

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

CRISTIANO POCHMANN DA SILVA

**ELETRODO MODIFICADO COM SURFACTANTE  
ZWITERIÔNICO PARA DETECÇÃO DE ANTIOXIDANTES**

Florianópolis – SC  
2014

CRISTIANO POCHMANN DA SILVA

**ELETRODO MODIFICADO COM SURFACTANTE  
ZWITERIÔNICO PARA DETECÇÃO DE ANTIOXIDANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Iolanda Cruz Vieira

Florianópolis – SC  
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

da Silva, Cristiano Pochmann  
ELETRODO MODIFICADO COM SURFACTANTE ZWITERIÔNICO PARA  
DETECÇÃO DE ANTIOXIDANTES / Cristiano Pochmann da Silva ;  
orientadora, Iolanda Cruz Vieira - Florianópolis, SC, 2014.  
74 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.  
Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Eletrodo modificado. 3. Surfactante  
Zwiteriônico. 4. Filmes. 5. Antioxidantes. I. Vieira,  
Iolanda Cruz. II. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CRISTIANO POCHMANN DA SILVA

**ELETRODO MODIFICADO COM SURFACTANTE  
ZWITERIÔNICO PARA DETECÇÃO DE ANTIOXIDANTES**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do título de  
**Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da**  
Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 16 de Julho de 2014.



Prof. Dr. Hugo Gallardo  
Coordenador do Programa

**BANCA EXAMINADORA**



Prof.ª Dr.ª Iolanda Cruz Vieira  
Orientadora



Prof. Dr. Bruno Campos  
Janegitz



Prof. Dr. Almir Spinelli



Prof.ª Dr.ª Daniela Brondani

*Aos meus pais,  
Pedro e Sandra.  
Aos meus irmãos,  
Luciano e Pedro Henrique,  
todo o amor que houver nessa vida.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Pedro e Sandra, que são os meus maiores incentivadores nas minhas conquistas;

Aos meus irmãos, Luciano e Pedro, que sempre estarão comigo, mesmo que não fisicamente;

A toda minha família, por todo carinho, ajuda e compreensão;

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Iolanda Cruz Vieira pela orientação, incentivo, dedicação e paciência durante todo o desenvolvimento deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Faruk Nome e a doutoranda Franciane Dutra de Souza pela síntese e caracterização dos surfactantes utilizados neste trabalho realizado em colaboração;

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e a todos os professores do Departamento de Química;

A todos os professores da banca examinadora, por aceitarem fazer parte da mesma;

Aos colegas e ex-colegas do Laboratório de Biossensores (LaBios) – Zapp, Suellen, Daniela, Tânia, Jéssica, Nicolás, Patrícia – e – aos amigos sempre presentes: Priscila, Will, Marcelo, Paulinho, em especial ao Fabiano, pela amizade e importante ajuda sempre que precisei;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro.

## RESUMO

Neste trabalho, a superfície de um eletrodo de carbono vítreo foi modificada com filmes de surfactantes derivados do imidazólio propanosulfonato contendo caudas alquílicas de 10, 12, 14 e 16 carbonos. A resposta do eletrodo foi avaliada para três antioxidantes sintéticos, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) e *terc*-butilhidroquinona (TBHQ) amplamente utilizados na indústria de óleos e gorduras. Estudos revelaram potencial toxicidade destes compostos quando consumidos em grandes quantidades e por isso foram selecionados para este estudo.

Para caracterização do eletrodo modificado foram empregadas técnicas como voltametria cíclica, espectroscopia de impedância eletroquímica e a microscopia de força atômica. Os resultados indicaram que o filme mais eficiente para a realização da modificação do eletrodo foi obtido empregando o surfactante com 14 carbonos, denominado 3-(1-tetradecil-3-imidazólio) propanossulfonato (ImS3-14). Este surfactante aumentou a resposta do eletrodo para os antioxidantes BHA e TBHQ. Por ser empregado isoladamente como antioxidante em óleos vegetais o TBHQ foi selecionado para os estudos de otimização e aplicação do eletrodo.

