de peróxido e de ácidos graxos livres estão diretamente relacionados com a exposição do biodiesel ao ar, altas temperaturas, umidade e luz, os quais afetam a estabilidade oxidativa.^{12,14} Lilon I. Merrill et al investigaram a estabilidade oxidativa de óleos vegetais comerciais, entre eles, óleo de girassol, soja e canola, com e sem adição dos antioxidantes terc-butil-hidroquinona (TBHQ), palmitato de ascorbila, extrato de alecrim e uma mistura de tocoferóis. Os valores do índice e estabilidade do óleo (*oil stability index*, OSI) e índice de peróxido (peroxide value, PV), medidos de acordo com o AOCS Method Cd 12b-92 e Cd 8b-90, respectivamente, mostraram uma estabilidade oxidativa de até 55,7 h.¹⁵ De acordo com Knothe e colaboradores,¹⁰ a susceptibilidade do biodiesel à oxidação após exposição ao oxigênio do ar deve-se ao teor de ácidos graxos de cadeias insaturadas.

Com a finalidade de inibir a oxidação destes ésteres, são empregados antioxidantes sintéticos.^{12,13,16,17} Dentre os mais utilizados estão o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), galato de propila (GP) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ). A estrutura fenólica destes compostos viabiliza a doação de um próton a um radical livre, interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres.^{11,18}

As estruturas químicas de alguns antioxidantes sintéticos são mostradas na Figura 3:

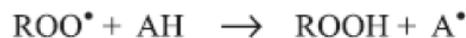
Figura 3 – Estrutura fenólica dos antioxidantes sintéticos butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e galato de propila (GP).



Fonte: RAMALHO et al, 2006.

Frankel¹⁸ propôs o mecanismo de ação destes antioxidantes representado no esquema da Figura 4, abaixo.

Figura 4 – Mecanismo geral da reação de antioxidantes primários: ROO* e R* são os radicais livres, AH o antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A* o radical inerte.



Fonte: FRENKEL et al, 1980.

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

Segundo a Resolução N° 45 de 25.08.2014-DOU 26.08.2014 da ANP,¹⁹ o produtor, o adquirente e o importador ficam obrigados a garantir a qualidade do biodiesel a ser comercializado em todo o território nacional e a emitir o Certificado de Qualidade, cujos

resultados deverão atender aos limites estabelecidos na Resolução. Esta estabelece, para a estabilidade oxidativa do biodiesel, um tempo mínimo de 6 horas pelo método Rancimat, bem como uma gama de especificações também deve ser atendida para que o biodiesel seja certificado, as quais devem, ainda, ser determinadas de acordo com a publicação mais recente relativa aos métodos de ensaios.

3.3 Métodos analíticos instrumentais utilizados na análise de óleos vegetais e biodiesel

Os métodos analíticos instrumentais de uso corrente na análise de óleos vegetais são a espectroscopia de absorção atômica²⁰ e de emissão atômica²¹ na determinação de inorgânicos, cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas na determinação de voláteis, compostos orgânicos²² e antioxidantes²³ e a cromatografia líquida de alta eficiência com diferentes detectores na determinação de vários antioxidantes.^{24,25} Limites de detecção entre 0,001 e 0,2 mg Kg⁻¹ foram alcançados na determinação de oxidantes sintéticos por HPLC/TOF-MS (cromatografia líquida de alto desempenho/tempo de voo acoplado à espectrômetro de massas - do inglês *high performance liquid chromatography/time off light-mass spectrometry*).²⁶ Também por HPLC, porém com detector de captura de íons acoplado à espectrometria de massas, foi reportada a determinação de butilhidroquinona.²⁷

Parâmetros de estabilidade oxidativa e cinéticos^{28,29} bem como propriedades de antioxidantes naturais³⁰ foram investigados por calorimetria de varredura exploratória. A literatura reporta ainda uma técnica coulométrica³¹ para a determinação de antioxidantes em gordura animal. Outro método, de menor custo e mais simples, foi proposto no ano de 2008 por Szydłowska-Czerniaka e colaboradores, empregando o complexo entre íon ferroso e 1,10-fenantrolina para análise de antioxidantes totais extraídos de óleos vegetais empregando metanol ou acetona.³²

3.4 Técnicas eletroquímicas na análise de óleos vegetais e demais amostras gordurosas

Um grande número de trabalhos publicados na literatura utiliza técnicas voltamétricas e amperométricas para a determinação de oxidantes naturais e sintéticos, em diferentes amostras oleosas, como óleos vegetais, margarina, maionese e biodiesel. Dentre as técnicas voltamétricas mais utilizadas estão a voltametria linear, de onda quadrada, de pulso diferencial e cíclica. Tais ensaios, quando realizados em meio aquoso, requerem sempre uma etapa prévia de extração do antioxidante da matriz por um solvente orgânico. Entretanto,

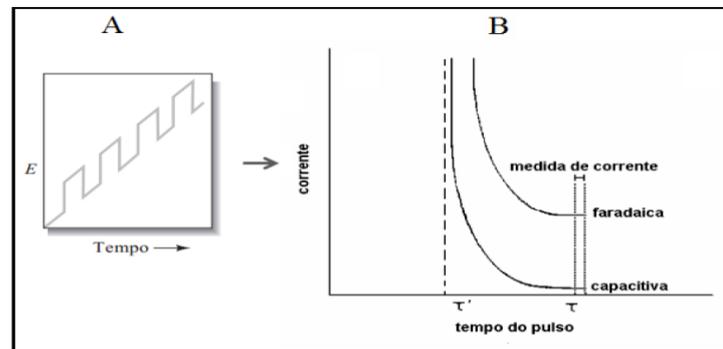
quando a análise é realizada em solvente orgânico, a etapa de extração em alguns casos não é necessária.

Os métodos voltamétricos de análise empregam, geralmente, uma célula eletroquímica constituída de três eletrodos, sendo eles: eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e contraeletrodo. O eletrodo de referência apresenta potencial constante e reprodutível, enquanto o contraeletrodo deve ser inerte, normalmente de platina, e com área suficiente para prover os elétrons necessários aos processos eletródicos.³³ O princípio geral da técnica é a polarização do eletrodo de trabalho, através de uma diferença de potencial aplicada entre este e o eletrodo de referência, em um determinado intervalo de tempo, registrando-se a corrente que circula entre o eletrodo de trabalho e o contraeletrodo.

Na voltametria potenciodinâmica (VP), uma determinada faixa de potenciais é aplicada ao eletrodo de trabalho em varreduras direta e inversa.³⁶ Num sistema em estado estacionário, o voltamograma obtido para uma reação reversível em que somente uma espécie eletroativa, oxidante ou redutora, está presente inicialmente na solução é uma curva sigmóide (ou onda) denominada voltamograma. Ela fornece as correntes catódica ou anódica da reação, bem como o valor de $E_{1/2}$, potencial de meia onda, que corresponde ao potencial de equilíbrio da reação de oxidação-redução. Quando o voltamograma obtido na varredura inversa se sobrepõe ao da varredura direta, o sistema está no estado estacionário. Neste caso, a qualquer distância da superfície do eletrodo, os valores da concentração do analito são constantes.

A voltametria de pulso diferencial (VPD) está baseada na medida da corrente elétrica em função do tempo de aplicação de um determinado pulso de potencial ao eletrodo de trabalho. Esta técnica difere da voltametria linear pelo modo como estes pulsos são aplicados. Na VPD, são aplicados pulsos de igual amplitude sobre uma rampa linear de potencial e a corrente é medida antes e depois da aplicação do pulso, (Figura 5) sendo que a diferença entre esses dois valores corresponde à corrente faradaica. Enquanto esta corrente resulta do processo de oxidação ou de redução do analito na superfície do eletrodo, a corrente capacitiva é resultado da formação da dupla camada elétrica na interface do eletrodo, processo que envolve a adsorção seletiva de espécies presentes no meio e que não envolve reação de oxidação ou de redução.^{34,78}

Figura 5 – (A) Sinal de excitação de tensão vs. tempo para voltametria de pulso diferencial. (B) Variação das correntes faradaica e capacitiva em técnicas de pulso.



Fonte: (A) SOUZA et al, 2003. (B) SKOOG et al, 2006.

As técnicas de pulso são mais sensíveis do que a voltametria linear porque minimizam a contribuição da corrente capacitiva no sinal obtido, já que essa independe da concentração da espécie em estudo.³⁵

A quantificação de tocoferóis em óleos vegetais foi realizada empregando eletrodo de platina modificado com polipirrol em meio 1,2 dicloroetano:etanol.³⁷ Já o comportamento voltamétrico da vitamina E em azeite de oliva utilizando eletrodo de carbono vítreo foi estudado em meio etanol-hexanol podendo o método ser aplicado na determinação de tocoferóis em diferentes amostras de óleos vegetais. Entretanto, uma etapa de extração em fase sólida é necessária.³⁸

Algumas propostas alternativas têm obtido sucesso na determinação de antioxidantes em biodiesel através de técnicas convencionais. Voltametria de onda quadrada com eletrodo gotejante de mercúrio em tampão Britton-Robinson contendo surfactante Triton X-100 e voltametria linear com eletrodo de pasta de carbono no mesmo tampão e na presença de surfactantes^{39,40} foram empregadas na determinação de TBHQ. Já a determinação individual de BHA e sua mistura com TBHQ empregou métodos amperométricos utilizando eletrodo de diamante dopado com boro⁴¹ e eletrodo de carbono vítreo.⁴² Ainda, recentemente, um eletrodo impresso de nanotubo de carbono foi proposto para a detecção e quantificação simultânea de TBHQ e BHA utilizando CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio).⁴³

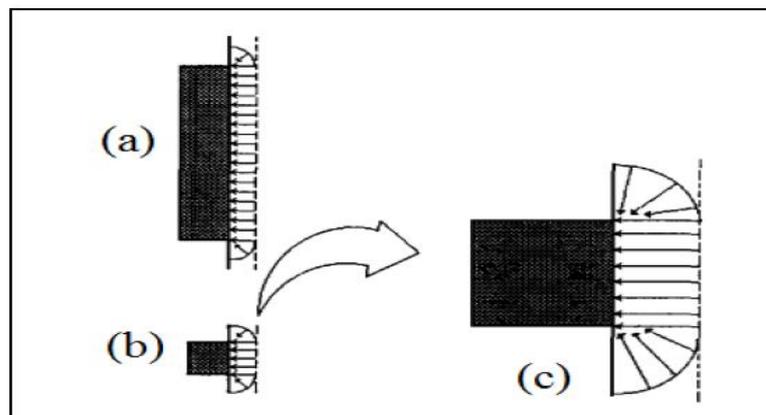
3.5 Voltametria em ultramicroeletrodos

A partir dos estudos pioneiros de Fleischmann e colaboradores na década de 70, a utilização de ultramicroeletrodos (UME) viabilizou estudos eletroquímicos de sistemas redox

em solventes com elevada resistência elétrica, inacessíveis até então quando empregados eletrodos de trabalho de dimensões convencionais (milimétricos).^{44,45}

Em decorrência da magnitude de seu menor parâmetro geométrico ser da ordem de 0,8 a 50,0 μm , os UME apresentam propriedades vantajosas e um comportamento eletroquímico peculiar frente aos eletrodos convencionais.⁴³⁻⁴⁶ Entre essas propriedades destacam-se a alta velocidade no transporte de massa devido à forma esférica da camada de difusão (Figura 6), alcançando rapidamente o estado estacionário, o qual é atingido em tempos muito menores do que aquele encontrado em eletrodos convencionais; baixa queda ôhmica, possibilitando estudos eletroquímicos de sistemas de oxidação-redução em solventes com elevada resistência elétrica e relação corrente faradaica/corrente capacitiva, possibilitando a utilização do UME em velocidades de varredura rápidas.