Como técnica eletroanalítica foi empregada a voltametria de onda quadrada e o teor de TBHQ foi determinado em dois extratos aquosos obtidos a partir de óleos de soja e os valores obtidos comparados com o método UV. As condições experimentais que forneceram maior resposta eletroquímica foram: solução  $5,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de surfactante para formação do filme, solução tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0) como eletrólito suporte, como parâmetros da voltametria de onda quadrada: frequência de 30 Hz, amplitude de 40 mV e incremento de 4 mV. A curva de calibração foi construída sob as condições otimizadas, obtendo-se uma faixa linear de  $8,93 \times 10^{-7}$  a  $7,44 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> para TBHQ com um limite de detecção calculado de  $4,72 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. A repetibilidade entre as medidas (n=4) foi de 5,4% e a repetibilidade entre os eletrodos (n=3) foi de 7,2%. A recuperação foi avaliada e apresentou valores entre 94,3% a 105,7%.

Os valores de TBHQ determinados nos extratos empregando o eletrodo proposto e o método comparativo UV apresentaram pouca diferença, 7,9% e 6,0%, para as amostras A e B. A excelente detectabilidade do eletrodo modificado com ImS3-14, combinada ao bom desempenho na quantificação de TBHQ, demonstra que a

metodologia proposta pode ser uma alternativa complementar aos métodos convencionais de análise.

**Palavras-Chave:** Eletrodo modificado. Filme. Surfactante zwitteriônico. Antioxidante.

## ABSTRACT

In this study, the surface of a glassy carbon electrode was modified with films from surfactants derived of imidazolium propanesulfonate containing alkyl tails with 10, 12, 14 and 16 carbons. The response of the electrode was evaluated for three synthetic antioxidant, butyl hydroxy anisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) and tert-butylhydroquinone (TBHQ), widely used in the oils and fats industry. Studies have shown the potential toxicity of these compounds when consumed in large quantities and so were selected for this study.

For the characterization of the modified electrode different techniques were employed as cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy and atomic force microscopy. The results indicated that the most efficient surfactant film for electrode modification was obtained using the surfactant with 14 carbon atoms, named 3- (1-tetradecyl-3-imidazolium) propane (ImS3-14). This surfactant increased the electrode response to the BHA and TBHQ antioxidants. Because it employed separately as an antioxidant in vegetable oils TBHQ was selected for optimization studies and application of the electrode.

As electroanalytical technique was used the square wave voltammetry and TBHQ content was determined in two aqueous extracts obtained from soybean oil and the values obtained compared with the UV method. The experimental conditions were provided a higher electrochemical response:  $5.0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> surfactant solution concentration for film formation, acetate buffer (0.1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5.0) as supporting electrolyte, as square wave voltammetry parameters: frequency 30 Hz, amplitude of 40 mV and 4 mV of step potential. The calibration curve was constructed under the optimized conditions, yielding a linear range of  $8.93 \times 10^{-7}$  to  $7.44 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> for TBHQ with a limit of detection calculated  $4.72 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. The repeatability of the measurements ( $n = 4$ ) was 5.4% and repeatability between the electrodes ( $n = 3$ ) was 7.2%. Recovery was evaluated and varied from 94.3% to 105.7%.

TBHQ values determined in the extracts using the proposed electrode and the UV comparative method showed little difference, 7.9% and 6.0% for samples A and B. The excellent detectability of the electrode modified with ImS3-14, combined with good performance in the TBHQ quantization shows that the proposed method can be a complementary alternative to conventional methods of analysis.

**Keywords:** Modified electrode. Film. Zwitterionic surfactant. Antioxidant.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> (A) Representação de uma micela normal e (B) uma micela reversa de um surfactante catiônico.....	17
<b>Figura 2.</b> Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos empregados em alimentos.....	19
<b>Figura 3.</b> Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.....	20
<b>Figura 4.</b> Estrutura dos surfactantes sulfonato imidazólicos avaliados, com diferentes caudas.....	25
<b>Figura 5.</b> Voltamogramas cíclicos e correntes de pico obtidos utilizando o GCE não modificado e o ImS3-14/GCE para $1,45 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> de (A) BHA, (B) BHT e (C) TBHQ em solução tampão acetato (0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 5,0).....	29
<b>Figura 6.</b> Efeito da velocidade de varredura no CME em solução de KCl (0,1 mol L <sup>-1</sup> ) contendo ferricianeto de potássio (K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]) e ferrocianeto de potássio (K <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]) (1,0x10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> ).....	31
<b>Figura 7.</b> Voltamogramas cíclicos e corrente de pico em função do pH da solução em diferentes soluções de eletrólito suporte para (A) BHA, (B) BHT e (C) TBHQ utilizando o eletrodo ImS3-14/GCE.....	33
<b>Figura 8.</b> Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando uma solução de TBHQ $1,45 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> em solução tampão acetato (0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 5,0) empregando eletrodos modificados com surfactantes com diferentes caudas alquílicas e respectivas correntes de pico obtidas.....	35
<b>Figura 9.</b> Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodos modificados com diferentes concentrações de ImS3-14 para uma solução $1,45 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> de TBHQ em solução tampão acetato (0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 5,0) e correntes de pico obtidas a partir dos voltamogramas.....	36
<b>Figura 10.</b> Imagem 2D de AFM de (A) GCP; (B) ImS3-14/GCP; (C) Imagem 3D da superfície do GCP e (D) Imagem 3D do ImS3-14/GCP.....	37

<b>Figura 11.</b> Espectros de impedância eletroquímica para os diferentes eletrodos GCE não modificado e ImS3-14/GCE, obtidos em solução de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> contendo [Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>3+/4+</sup> (1,0x10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> ), em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,1 Hz e amplitude de 10 mV, usando potencial de circuito aberto.....	38
<b>Figura 12.</b> Resposta do eletrodo modificado empregando diferentes técnicas eletroanalíticas para uma solução 2,62x10 <sup>-6</sup> mol L <sup>-1</sup> de TBHQ em solução de tampão acetato (0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 5,0) e as correntes de pico obtidas a partir dos voltamogramas.....	39
<b>Figura 13.</b> (A) Efeito da frequência, (B) amplitude de pulso e (C) incremento de potencial sobre a corrente de pico obtida na SWV para 1,0x10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> de TBHQ em solução de tampão acetato (0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 5,0).....	41
<b>Figura 14.</b> Esquema ilustrativo da reação de oxidação e redução do TBHQ na superfície do eletrodo ImS3-14/GCE.....	45
<b>Figura 15.</b> Voltamogramas de onda quadrada obtidos usando o eletrodo ImS3-14/GCE para: (A) solução tampão acetato (0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 5,0); (B) 8,93x10 <sup>-7</sup> ; (C) 1,77x10 <sup>-6</sup> ; (D) 2,62x10 <sup>-6</sup> ; (E) 3,46x10 <sup>-6</sup> ; (F) 4,29x10 <sup>-6</sup> ; (G) 5,10x10 <sup>-6</sup> ; (H) 5,91x10 <sup>-6</sup> ; (I) 6,68x10 <sup>-6</sup> ; (J) 7,44x10 <sup>-6</sup> mol L <sup>-1</sup> de TBHQ, com 30 Hz de frequência, 40 mV de amplitude e 4 mV de incremento. Inserido: a correspondente curva analítica obtida.....	44

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Classificação dos surfactantes.....	16
<b>Tabela 2.</b> Variáveis investigadas e valores selecionados para construção e otimização do eletrodo ImS3-14/GCE.....	42
<b>Tabela 3.</b> Estudo de recuperação de TBHQ em amostras de extrato de óleo de soja, usando o eletrodo ImS3-14/GCE.....	46
<b>Tabela 4.</b> Determinação de TBHQ nos extratos de óleo de soja, utilizando o método comparativo e o método proposto.....	47
<b>Tabela 5.</b> Eletrodos modificados para determinação de TBHQ.....	47