Figura 6 – Representação vetorial das linhas de campo difusional para: (a) eletrodo planar convencional e (b) UME de disco embutido, mostrando o efeito esférico predominante neste último e (c) uma visão ampliada do apresentado em (b).



Fonte: DA SILVA et al, 2014.

Outra vantagem dos UMEs, é a possibilidade de construí-los em uma grande variedade de formas geométricas tais como disco, cilindro e anel, e em diferentes materiais tais como platina, ouro e carbono vítreo.⁴⁴

3.6 Voltametria no estado estacionário

A velocidade com que um analito em solução se oxida ou se reduz na superfície do eletrodo depende da velocidade do transporte de massa (transporte do analito do seio da solução à superfície do eletrodo) e/ou de transferência de carga (velocidade da transferência

de elétrons entre a coroa eletrônica da espécie eletroativa e a superfície do eletrodo). Reações químicas depois da reação eletroquímica bem como processos de adsorção na superfície do eletrodo também podem ocorrer.

No estado estacionário, há uma relação entre o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho, a corrente de eletrólise e o tempo de aplicação do potencial, dado por $f(E,i,t) = 0$, que corresponde a um valor constante na taxa de variação da concentração do analito na vizinhança do eletrodo. O transporte por difusão, difusão convectiva ou por uma combinação de efeitos de difusão e migração permite alcançar o estado estacionário.⁴⁷

Na voltametria linear o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia de um potencial inicial E_i a um potencial final E_f com uma velocidade de varredura constante v de acordo com a Equação [1]:

$$E = E_i + vt \quad [1]$$

Quando o potencial do eletrodo é varrido de um valor no qual nenhuma reação ocorre no eletrodo até um valor de potencial em que a corrente faradaica alcança um patamar, ou seja, a corrente limite da reação, a concentração de substâncias eletroativas na superfície do eletrodo cai a zero. Nestas condições um gradiente de concentração aparece entre a região na superfície do eletrodo e o seio da solução.

O volume de solução dentro do qual ocorre o fluxo difusional é chamado camada de difusão δ (espessura da camada de solução adjacente à superfície do eletrodo de trabalho onde ocorre a difusão da espécie que se reduz ou que se oxida) cuja espessura é da ordem de nm. Por sua vez, o fluxo de substâncias na direção do eletrodo é descrito pelo produto de seu coeficiente de difusão (D) e da concentração, dividido pela espessura da camada de difusão.

Pode-se dizer que no caso dos ultramicroeletrodos, sob dadas condições experimentais, as dimensões do eletrodo são comparáveis ou menores do que δ e um estado estacionário ou estado pseudo-estacionário (no caso de eletrodos cilíndricos) é alcançado rapidamente^{33,44,48} sendo a corrente limite para um ultramicroeletrodo de disco dada pela Equação [2].⁴⁸

$$I_{lim} = 4nFDcR \quad [2]$$

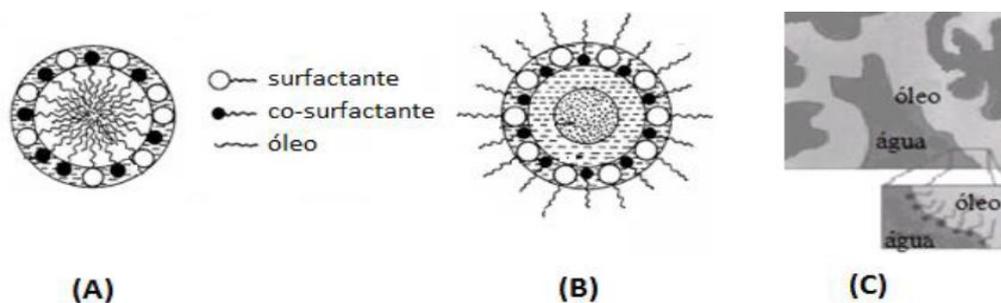
onde n é número de elétrons envolvidos na reação, F o Faraday, D o coeficiente de difusão, C a concentração da espécie eletroativa, respectivamente, e r o raio do disco.

3.7 Microemulsões na análise de meios resistivos

Em meios com elevada viscosidade e baixa condutividade como o biodiesel, a aplicação de técnicas eletroanalíticas diretamente na amostra é dificultada especialmente pela sua alta resistência elétrica. Assim, o preparo destas amostras sob a forma de microemulsões (ME) constitui uma alternativa para o emprego de métodos eletroanalíticos.^{49,50} O interesse e o uso intensivo de microemulsões, evidenciados pelos numerosos estudos durante as últimas décadas, baseiam-se na sua alta capacidade de solubilização, tanto de compostos hidrofílicos como hidrofóbicos (espécies polares, apolares ou iônicas)^{51,52,53} e na estabilidade termodinâmica, parâmetros que dependem de um ajuste adequado de sua composição.⁴⁹⁻⁵⁵ Novas metodologias analíticas têm sido propostas utilizando eletrodos micrométricos^{56,57} e microemulsões^{58,59} permitindo assim a eletroanálise diretamente em meios resistivos.

De modo geral, microemulsões (Figura 7) são constituídas por gotículas nanométricas dispersas em uma fase contínua de um solvente imiscível com a fase dispersa.⁶⁰ Elas são compostas de água, um solvente hidrofóbico denominado “óleo”, um surfactante e, frequentemente, um co-surfactante. A literatura^{60,61} propõe que a água presente nestes sistemas, quando em baixo teor, é imobilizada na solvatação das cabeças polares do co-surfactante, como por exemplo, em micelas reversas. Já quando o teor de água é superior à quantidade necessária para solvatar o co-surfactante, um certo volume de água pode ficar livre no interior da gotícula ME A/O (microemulsão água em óleo) ou no seu exterior ME O/A (microemulsão óleo em água). Existem ainda as microemulsões bicontínuas, que se formam quando as quantidades de água e óleo são semelhantes, coexistindo então canais de água e óleo interfaciados pelo surfactante e co-surfactante.

Figura 7 – Representação esquemática: (A) ME o/a; (B) ME a/o (adaptado); (C) Microemulsão bicontínua (adaptado).



Fonte: CASAGRANDE et al, 2012.

Além destes, usam-se co-surfactantes, os quais se posicionam na monocamada do surfactante para aumentar a flexibilidade dessa camada e diminuir a tensão interfacial, causando uma curvatura da superfície favorável energeticamente à formação de uma dispersão.⁶⁰ Os surfactantes, componentes essenciais das microemulsões, são compostos orgânicos ou organometálicos anfifílicos, ou seja, substâncias caracterizadas pela presença de duas regiões em suas estruturas moleculares, uma polar e hidrofílica e outra apolar e hidrofóbica, que possibilitam a interação entre meios que apresentam polaridades diferentes como, por exemplo, água e óleo.⁶⁰ A formação de um filme molecular ordenado nas interfaces reduz a tensão interfacial e superficial, que é a responsável pelas propriedades únicas dos surfactantes, os quais proporcionam uma alta capacidade solvente às MEs.⁶²

Em sistemas microemulsionados, os co-surfactantes são responsáveis pela redução adicional da tensão interfacial das gotículas, e muitas vezes são necessários para a formação e estabilidade termodinâmica dos sistemas, especialmente quando surfactantes iônicos como o dodecilsulfato de sódio (SDS) são utilizados.⁶³⁻⁶⁵ Entretanto, a utilização destes agentes requer uma concentração elevada, que leva ao aumento da toxicidade. Muita atenção tem sido dada recentemente para a utilização de fosfolípidios na formulação farmacêutica de microemulsões aceitáveis.^{66,67} As microemulsões são importantes como veículos de administração de fármacos solúveis fracamente lipofílicos, por causa de sua transparência, facilidade de preparação e estabilidade a longo prazo.⁶⁸ Além disso, o raio das microemulsões é comprovadamente pequeno (menores do que 100 nm) indicando que o efeito de nano-escala das microemulsões melhora a penetração ou a absorção pelas células.