## LISTA DE ACRÔNIMOS E ABREVIATURAS

- Ag/AgCl** – Eletrodo de referência de prata/cloreto de prata
- AFM** – Microscopia de Força Atômica (*Atomic Force Microscopy*)
- BHA** – Butilhidroxianisol
- BHT** – Butilhidroxitolueno
- CTABr** - Brometo de cetiltrimetilamônio (*Cetyltrimethylammonium bromide*)
- CMC** – Concentração micelar crítica
- CV** – Voltametria cíclica (*Cyclic voltammetry*)
- DNA** – Ácido Desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid*)
- EIS** – Espectroscopia de impedância eletroquímica (*Electrochemical impedance spectroscopy*)
- E<sub>pa</sub>** – Potencial de pico anódico
- E<sub>pc</sub>** – Potencial de pico catódico
- GCE** – Eletrodo de carbono vítreo (*Glassy carbon electrode*)
- GC** – Cromatografia a Gás (*Gas chromatography*)
- HPLC** – Cromatografia líquida de alta performance (*High performance liquid chromatography*)
- ImS3-14** – 3-(1-tetradecil-3-imidazólio)propanossulfonato
- i<sub>pa</sub>** – Corrente de pico anódico
- i<sub>pc</sub>** – Corrente de pico catódico
- IUPAC** – União internacional de química pura e aplicada (*International union of pure and applied chemistry*)
- CME** – Eletrodo quimicamente modificado (*chemically modified electrode* – CME)
- ImS3-14/GCE** – Eletrodo de carbono vítreo modificado com surfactante ImS3-14
- RSD** – Desvio padrão relativo (*Relative standard deviation*)
- SB3-14** – Sulfobetaína
- SDS** – Dodecil sulfato de sódio (*Sodium dodecyl sulfate*)
- SWV** – Voltametria de onda quadrada (*Square wave voltammetry*)
- TBHQ** – Terc-butilhidroquinona
- UV** – Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1. Eletrodo Quimicamente Modificado (CME).....</b>	<b>13</b>
<b>1.2. SURFACTANTES.....</b>	<b>15</b>
<b>1.2.1. Micela normal e reversa.....</b>	<b>16</b>
<b>1.2.2. Surfactantes zwitteriônicos sulfonato imidazólico.....</b>	<b>18</b>
<b>1.3. ANTIOXIDANTES EM ALIMENTOS.....</b>	<b>18</b>
<b>1.3.1. Deterioração de Óleos.....</b>	<b>19</b>
<b>1.3.2. Determinação de antioxidantes em óleos comestíveis.....</b>	<b>21</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
<b>2.1. OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>23</b>
<b>2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>23</b>
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1. INSTRUMENTAÇÃO.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2. REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3. MODIFICAÇÃO DO ELETRODO.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4. MEDIDAS ELETROQUÍMICAS.....</b>	<b>26</b>
<b>3.5. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E DETERMINAÇÃO DE TBHQ.....</b>	<b>26</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1. CONTRIBUIÇÃO DO FILME DE SURFACTANTE.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2. EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA E MECANISMO ELETROQUÍMICO.....</b>	<b>30</b>
<b>4.3. ESTUDO DO ELETRÓLITO DE SUPORTE E pH DA SOLUÇÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>4.4. TAMANHO DA CADEIA ALQUÍLICA.....</b>	<b>34</b>
<b>4.5. CONCENTRAÇÃO DE SURFACTANTE.....</b>	<b>35</b>
<b>4.6. CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DO ELETRODO.....</b>	<b>36</b>
<b>4.6.1. Microscopia de Força Atômica (AFM).....</b>	<b>36</b>
<b>4.6.2. Caracterização por EIS.....</b>	<b>37</b>
<b>4.7. SELEÇÃO DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA.....</b>	<b>39</b>
<b>4.8. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA SWV.....</b>	<b>40</b>
<b>4.9. CURVA DE CALIBRAÇÃO.....</b>	<b>42</b>

<b>4.10. REPETIBILIDADE DO ELETRODO E REPETIBILIDADE DA MEDIDA.....</b>	<b>44</b>
<b>4.11. ESTUDO DE INTERFERENTES.....</b>	<b>45</b>
<b>4.12. RECUPERAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE TBHQ.....</b>	<b>45</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Eletrodo Quimicamente Modificado (CME)

Eletrodos são dispositivos capazes de fornecer informações sobre a natureza química ou física de um sistema, convertendo esta informação em um sinal elétrico (TREVISAN e POPPI, 2006). Para o funcionamento de um eletrodo precisamos de uma superfície receptora que é sensível a determinada característica do sistema, de um transdutor para converter a informação obtida em um sinal elétrico e um amplificador de sinal (MELLO e KUBOTA, 2002). Estes dispositivos podem avaliar propriedades físicas, como temperatura, índice de refração, viscosidade, entre outros, ou reconhecer constituintes químicos sendo capazes de determinar a concentração de uma substância de interesse (TREVISAN e POPPI, 2006).

Os eletrodos que operam a partir de medidas eletroquímicas, avaliam como grandeza de medida valores de corrente elétrica, potencial e condutividade. Nestes dispositivos ocorre a interação da superfície do eletrodo com uma substância de interesse, geralmente em solução, e esta interação é convertida em um sinal mensurável (MELO, 2008). Dependendo da aplicação desejada podemos utilizar diferentes materiais para construção de eletrodos, tais como, platina (LUPU *et al.*, 2009), ouro (ZHOU *et al.*, 1996), cobre (FENG *et al.*, 2009), níquel (ASGARI *et al.*, 2012), irídio (LANG *et al.*, 2000), ródio (SAMPATH e LEV, 1998), paládio (CHI e DONG, 1993), carbono (WANG *et al.*, 2002), carbono vítreo (MUSAMEH, 2002), grafite (SILVA *et al.*, 2013), grafeno (DU *et al.*, 2011), etc. O eletrodo de carbono vítreo (*glassy carbon electrode* – GCE) é um dos eletrodos mais utilizados devido a sua boa condutividade elétrica, estabilidade térmica e robustez (DING *et al.*, 2008).

A denominação de eletrodo quimicamente modificado (*chemically modified electrode* – CME) foi sugerida por Murray e colaboradores (MURRAY *et al.* 1975), na década de 70 para eletrodos que possuem espécies químicas devidamente imobilizadas sobre a superfície capazes de aumentar as respostas destes dispositivos analíticos. Neste trabalho, a resposta eletroquímica obtida pelo eletrodo foi aumentada pela modificação da superfície de um eletrodo de SnO<sub>2</sub> com amina, piridina e etilenodiamina.

Os estudos desenvolvidos por Adams e colaboradores (ADAMS, 1976) foram muito importantes para a compreensão de eletrodos à base de carbono, demonstrando a facilidade de alterar a superfície deste tipo

de dispositivo. Neste trabalho foi realizada a modificação de um eletrodo de pasta de carbono contendo glioxima, que foi empregado em determinações de níquel II. Foi observado que a adição do modificador contribuiu para elevar a sensibilidade do eletrodo.

Um CME, segundo a IUPAC (DURST *et al.*, 1997), é definido como sendo um eletrodo feito de um material condutor ou semicondutor que é recoberto com um filme monomolecular, multimolecular, iônico ou polimérico de um modificador químico, que por meio de transferências de carga (reações faradaicas), apresenta propriedades químicas e/ou eletroquímicas. Estes modificadores são adicionados para pré-estabelecer e controlar as características da interface eletrodo-solução, aumentando a detectabilidade e seletividade dos eletrodos. (MURRAY *et al.*, 1975; PEREIRA *et al.*, 2002; QUINTANA *et al.*, 2013).