Alguns surfactantes sintéticos não são permitidos para aplicação em alimentos, em muitos países. Por conseguinte, os tipos de agentes tensoativos e co-tensoativos disponíveis para a preparação da formulação oral de microemulsões são restritos. Como o óleo de soja não contém muita gordura saturada e colesterol tornou-se um suplemento alimentar popular e amplamente utilizado em todo o mundo. Além disso, é em muitos aspectos considerado como um surfactante biológico ideal porque é biodegradável.^{69,70}

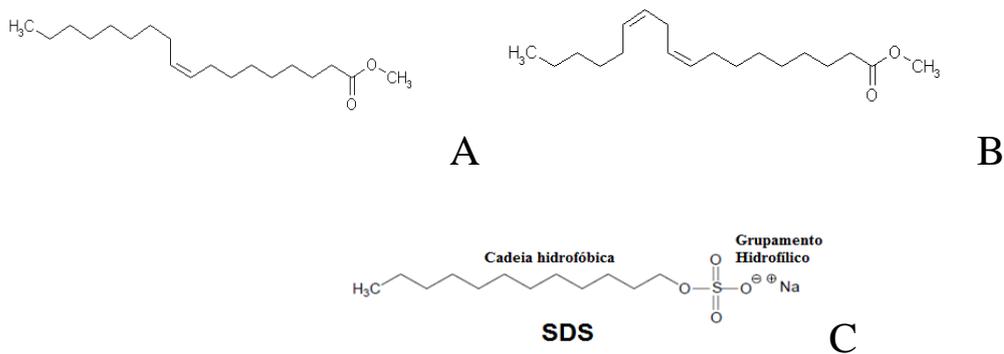
3.8 Microemulsões livres de surfactantes (MELS)

Pesquisas relacionadas à quantificação de antioxidantes em biodiesel empregam agentes tensoativos (surfactantes) que tem como finalidade alterar as propriedades superficiais da interface entre dois líquidos imiscíveis. Entretanto, sabe-se que agentes tensoativos podem ser adsorvidos em eletrodos de diferentes materiais⁷² o grau de adsorção dependendo de

fatores tais como: natureza do surfactante e do eletrodo; pré-tratamento do eletrodo; potencial aplicado e concentração das substâncias presentes, incluindo as espécies eletroativas. O surfactante adsorvido pode bloquear física, parcial ou totalmente, o acesso das espécies eletroativas à superfície do eletrodo e pode afetar o potencial de dupla camada. Em alguns casos, não ocorre adsorção e, em outros, a adsorção do surfactante não tem efeito sobre o processo eletroquímico a ser estudado.

Para diminuir esse efeito neste estudo, as microemulsões foram preparadas sem a adição de surfactante, valendo-se do caráter surfactante e até mesmo co-surfactante do próprio biodiesel. A Figura 8 evidencia as semelhanças entre a estrutura do surfactante dodecil sulfato de sódio (SDS) e as do oleato e do linoleato de metila (ácidos que representam respectivamente 22,5% e 54% do óleo de soja).

Figura 8: Estruturas do (A) oleato de metila; (B) linoleato de metila e (C) dodecil sulfato de sódio SDS.



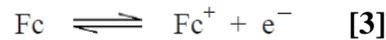
Nas microemulsões denominadas livres de surfactante, a fase óleo é formada por compostos com natureza anfifílica, como é o caso do biodiesel, que desempenha, portanto, dupla função, dispensando a adição suplementar de surfactante.⁷²

3.9 Ferroceno em microemulsões

Com o intuito de se verificar o emprego do método de quantificação de antioxidantes em MELS por meio de medidas voltamétricas, estudos preliminares utilizam espécies químicas denominadas sondas, devido ao seu par redox ter comportamento conhecido. Em solventes orgânicos são empregadas como tal moléculas de grande superfície, como o tetratiafulvaleno, tetracianoquinodimetano (TCNQ) e outras. De acordo com recomendações

da IUPAC, o ferroceno (Fc) pode ser utilizado como sistema de referência em meios não aquosos.⁸⁰

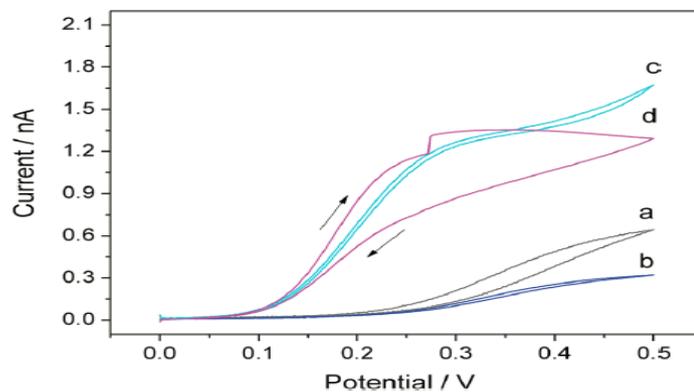
O Fc é oxidado eletroquimicamente a ferrocínio num processo envolvendo um elétron, segundo a Equação [3].⁷³



Entretanto, embora a solubilidade de Fc em água seja muito baixa, $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, uma pequena fração do composto adicionado à microemulsão irá se dissolver. Da Silva et al, apresentam uma breve discussão sobre o papel do Fc como molécula sonda em ME.

Voltamogramas potenciodinâmicos em duas microemulsões de biodiesel do tipo água em óleo contendo SDS, na presença e na ausência de Fc, são mostrados na Figura 9.

Figura 9 – Voltametria potenciodinâmica em UME de Pt com 10 μm de raio, varreduras direta e inversa entre 0,000 e 0,500 V a 1 mV s^{-1} . Microemulsão de água em óleo contendo 60% de biodiesel (a) na ausência de Fc e (c) na presença de $2,3 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc; Microemulsão de água em óleo contendo 28% de biodiesel: (b) na ausência Fc e (d) com $2,3 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de pseudo-referência e contra eletrodo de Pt.



Fonte: DA SILVA et al, 2014.

Na ausência de Fc (curvas a e b) observa-se uma corrente de oxidação próximo a 0,350 V, que é atribuída a espécies desconhecidas presentes no biodiesel. Ainda, observa-se que a taxa de oxidação do Fc na ME contendo 60% de biodiesel é menor na corrida inversa do que na direta, fenômeno que pode ser interpretado pela adsorção de SDS na superfície do eletrodo. É conhecido que os surfactantes adsorvem em vários tipos de materiais que revestem os eletrodos, sendo esse fato relacionado à natureza do surfactante e do eletrodo, potencial do eletrodo e concentração do surfactante e de outras substâncias presentes, incluindo espécies

eletroativas. Em alguns casos a adsorção não ocorre e, em outros casos, mesmo havendo adsorção do surfactante, não é observado nenhum efeito sobre a eletroquímica do processo. Da Silva et al, comprovaram que o Fc pode ser utilizado como sonda em microemulsões a/o de biodiesel.

Sendo os resultados relatados satisfatórios, a utilização do Fc como molécula sonda apresentou-se como alternativa interessante a ser empregada no estudo da resposta da nova composição de microemulsão sem a adição de surfactantes e co-surfactantes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais e reagentes

Na preparação das microemulsões foi utilizada água deionizada com resistividade de 18,2 M Ω cm, purificada em um sistema MilliQ[®] da Millipore e propanol da marca Sigma-Aldrich. Tetrafluorborato de tetrabutilamônio, de procedência Merck, foi utilizado como eletrólito suporte. Para a curva de calibração, utilizou-se Fc da Fluka e terc-butil-hidroquinona (TBHQ), também da Fluka, foi o antioxidante avaliado durante as análises.

As microemulsões foram preparadas como descrito em 4.4.1 e 4.4.2 em bequeres de 50 mL, sob agitação, até completa dissolução e, após, adicionadas a uma cela eletroquímica de 100 mL de capacidade. Os ultramicroeletrodos são da EG&G PAR (Princeton Applied Research, Wellesley, MA, USA).

4.2 Limpeza do material

Para que o resultado obtido eletroquimicamente fosse considerado satisfatório e confiável, a cada início de experimentos procedeu-se à limpeza do ultramicroeletrodo (UME) com detergente neutro, água corrente e posterior enxágue com água deionizada. Em seguida, o UME foi imerso em ácido sulfúrico concentrado e colocado em ultrassom, sendo sonificado por 5 minutos. Após, o UME foi novamente enxaguado, na sequência, em água corrente e água deionizada e cuidadosamente seco com papel absorvente macio.

A cela eletroquímica e os eletrodos foram lavados diariamente com detergente neutro, enxaguados com água corrente e deionizada e colocada para secar em local apropriado.

4.3 Amostras

Amostras de biodiesel (B100) não aditivado foram cedidas pela empresa BSBios (Indústria e Comércio de Biodiesel Sul Brasil S/A – Distrito Industrial – Passo Fundo). Estas amostras foram utilizadas no desenvolvimento do trabalho, após serem devidamente filtradas em filtro Chromafil[®] com porosidade de 0,40 μ m.

4.4 Preparo das amostras

4.4.1 Preparo da microemulsão

A microemulsão foi preparada com as seguintes proporções entre os componentes: 71% propanol (aproximadamente 10 g); 18% B100 (aproximadamente 2,5 g) e 11% água deionizada (aproximadamente 1,5 g), correspondendo a 10 mL de microemulsão. A mistura

foi então agitada até dissolução completa dos componentes e, em seguida, foram adicionados e dissolvidos, sob agitação, aproximadamente 0,066 g de tetrafluorborato de tetrabutilamônio.

4.4.2 Curva de calibração do Fc

À mesma microemulsão descrita em 4.4.1 foram adicionadas, sucessivamente, três porções de 0,0015 g de Fc para a construção da curva analítica, obtendo-se ao final uma concentração de aproximadamente 0,0045 g de Fc em 10 mL de microemulsão.

4.4.3 Teste de recuperação de TBHQ adicionado à amostra de biodiesel

A 100 mL de B100 foram adicionados 0,02 gramas de TBHQ. A partir desta solução, preparou-se uma MELS nas mesmas proporções indicadas em 4.4.1, obtendo-se uma concentração de TBHQ de $36 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.4.4 Solução estoque de TBHQ

Aproximadamente 0,02 g correspondendo a $0,012 \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ foram dissolvidos em balão volumétrico de 10 mL na microemulsão de composição descrita em 4.4.1, preparada com B100 não aditivado.

4.5 Instrumentação

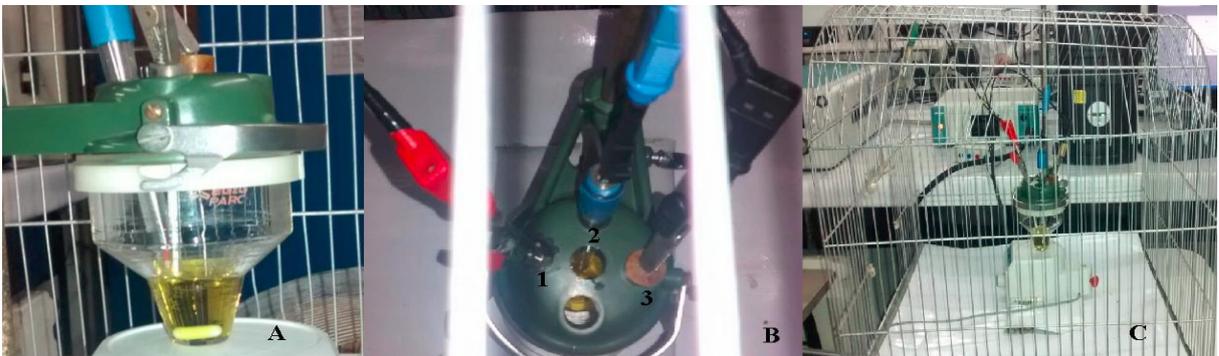
Para a realização dos experimentos foi utilizado um potenciostato/galvanostato (TYPE III, $\mu\text{AutoLab}$) equipado com uma célula eletroquímica de três eletrodos. Como eletrodos de trabalho foram utilizados UMEs de platina e de ouro (PAR com diâmetro de $10 \mu\text{m}$) e como contra eletrodo um fio de platina. Um eletrodo de platina Radiometer também foi utilizado como eletrodo de quase referência. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente numa gaiola de Faraday, de modo que não houvesse interferências eletromagnéticas em relação aos eletrodos. Os dados obtidos foram tratados nos softwares GPES® e Origin®. Antes de cada medida, o eletrodo de trabalho foi tratado com ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (voltametria cíclica 1 V s^{-1} , por 30 minutos) e um choque catódico, afim de garantir que a superfície do eletrodo estivesse livre de adsorbatos. Os valores de potencial de meia-onda ($E_{1/2}$) do Fc nas MELS estudadas foram obtidos por voltametria potenciodinâmica (VP) e o potencial varrido a 1 mV s^{-1} entre 0,000 e 1,000 V.

Na construção da curva de calibração do Fc, medidas de voltametria de pulso diferencial (VPD) foram realizadas a 1 mV s^{-1} entre 0,000 e 1,000 V e amplitude de 10 mV,

variando a concentração de Fc ($8,10 \times 10^{-4}$; $1,61 \times 10^{-3}$; $2,42 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Para a construção da curva do ensaio de recuperação do TBHQ foram realizadas medidas de VPD variando o potencial entre 0,000 e 0,600 V em eletrodo de Au e entre 0,000 e 0,400 V em eletrodo de Pt, a 1 mV s^{-1} e amplitude 10 mV, com adições crescentes de TBHQ, na faixa entre 0 e $180 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A Figura 10 mostra a cela eletroquímica utilizada neste estudo, indicando a posição de cada eletrodo e do UME de Au.

Figura 10: Fotografias da cela eletroquímica e dos eletrodos e UME de Au



(A) Cela eletroquímica com 10 mL de MELS; (B) (1) UME de trabalho de Au, (2) eletrodo de quase referência de Pt, (3) contra-eletrodo de Pt; (C) cela eletroquímica dentro da gaiola de Faraday.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

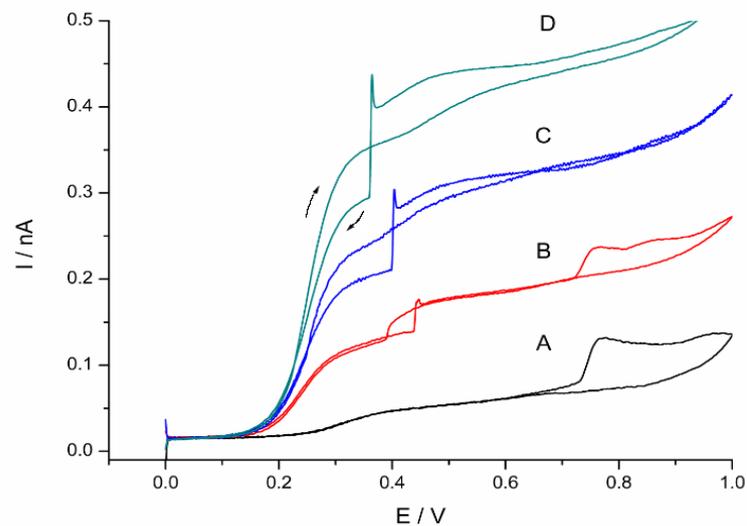
5.1 Voltametria potenciodinâmica do Fc em MELS

Com o objetivo de desenvolver uma metodologia para a determinação de TBHQ em biodiesel, o comportamento eletroquímico do Fc como molécula sonda em MELS do tipo a/o foi investigado por voltametria empregando UMEs de Au e de Pt.

5.1.1 Oxidação de Fc em UME de Au e Pt

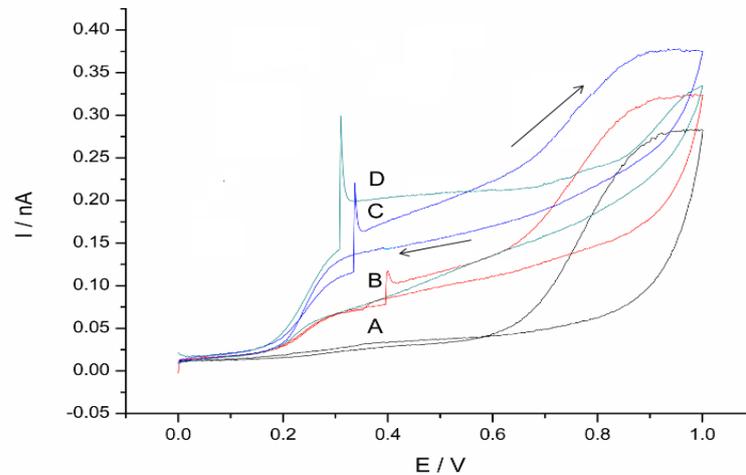
Os voltamogramas das Figuras 11 e 12 foram obtidos para a MELS a/o de biodiesel contendo concentrações crescentes de Fc, em UME de Au e de Pt. O Fc é utilizado como padrão eletroquímico em meios resistivos para estabelecer um potencial de referência com relação ao potencial de oxidação ou redução de espécies presentes.

Figura 11: Voltametria potenciodinâmica (VP) do Fc em MELS, a/o, de biodiesel, em UME de Au.



VP em UME de Au com 10 μm de raio entre 0,000 e 1,000 V: (A) sem adição de Fc, (B) $8,1 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de Fc, (C) $1,61 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de Fc e (D) $2,42 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de Fc. Eletrodo de quase referência e contra eletrodo de Pt. Velocidade de varredura 1 mV s^{-1} .

Figura 12: Voltametria potenciodinâmica (VP) do Fc em MELS a/o de biodiesel, em UME de Pt.



VP em UME de Pt com 10 μm de raio entre 0,000 e 1,000 V:: (A) sem adição de Fc, (B) $8,1 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de Fc, (C) $1,61 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de Fc e (D) $2,42 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de Fc. Eletrodo de referência e contra eletrodo de Pt. Velocidade de varredura 1 mV s^{-1} .

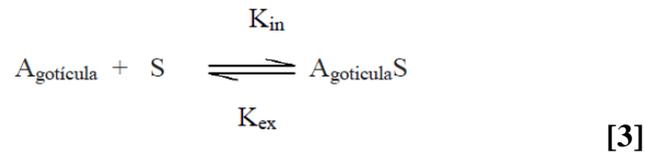
Nas Figuras 11 e 12, é possível observar que com a adição de Fc, uma onda de oxidação bem definida é obtida, cuja corrente aumenta linearmente com a concentração de Fc. Os resultados também mostram que a velocidade da reação é limitada pelo processo de difusão, uma vez que ocorre um patamar onde a variação dessa corrente com o aumento do potencial é pequena.

Em ambos voltamogramas apresentados nas Figuras 11 e 12, observam-se degraus na corrente de oxidação ao atingir o patamar da corrente de difusão. No estudo com UME de Au (Figura 11), o degrau aparece em torno de 425 mV na primeira adição de Fc, em 400 mV na segunda e em 370 mV na terceira. Já as medidas em UME de Pt (Figura 12) apresentam degraus em 400, 350 e 320 mV, na primeira, segunda e terceira adições de Fc, respectivamente. Este comportamento sugere que parte do Fc adicionado está dissolvido nas gotículas de água da ME em concordância com comportamento já reportado na literatura para uma ME a/o de biodiesel contendo SDS e n-pentanol.⁷² Segundo Bond et al⁷⁹ o par redox Fc^+/Fc pode ser utilizado como referência em meio aquoso empregando VPD ainda que uma fraca adsorção sobre o eletrodo de Pt tenha sido observada. Portanto, nesses potenciais, provavelmente o envoltório das gotículas na superfície do eletrodo se rompe, liberando o Fc ou, ainda, o Fc difunde do interior da gotícula para a superfície do eletrodo, onde sofre oxidação.

Em ambos voltamogramas, acima de 0,700 V, ocorre a oxidação de uma espécie não identificada, que apresenta significativa adsorção do produto sobre o eletrodo de platina (Figura 12) evidenciado pela diminuição significativa da corrente na varredura de potencial reversa, o que não acontece com o UME de ouro.

Há ainda um deslocamento dos degraus relativos à oxidação do Fc dissolvido nas gotículas da ME para valores de potencial menos positivos para ambos os eletrodos. Este comportamento indica maior facilidade (menos energia necessária, avaliada pelo menor potencial aplicado), ou de rompimento do envoltório da gotícula, ou da reação de oxidação do Fc.

A taxa com que um substrato entra na gotícula de água, que é avaliada pela constante k_{in} , é controlada por difusão, de acordo com a Equação [3]:⁷⁴



onde A é a água dentro da gotícula e S é o soluto (Fc). Além disso, a taxa de saída do soluto, avaliada pela constante K_{ex} , está relacionada com a sua solubilidade tanto na fase dispersa como na contínua.⁷⁴

Estudos sobre a adesão de lipossomos na superfície de eletrodo de mercúrio por cronoamperometria^{75,76} mostram que a adesão de lipossomos unilamelares à superfície do eletrodo pode ser modelada como um processo em três etapas: o primeiro passo consiste em um equilíbrio de adsorção rápido e lábil de lipossomos intactos, seguindo-se da adsorção irreversível de uma ou mais moléculas de lecitina do lipossomo; o segundo passo consiste na abertura do lipossoma e sua adsorção, e a terceira etapa consiste no espalhamento de uma camada de lecitina e sua adsorção na superfície do mercúrio.

Os lipossomos lamelares são constituídos por uma bicamada de lecitina (fosfatídeo) e um pequeno compartimento aquoso possuindo estrutura semelhante às microemulsões. Além disso, os fosfatídeos são moléculas semelhantes aos sabões e detergentes possuindo uma cabeça constituída pelo grupo fosfato que é polar/hidrofílico e uma cauda formada por ácidos graxos apolares/hidrofóbicos,⁷⁸ semelhantes à estrutura do biodiesel, que tem o papel do surfactante nas MELS investigadas neste trabalho.