A adição de modificadores aos eletrodos permite a obtenção de dispositivos para diferentes fins e aplicações, tais como o controle qualitativo e quantitativo de poluentes em amostras de interesse ambiental (PERSSON *et al.*, 1990; KATZ *et al.*, 1994; PEREIRA *et al.*, 2002; BRONDANI *et al.*, 2013), na detecção de patologias humanas como infarto cardíaco (ZAPP *et al.*, 2014; MOREIRA *et al.*, 2014) e dengue (SILVA *et al.*, 2014), e também, podem ser utilizados na indústria de alimentos possibilitando o controle do teor de compostos fenólicos (PUSCH *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2013).

Diversos materiais podem ser utilizados para modificar um eletrodo dependendo da natureza do material eletrodico e da modificação desejada, tais como enzimas, nanomateriais, líquidos iônicos, zeólitas, DNA, surfactantes. De modo geral, o que ocorre é um aumento na resposta do eletrodo que é medida pelo transdutor, a corrente de pico obtida pelo aparelho é proporcional à concentração de analito na solução (FATIBELLO-FILHO e CAPELATO, 1992).

Os materiais utilizados na modificação de eletrodos podem ser adicionados à superfície do dispositivo através de diversas técnicas, como: adsorção física, formação de monocamadas auto-organizadas, eletropolimerização, reações químicas, recobrimento com membranas poliméricas, formação de compósitos, entre outros (FERNANDES, 2012).

Um dos procedimentos mais utilizados para modificação de eletrodos consiste na formação de filmes sobre a superfície ativa (PERSSON *et al.*, 1993; PEREIRA *et al.*, 2002). Compostos que possuem características “permeseletivas”, como a ciclodextrina (YAO *et al.*, 2014), quitosana (YANG *et al.*, 2014) e o Nafion® (IZQUIERDO-

GIL, *et al.* 2012) podem ser empregados na modificação superficial de eletrodos, contribuindo para a seletividade do CME.

Materiais que aceleram a cinética dos processos de transferência de elétrons, como a polianilina e o polipirrol, quando utilizados para modificação de eletrodos, aumentam a resposta obtida (CRESPILHO *et al.*, 2006; ZOU *et al.*, 2014). Zou e colaboradores (2014) empregaram filmes de polianilina contendo DNA para modificar a superfície de um GCE, conferindo grande especificidade ao eletrodo desenvolvido. Líquidos iônicos também podem ser utilizados na modificação de eletrodos contribuindo para a detectabilidade, auxiliando nas cinéticas de transferência de carga. Saadati e colaboradores (2014) utilizaram hemoglobina e líquido iônico para modificar um GCE obtendo um CME seletivo e sensível empregado para determinação de nitrito.

Nanomateriais vem sendo bastante empregados na modificação de eletrodos, principalmente por suas capacidades catalíticas bem como sua alta razão área superficial/volume, fatores sinérgicos que aumentam as respostas de analíticas. Nanopartículas de ouro estabilizadas em quitosana foram empregadas por Xu e colaboradores (2007) para modificar um GCE. A utilização das nanopartículas aumentou a detectabilidade do CME, que foi aplicado na determinação de glicose. Rastgar e colaboradores (2014) utilizaram um filme modificador de grafeno e nanopartículas metálicas de níquel sobre um GCE para aumentar a resposta eletroanalítica obtida pelo eletrodo na determinação de antibióticos.

Filmes de surfactantes foram empregados na modificação de eletrodos, aumentando a detectabilidade destes dispositivos. Vittal e colaboradores (2006), comprovaram este fato empregando o brometo de cetiltrimetilamônio (CTABr) sobre um GCE para a quantificação de dopamina. Fernandes e colaboradores (2012) e Zapp e colaboradores (2013) utilizaram filmes de surfactante para modificar eletrodos de ouro e GCE, respectivamente, empregados na detecção de catecol e hidroquinona. As respostas de corrente obtidas comprovam a capacidade dos surfactantes de aumentar a sensibilidade dos eletrodos através de processos adsorptivos entre o analito e a superfície modificada com o surfactante.