5.2 Oxidação do Fc em MELS por Voltametria de Pulso Diferencial

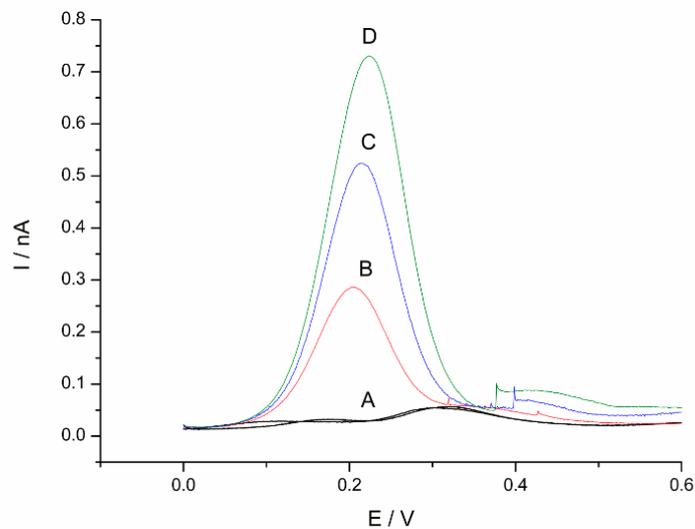
Após os experimentos por voltametria potenciodinâmica, técnica para a qual a literatura disponibiliza grande número de informações, foi empregada a técnica da voltametria de pulso diferencial, a qual apresenta maior sensibilidade, possibilitando a determinação de concentrações mais baixas. Essa técnica é mais sensível do que a voltametria linear porque a razão entre as correntes faradaica e capacitiva é maior.⁴⁸

Neste trabalho, investigou-se a resposta da molécula sonda Fc na nova composição de microemulsão sem adição de surfactantes, com o intuito de comprovar a viabilidade do uso da MELS na determinação de antioxidantes.

5.2.1 Oxidação do Fc por voltametria de pulso diferencial em UME de Au e Pt

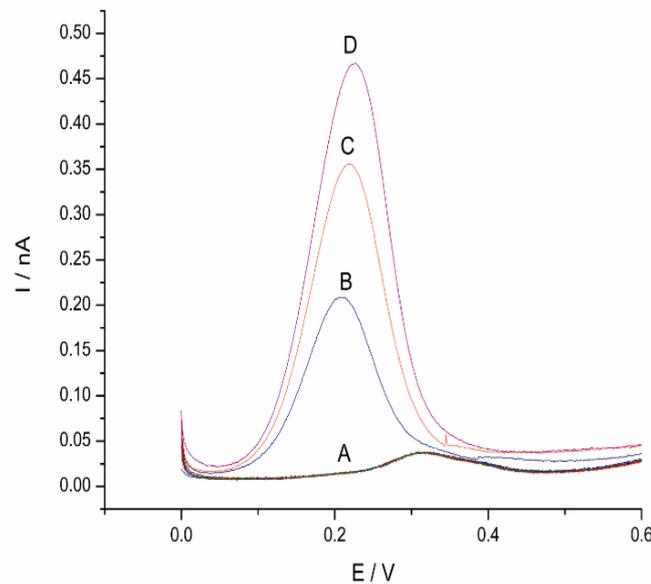
As Figuras 13 e 14 mostram os voltamogramas obtidos para MELS na presença de Fc, em UME de Au e de Pt.

Figura 13: Voltametria de pulso diferencial (VPD) para o Fc em UME de Au.



VPD do Fc em MELS, entre 0,000 e 0,600 V, em UME de Au com 10 μm de raio, a 1 mV s^{-1} , 10 mV de amplitude e largura do pulso de 50 ms: (A) ausência de Fc, (B) $8,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc, (C) $1,61 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc e (D) $2,42 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc. Eletrodo de quase referência e contra eletrodo de Pt.

Figura 14: Voltametria de pulso diferencial (VPD) para o Fc em UME de Pt.



VPD do Fc em MELs, entre 0,000 e 0,600 V, em UME de Pt com 10 μm de raio, a 1 mV s^{-1} , 10 mV de amplitude e largura do pulso de 50 ms: (A) sem adição de Fc, (B) $8,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc, (C) $1,61 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc e (D) $2,42 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fc. Eletrodo de quase referência e contra eletrodo de Pt.

As Figuras 13 e 14 mostram um pico de corrente, i_p , em um potencial E_p em torno de 0,200 V na primeira adição de Fc para o UME de Au (Figura 13) e em torno de 0,220 V para o UME de Pt (Figura 14). Nota-se também que, dobrando a quantidade de Fc adicionado, o pico correspondente também duplica em tamanho, em ambos os estudos. Na terceira adição, o pico resultante é três vezes o tamanho do pico na primeira adição, evidenciando a relação linear entre corrente e concentração.

5.3 Curvas de calibração do Fc em UME de Au e de Pt

A fim de avaliar a utilização da MELs como meio para a análise quantitativa direta de espécies redutoras hidrofóbicas dissolvidas em B100, uma curva de calibração para o Fc foi construída para este meio, utilizando primeiramente UME de ouro e posteriormente, de platina. Nas Figuras 15 e 16 são mostradas as curvas corrente versus concentração de Fc (3 pontos) em cada UME.

Figura 15: Curva de calibração para adição de Fc em UME de Au.

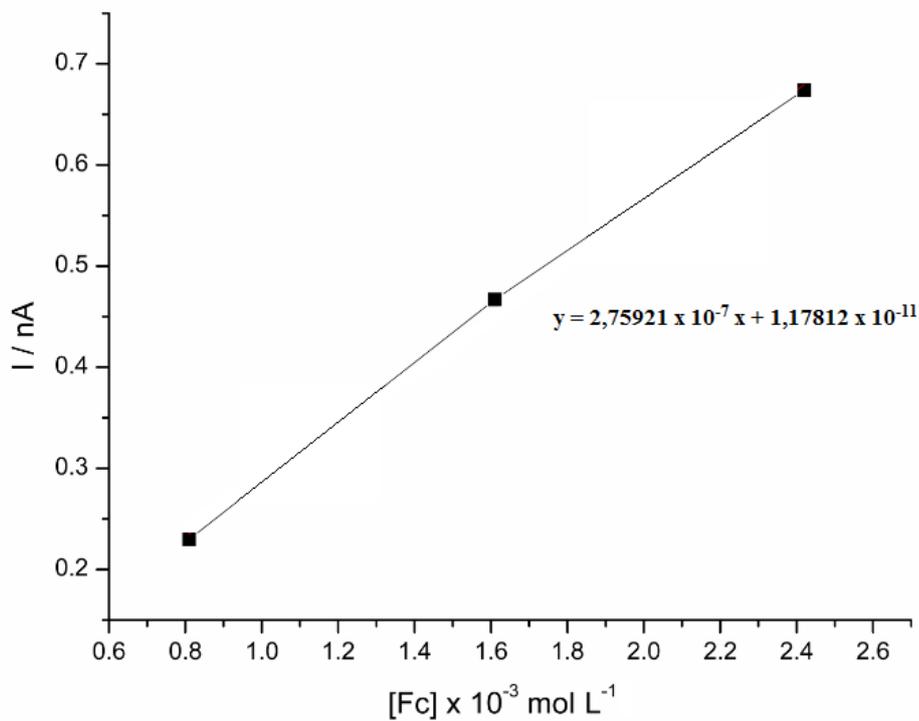
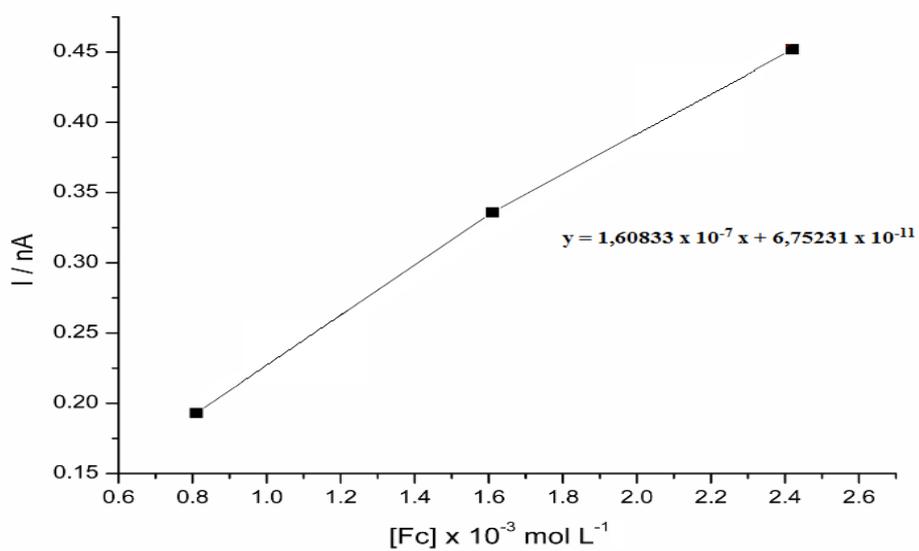


Figura 16: Curva de calibração para adição de Fc em UME de Pt.



A relação linear entre i_p e a concentração de Fc nas medidas com UME de ouro, subtraída a corrente do branco, apresenta um coeficiente de correlação de 0,9964. Já o estudo utilizando UME de platina teve como coeficiente de correlação linear o valor de 0,9919.

5.4 Figuras de mérito

5.4.1 Limites de detecção e quantificação

A definição mais frequentemente utilizada de sensibilidade é a sensibilidade de calibração, ou a variação no sinal de resposta pela variação da unidade de concentração do analito. A sensibilidade da calibração é, portanto, a inclinação da curva de calibração.⁷⁹

O ruído presente nos sinais de resposta precisa ser considerado a fim de que se possa expressar quantitativamente as diferenças passíveis de serem detectadas. Por essa razão, algumas vezes o termo sensibilidade analítica é utilizado. A sensibilidade analítica é a razão entre a inclinação da curva de calibração e o desvio padrão do sinal analítico a uma dada concentração do analito.

O limite de detecção (LD) é a menor concentração com que se pode detectar a presença do analito com uma dada certeza. É definido usualmente como:⁷⁹

$$LD = \frac{3\sigma}{s} \quad [4]$$

onde s (sensibilidade) corresponde ao valor do coeficiente angular da curva de calibração e σ ao desvio padrão de dez leituras do branco.

A menor concentração de analito que pode ser detectada com precisão e exatidão aceitáveis é definida como limite de quantificação (LQ). O LQ é determinado pelo cálculo:

$$LQ = \frac{10\sigma}{s} \quad [5]$$

A Tabela 1 abaixo apresenta os valores das figuras de mérito e da sensibilidade analítica obtidos para cada UME.

Tabela 1: Figuras de mérito para a curva de calibração do Fc na MELs em UMEs de Au e Pt.

UME	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade (*A L mol ⁻¹)	Faixa linear até (mol L ⁻¹)	Sensibilidade Analítica (L mol ⁻¹)	Desvio Padrão
Ouro	6,17	20,50	$2,75 \times 10^{-7}$	0 a $2,42 \times 10^{-3}$	$4,86 \times 10^5$	$\pm 5,67 \times 10^{-13}$
Platina	7,40	24,70	$1,60 \times 10^{-7}$	0 a $2,42 \times 10^{-3}$	$4,05 \times 10^5$	$\pm 3,97 \times 10^{-13}$

*A = Âmpere

Os resultados mostram que os parâmetros de mérito para o UME de ouro são melhores do que os obtidos para a platina.

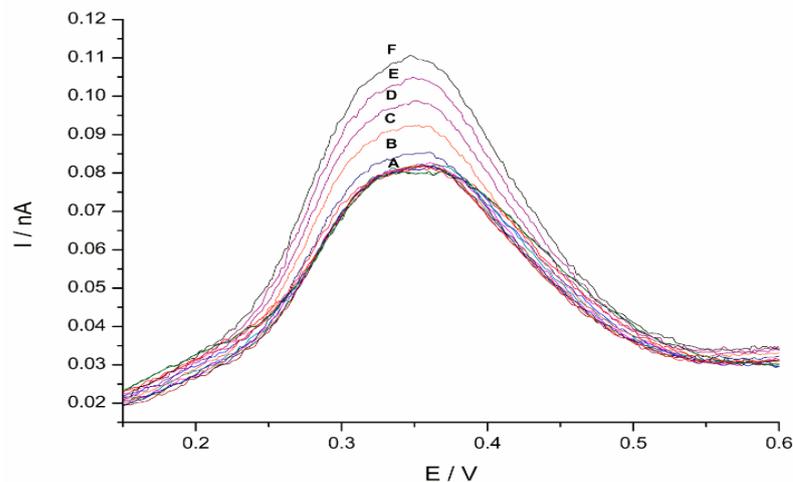
5.5 Determinação de TBHQ em B100

Estes resultados mostram que a MELs pode ser empregada para a determinação de TBHQ em biodiesel. A maior parte do antioxidante é dissolvida na fase contínua oleosa, e uma fração do TBHQ dissolve na água presente no interior das gotículas da microemulsão.

5.5.1 Determinação de antioxidante TBHQ por VPD em UME de Au

Nas Figuras 17 e 18 são mostrados, respectivamente, os voltamogramas obtidos por VPD para UME de Au e a correspondente curva de calibração para a MELs em estudo, sem e com adições crescentes de TBHQ ($2,40 \times 10^{-5}$ a $2,13 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹).

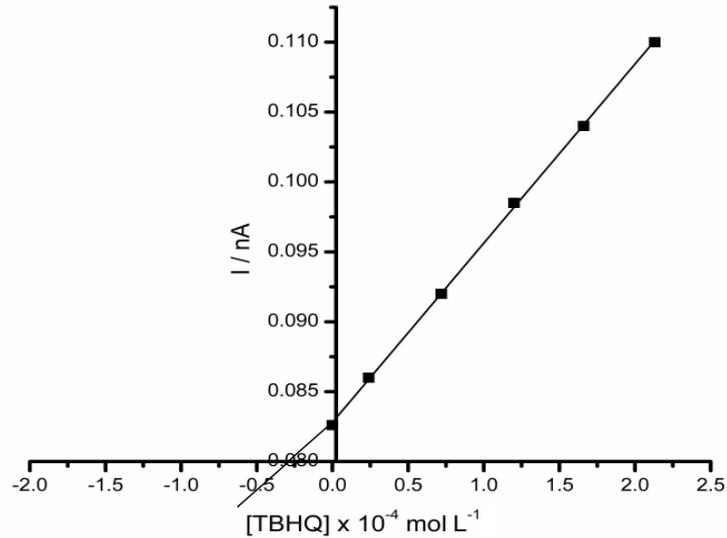
Figura 17: Voltametria de pulso diferencial (VPD) em UME de Au da MELs contendo TBHQ.



Voltametria de pulso diferencial do TBHQ em MELs, entre 0,000 e 0,600 V, em UME de Au com 10 μm de raio, a 1 mV s^{-1} , 10 mV de amplitude e largura do pulso de 50 ms. (A) sem adição de TBHQ,

(B) $2,40 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ, (C) $7,20 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ, (D) $1,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ, (E) $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ, (F) $2,13 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ. Eletrodo de quase referência e contra eletrodo de Pt.

Figura 18: Curva de adição de padrão de TBHQ na MELs em UME de Au.



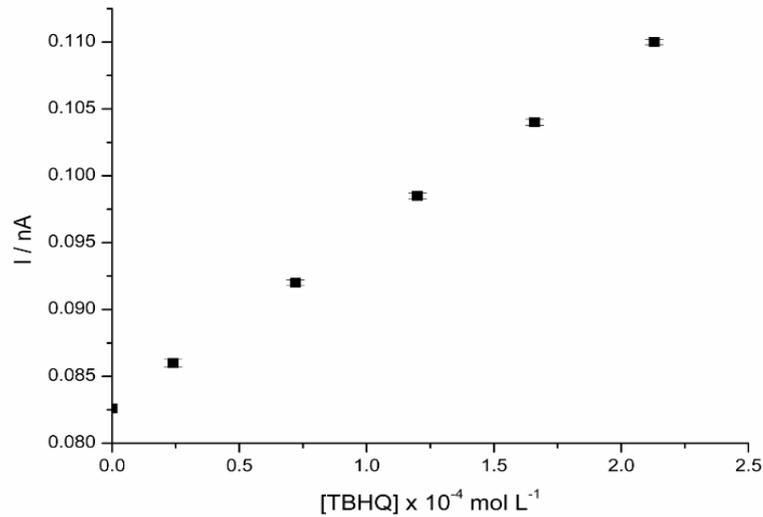
A relação linear entre i_p e a concentração do antioxidante TBHQ apresentada na Figura 18 apresenta um coeficiente de correlação de 0,99961 e limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$, que são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros de mérito para a curva de calibração do TBHQ na MELs em UME de Au.

UME	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade (A L mol^{-1})	Faixa Linear (mol L^{-1})	Sensibilidade Analítica (L mol^{-1})	Desvio Padrão
Ouro	16,67	55,57	$1,28 \times 10^{-7}$	0 a $2,13 \times 10^{-4}$	$1,80 \times 10^5$	$\pm 7,12 \times 10^{-13}$

Na Figura 19, é apresentado o gráfico de dispersão do desvio padrão encontrado no estudo.

Figura 19: Dispersão do desvio padrão no estudo da MELS em UME de Au.

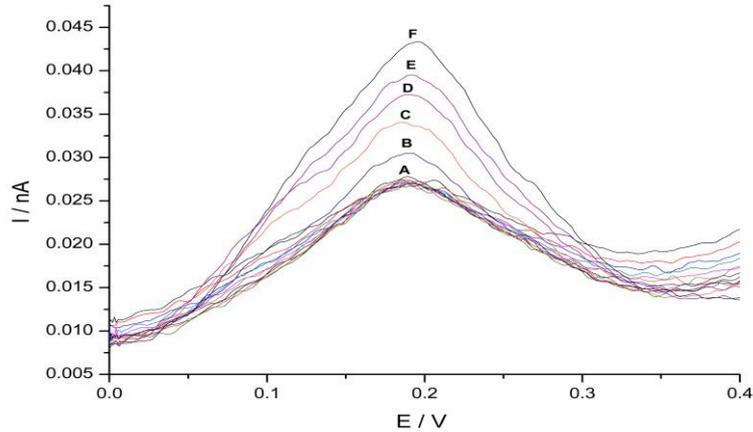


Neste estudo, o UME de Au passou por limpeza com ácido sulfúrico concentrado e sonicação apenas antes do início do experimento, não sendo necessária a limpeza contínua do eletrodo entre cada medida.

5.5.2 Determinação de antioxidante TBHQ por VPD em UME de Pt

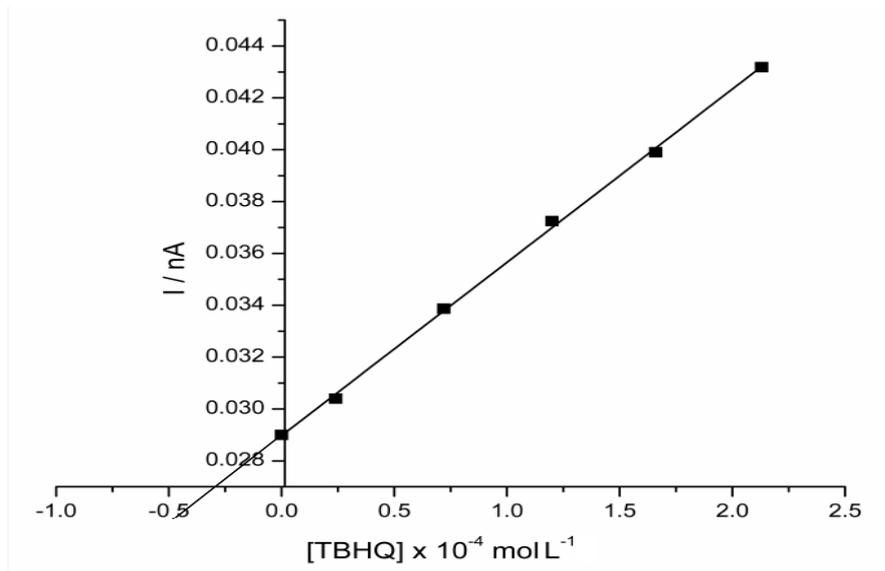
Nas Figuras 20 e 21 são mostrados, respectivamente, os voltamogramas obtidos por VPD para UME de Pt e a correspondente curva de calibração para a MELS em estudo, com e sem adições crescentes de TBHQ ($2,40 \times 10^{-5}$ a $2,13 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). Foram observados estes experimentos um processo de adsorção acentuado sobre o UME de platina. No entanto, um procedimento de limpeza com H_2SO_4 concentrado e sonicação por cinco minutos antes de cada medida permitiu obter resultados semelhantes ao estudo realizado com UME de ouro.

Figura 20: Voltametria de pulso diferencial (VPD) em UME de Pt da MELS contendo TBHQ.



Voltametria de pulso diferencial de TBHQ em MELS, entre 0,000 e 0,600 V, em UME de Pt com 10 μm de raio, a 1 mV s^{-1} , 10 mV de amplitude e largura do pulso de 50 ms. (A) sem adição de TBHQ, (B) $2,40 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ, (C) $7,20 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ, (D) $1,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ, (E) $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ, (F) $2,13 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de TBHQ. Eletrodo de quase referência e contra eletrodo de Pt.

Figura 21: Curva de adição de padrão de TBHQ na MELS em UME de Pt.



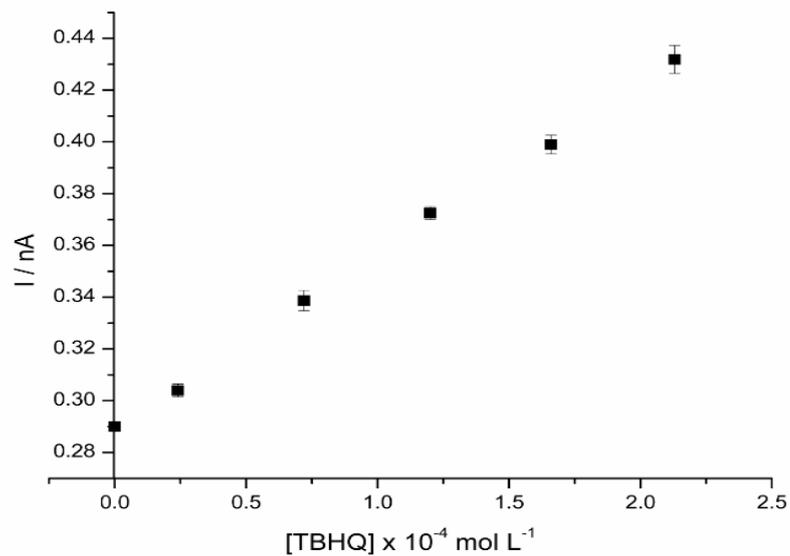
A relação linear entre i_p e a concentração do antioxidante TBHQ apresentada na Figura 21 apresenta um coeficiente de correlação de 0,9989 e limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$, que são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: Parâmetros de mérito para a curva de adição de padrão do TBHQ na MELS em UME de Pt.

UME	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade (A L mol^{-1})	Faixa Linear (mol L^{-1})	Sensibilidade Analítica (L mol^{-1})	Desvio Padrão
Platina	14,16	47,21	$6,68 \times 10^{-8}$	0 a $2,13 \times 10^{-4}$	$2,12 \times 10^5$	$\pm 3,15 \times 10^{-13}$

A Figura 22 mostra o gráfico de dispersão do desvio padrão encontrado para o estudo com o UME de Pt.

Figura 22: Dispersão do desvio padrão no estudo da MELS em UME de Pt.



A Tabela 4 compara os valores das figuras de mérito nos estudos com UME de ouro e de platina.

Tabela 4: Comparação entre os parâmetros de mérito para a curva de calibração do Fc e da adição de padrão de TBHQ na MELS em UMEs de Au e Pt.

UME	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade (L mol^{-1})
Ouro (Fc)	6,17	20,50	$4,86 \times 10^5$
Platina (Fc)	7,40	24,70	$4,05 \times 10^5$
Ouro (TBHQ)	16,67	55,57	$1,80 \times 10^5$
Platina (TBHQ)	14,16	47,21	$2,12 \times 10^5$

As concentrações do antioxidante TBHQ encontradas nos UMEs de Au e Pt são mostradas na Tabela 5. Já na Tabela 6, encontram-se os dados relativos a determinação de TBHQ na amostra de biodiesel da MELS aditivada.

Tabela 5: Concentrações de TBHQ em B100 encontradas empregando eletrodos de Au e Pt.

UME	TBHQ na amostra de B100 (mol L ⁻¹)
Ouro	$6,46 \times 10^{-4} \pm 0,03 \times 10^{-4}$
Platina	$4,33 \times 10^{-4} \pm 0,02 \times 10^{-4}$

Tabela 6: Determinação de TBHQ na amostra de biodiesel aditivada em MELS a/o: eletrodos de Au e Pt.

UME	TBHQ adicionado (mol L ⁻¹)	TBHQ encontrado (mol L ⁻¹)	Porcentagem (%)
Ouro	$2,17 \times 10^{-4}$	$6,46 \times 10^{-4}$	198
Platina	$2,17 \times 10^{-4}$	$4,33 \times 10^{-4}$	99

Os resultados mostram que as figuras de mérito para o Fc e o TBHQ na MELS em estudo apresentam a mesma ordem de grandeza tanto para o UME de ouro quanto o de platina. Pode-se então concluir que o Fc e o TBHQ comportam-se de forma similar na MELS estudada. No entanto, a quantificação do antioxidante TBHQ por VPD apresenta menor sensibilidade em eletrodo de Pt em razão do processo de adsorção observado. No entanto, a concentração encontrada no estudo com o UME de Pt apresentou-se mais próximo do valor esperado.

A concentração de antioxidante determinada na MELS de biodiesel do ensaio de recuperação foi maior do que a esperada (Tabela 6), indicando a presença de um contaminante oriundo do óleo vegetal de origem do biodiesel.

6 CONCLUSÃO

A metodologia eletroanalítica permitiu a quantificação de antioxidantes em biodiesel, empregando técnicas de voltametria em microemulsão livre de surfactante, constituída de biodiesel, água e propanol, e usando o antioxidante TBHQ como padrão e Fc como composto sonda.

Medidas potenciodinâmicas indicaram correntes limite de oxidação da sonda de Fc variando linearmente com a concentração tanto para o eletrodo de Pt como para o de Au. O resultado mostra que uma parte do Fc está dissolvida nas gotículas de água da MELS como evidenciado por uma variação abrupta na corrente de oxidação quando a gotícula de água se rompe na superfície do eletrodo.

A sensibilidade do método empregando o UME de ouro para quantificar o TBHQ é uma ordem de grandeza maior do que a encontrada para o UME de platina. Além disso, uma adsorção pronunciada sobre o eletrodo de Pt dificulta a execução das medidas e torna incertos os resultados.

Por outro lado, a concentração de TBHQ determinada na amostra de biodiesel adicionada com $2,17 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ é maior do que a esperada, tanto para o eletrodo de Au como de Pt, o que indica a presença de um contaminante que oxida no mesmo potencial do TBHQ. Entretanto, o valor da concentração menor quando empregado o UME de Pt evidencia que este UME apresentou resposta mais concordante com o resultado esperado para o sistema investigado.

Finalmente, a técnica de voltametria de pulso diferencial associada à preparação da amostra em microemulsão e ao uso de UMEs de Au e Pt viabiliza a quantificação de antioxidantes em B100 diretamente na amostra, sem pré-tratamento e sem extração por solventes, geralmente tóxicos e muito caros.

A continuidade do trabalho irá investigar a determinação simultânea de mais de um antioxidante presente na amostra bem como possíveis interferentes nesse tipo de matriz. Em um primeiro momento serão analisados antioxidantes naturais, os quais oxidam próximo aos potenciais dos antioxidantes sintéticos em amostras microemulsionadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) GRITZNER, G.; KUTA, J. Recommendations on reporting electrode potentials in nonaqueous solvents. **Electrochimica Acta**, v. 29, n. 6, 9. 869-873, 1984.
- 2) MONYEM, A.; GERPEN, J. H. Van. The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions. **Biom and Bioen**, v. 20, p. 317-325, 2001.
- 3) FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v. 281, p. 19-23, 2005.
- 4) ENCINAR, J. M. et al. Biodiesel fuels from vegetable oils: Transesterification of *Cynara cardunculus* L. oils with ethanol. **Energy Fuels**, v. 16, p. 443-450, 2002.
- 5) NOUREDDINI, H.; HARKEY, D.; MEDIKONDURU, V. A. Continuous process for the conversion of vegetable oils into methyl esters of fatty acids. **Journal of American Oil Chemical Society**, v. 75, n. 12, p. 1775-1783, 1998.
- 6) MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 639-648, 2009.
- 7) MUSHRUCH, G. W. et al. Biodiesel fuels: use of soy oil as a blending stock for middle distillate petroleum fuels. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 39, p. 3945-3948, 2000.
- 8) MEYER, S. A.; MORGENSTERN, M. A. Small scale biodiesel production: a laboratory experience for general chemistry and environmental science students. **Chemical Education**, v. 10, p. 1-3, 2005.
- 9) FARMER, E. H. et al. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances. **Transactions of the Faraday Society**, v. 38, p. 348-356, 1942.
- 10) KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. **Fuel Processing Technology**, v. 88, p. 669-677, 2007.
- 11) RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

- 12) DU PLESSIS, L. M.; VILLIER, J. B. M.; VAN DER WALT, W. H. Stability studies on methyl and ethyl fatty acid esters of sunflowerseed oil. **Journal of American Oil Chemical Society**, v. 62, n. 4, p. 748-752, 1985.
- 13) BONDIOLI, P. et al. Evaluation of biodiesel storage stability using, reference methods. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 104, n. 12, p. 777-784, 2002.
- 14) DUNN, O. R. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). **Fuel Processing Technology**, v. 86, p. 1071-1085, 2005.
- 15) MERRIL, L. et al. Oxidative Stability of Conventional and High-Oleic Vegetable Oils with Added Antioxidants. **Journal of American Oil Chemical Society**, v. 85, p. 771-776, 2008.
- 16) LOH, S. K.; CHEW, S. M.; CHOO, Y. M. Oxidative Stability and Storage Behavior of Fatty Acid Methyl Esters Derived from Used Palm Oil. **Journal of American Oil Chemical Society**, v. 83, n. 11, p. 947-952, 2006.
- 17) BOUAID, A.; MARTINEZ, M.; ARACI, J. Long storage stability of biodiesel from vegetable and frying oils. **Fuel**, v. 86, p. 2596-2602, 2007.
- 18) FRANKEL, E. N.; Lipid oxidations. **Progress in Lipid Research**, v. 19, p. 1-22, 1980.
- 19) Brasil, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Biocombustíveis. Biodiesel. Legislação. Resolução N° 45 de 25 de agosto de 2014 – DOU 26 de agosto de 2014 da ANP. Disponível em: <www.anp.gov.br>. Acesso em: 27 de maio de 2015.
- 20) TURUNEN, M. et al. Determination of trace elements in heavy oil furnace and cold vapour atomic absorption acid digestion. **Analytica Chimica Acta**, v. 311, p. 85-91, 1995.
- 21) WANG, T.; JIA, X.; WU, J. Direct determination of metals in organics by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry in aqueous matrices. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 33, p. 639-646, 2003.
- 22) ZUNIN, P. et al. Direct thermal extraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of volatile compounds of extra-virgin olive oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1023, p. 271-276, 2004.

- 23) LAN, G. et al. Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, p. 1881-1887, 2006.
- 24) GIMENO, E. et al. Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversedphase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 251-254, 2000.
- 25) PERRIN, C.; MEYER, L. Simultaneous determination of ascorbyl palmitate and nine phenolic antioxidants in vegetable oils and edible fats by HPLC. **Journal of American Oil Chemical Society**, v. 80, n. 2, p. 115-118, 2003.
- 26) XIU-LI, X. Q. et al. Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. **Food Chemistry**, v.113, p.692-700, 2009.
- 27) PENG-PENG, H. et al. Determination of tertiary butylhydroquinone in edible vegetable oil by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1732-1737, 2007.
- 28) ADHVARYU, A. et al. Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Thermochimica Acta**, v. 364, p. 87-97, 2000.
- 29) DUNN, R. O. Oxidative stability of biodiesel by dynamic mode pressurized-differential scanning calorimetry (P-DSC). **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, v. 65, n. 5, p. 1633-1641, 2006.
- 30) RODRIGUES, M. G. F. et al. Antioxidative properties of hydrogenated cardanol for cotton biodiesel by PDSC and UV/VIS. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 2, p. 605-609, 2009.
- 31) ABDULLIN, I. F. et al. Determination of fat-soluble antioxidants by galvanostatic coulometry using electrogenerated oxidants. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 57, n. 8, p. 730-732, 2002.
- 32) SZYDLOWSKA-CZERNIAKA, A. et al. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils ferric-ion spectrophotometric methods. **Talanta**, v. 76, p. 899-905, 2008.

- 33) BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**, New York, John Wiley & Sons, 1980.
- 34) SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 20, n. 1, p. 81-89, 2003.
- 35) SOUZA, D. et al. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 790-797, 2004.
- 36) HASSE, E. E. S. Remoção de cobre (II) em eletrodos de platina-polipirrol e carbono vítreo reticulado. 1998. 102 f. (Dissertação – Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- 37) SHU-GUO, L.; WEN-TONG, X.; HUI, Z. Voltametric behavior and determination of tocopherol in vegetable oils at a polypyrrole modified electrode. **Electroanalysis**, v. 18, n. 23, p. 2337-2342, 2006.
- 38) MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants in food using a boron-doped diamond electrode. **Food chemistry**, V. 123, P. 886-891, 2010.
- 39) ARAUJO, T. A. et al. Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples. **Fuel**, v. 90, p. 707-712, 2011.
- 40) ARAUJO, T. A. et al. Voltammetric determination of tert-butylhydroquinone in biodiesel using a carbon paste electrode in the presence of surfactante. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, p. 409-414, 2010.
- 41) TORMIN, T. F. et al. Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection. **Talanta**, v. 85, p. 1274-1278, 2011.
- 42) TORMIN, T. F. et al. Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amperometric detection. **Talanta**, v. 99, p. 527-531, 2012.

- 43) CARAMIT, R. P. et al. A new voltammetric method for the simultaneous determination of the antioxidants TBHQ and BHA in biodiesel using multi-walled carbon nanotube screen printed electrodes. **Fuel**, v. 105, p. 306-313, 2013.
- 44) CORREIA, A. N. et al. Ultramicroeletrodos parte I: revisão teórica e perspectivas. **Química Nova**, v. 18, n. 5, p. 475-48-, 1995.
- 45) SILVA, S. M. et al. Ultramicroeletrodos parte II: construção e aplicações. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 78-84, 1998.
- 46) Y. SAITO, A.; Theoretical study on the diffusion current at the stationary electrodes of circular and narrow band types. **Review of Polarography**, v. 15, n. 6, p. 177-187, 1968.
- 47) BOND, A. M.; OLDHAM, K. B.; ZOSKI, C. G. Steady-state voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 216, p. 177-230, 1989.
- 48) BOND, A. M. **Modern polarographic methods in analytical chemistry**, Dekker, New York, 1980.
- 49) MENDONÇA, C. R. B.; BICA, C. I. D.; PIATNICKI, C. M. S. Water in soybean oil microemulsions as médium for electrochemical measurements. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 4, p. 628-636, 2003.
- 50) MENDONÇA, C. R. B. et al. Physical chemical properties and kinetics of redox processes in water/soybean oil microemulsions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 4, p. 775-781, 2008.
- 51) SHWUGER, M. J.; SCHOMÄCKER, R. Microemulsions in technical processes. **Chemical Reviews**, v. 95, p. 849-864, 1995.
- 52) GULLON, J. S.; MONTIEL, V. R.; CLAVILIER, A. Electrochemical characterisation of platinum/palladium nanoparticles prepared in a water-in-oil microemulsion. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 554-555, p. 273-284, 2003.
- 53) CAO, J. et al. Environmentally friendly ionic liquid-in-water microemulsions for extraction of hydrophilic and lipophilic components from Flos Chrysanthemi. **Analyst**, v. 138, p. 5933-5941, 2013.

- 54) ROMERO, J. S. E. et al. Determination of aniline in vegetable oils by diazotization and coupling in a microemulsion médium. **Analytica Chimica Acta**, v. 235, p. 317-322, 1990.
- 55) MENDONÇA, C. R. B. et al. Role of the co-surfactant nature in soybean w/o microemulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 337, p. 579-585, 2009.
- 56) WANG, J. **Analytical Electrochemistry**, 3ª edição, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2006.
- 57) SUWATCHARA, D. et al. Comparative evaluation of the symmetric and asymmetric Marcus-Husch formalisms of electrode kinetic – The one-electron oxidation of tetraphenylethylene in dichloromethane on platinum microdisk electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 667-680, p. 120, 126, 2012.
- 58) YANG, Z. et al. Microelectrode electrochemistry in microemulsion systems. **Analytical Letters**, v. 39, n. 9, p. 1801-1808, 2006.
- 59) ANTALEK, B.; WILLIAMS, A. J.; TEXTER, J. Self-diffusion near the percolation threshold in reverse microemulsions. **Physical Review B**, v. 54, p. R5913-R5916, 1996.
- 60) MOULIK, S. P.; PAUL, B. K. Structure, dynamics and transport properties of microemulsions Adv. **Colloid Interface Science**, v. 78, p. 99-195, 1998.
- 61) GIANNAKAS, A. et al. Effect of composition on the conductivity of CTAB-butanol-octane-nitrate salts ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 + \text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) microemulsions and on the surface and textural properties of resulting spinels ZnAl_2O_4 . **Applied Surface Science**, v. 252, p. 2159-2170, 2006.
- 62) GRADZIELSKI, M.; HOFFMANN, H. Influence of charges on structure and dynamics of an O/W microemulsion: Effect of admixing ionic surfactants. **Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 10, p. 2613-2623, 1994.
- 63) ALTRIA, K. D. High efficient and selective separations of a wide range of analytes obtained by an optimized microemulsions electrokinetic chromatography method. **Chromatographia**, v. 49, n. 7/8, p. 457-464, 1999.
- 64) ALTRIA, K. D.; MCLEEAN, R. Development and optimisation of a generic micellar electrokinetic capillary chromatography method to support analysis of a wide range of

pharmaceuticals and excipients. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 18, p. 807-813, 1998.

65) VANDAMME, T. F. Microemulsions as ocular drug delivery systems: recent developments and future challenges. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 21, p. 15-34, 2002.

66) LUNDBERG, B. Preparation of drug-carrier emulsions stabilized with phosphatidylcholine-surfactant mixtures. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 83, p. 73-75, 1994.

67) MAGDASSI, S.; SIMAN-TOV, A. Formation and stabilization of perfluorocarbon emulsions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 59 (1), p. 69-72, 1990.

68) KREILGAARD, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, V. 54 (suppl. 1), p. S77-S98, 2002.

69) MOU, D. et al. Hydrogel-thickened nanoemulsion system for topical delivery of lipophilic drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 353, p. 1-2, 270-276, 2008.

70) POLIZELLI, M. A. et al. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 281, p. 1-3, 230-236, 2006.

71) Xu, J. et al. **Journal of Physics Chemistry B**, v. 117, p. 450, 2013.

72) BESIO, G. J.; PRUD'HOMME, R. K.; BENZIGER, J. B. Ellipsometric observation of the adsorption of sodium dodecyl sulfate. **Langmuir**, v. 4, n. 1, p. 140-144, 1988.

73) DA SILVA, Y. P. et al. Biodiesel water in oil microemulsions: ferrocene as a hydrophobic probe for direct analysis by differential pulse voltammetry at a Pt ultramicroelectrode. **Analytical Methods**, v. 6, p. 9212-9219, 2014.

74) BESIO, G. J.; PRUD'HOMME, R. K.; BENZIGER, J. B. Ellipsometric observation of the adsorption of sodium dodecyl sulfate. **Langmuir**, v. 4, n. 1, p. 140-144, 1988.

75) MACKAY, R. A. Electrochemistry in association colloids. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 82, n. 1, p. 1-28, 1994.

- 76) HERNÁNDEZ, V. A.; SCHOLZ, F. Kinetics of the adhesion of DMPC liposomes on a mercury electrode: effect of lamellarity, phase composition, size and curvature of liposomes, and presence of the pore forming peptide mastoparan X. **Langmuir**, v. 22, n. 25, p. 10723-10731, 2006.
- 77) HELLBERG, D. et al. Kinetics of liposome adhesion on a mercury electrode. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 109, p. 14715-14726, 2005.
- 78) SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B.; **Química Orgânica 2**, Rio de Janeiro, Ed. LCT, 2013. p. 498-497.
- 79) SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Cengage Learning, 2006. p. 629.
- 80) BOND, A. M. et al. Assessment of conditions under which the oxidation of ferrocene can be used as a standard voltammetric reference process in aqueous media. **Analytical Chemistry**, v. 59, n. 24, p. 2853-2860, 1987.