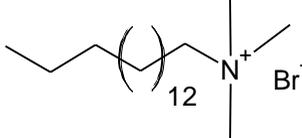
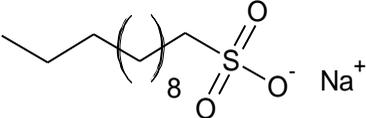
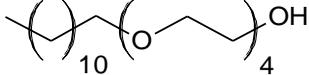
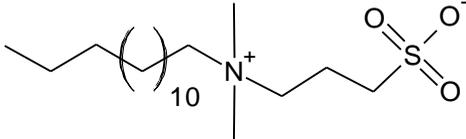
## 1.2. SURFACTANTES

Surfactantes são compostos que apresentam duas regiões de polaridades distintas, em uma das extremidades da estrutura há uma parte polar hidrofílica (cabeça) e na outra extremidade uma parte

hidrofóbica (cauda), geralmente uma cadeia de hidrocarbonetos (XU *et al.*, 2009). Consequentemente, eles podem interagir com interfaces polares e apolares, alterando as suas propriedades superficiais. A classificação dos surfactantes é feita levando-se em consideração a existência e a natureza dos grupos carregados em sua estrutura, sendo classificados em quatro categorias, conforme mostra a Tabela 1 (SHRESTHA *et al.*, 2007; TONDO *et al.*, 2010; FERNANDES, 2012).

O surfactante catiônico possui carga positiva em sua estrutura, o surfactante aniônico apresenta carga negativa, os denominados não iônicos não apresentam cargas em sua estrutura e os zwitteriônicos possuem cargas negativas e positivas na mesma molécula.

**Tabela 1.** Classificação dos surfactantes

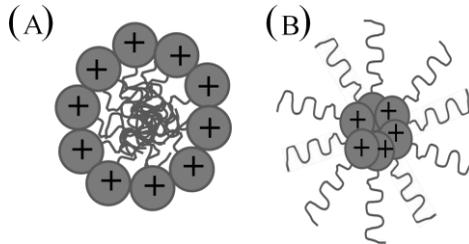
Classificação	Exemplo
Catiônico	 Brometo de cetiltrimetilamônio (CTABr)
Aniônico	 Dodecilsulfato de sódio (SDS)
Não Iônico	 Éter dodecil-(4)-polioxietilênico
Zwitteriônico	 3-dimetil(tetradecil)amonio-1-propanesulfonate (SB3-14)

### 1.2.1. Micela normal e reversa

Uma das características comum a todos os surfactantes é a capacidade de associar-se espontaneamente em solução gerando

agregados (micelas). A concentração mínima de surfactante para o início do processo de formação das micelas é chamada de concentração micelar crítica (CMC) (TANFORD, 1974; MANIASSO, 2001). Esses agregados quando em meio aquoso são chamados de micelas normais (Figura 1A), onde as moléculas de surfactante orientam-se de forma que a cauda apolar hidrofóbica está no interior da micela e a cabeça polar em contato com a água. A formação de micelas também ocorre em solventes apolares, porém as caudas ficam voltadas para fora e as cabeças polares voltadas para o interior. Estes agregados formados em solventes orgânicos apolares são chamados de micelas reversas (Figura 1B) (ARKIN e SINGLETERRY, 1948).

**Figura 1.** (A) Representação de uma micela normal e (B) uma micela reversa de um surfactante catiônico.



A utilização do sistema de micelas reversas permite uma melhor aderência do filme de surfactante a superfícies apolares, sendo muito promissor na modificação de eletrodos sólidos, como é o caso do GCE, formando filmes estáveis que aumentam a sensibilidade do eletrodo (ZAPP *et al.*, 2013).

Devido à capacidade de alterar as propriedades da interface eletrodo-solução, diversos surfactantes têm sido utilizados em metodologias eletroanalíticas, podendo ser empregados junto ao eletrólito suporte e/ou na modificação da superfície do eletrodo (CAO *et al.*, 2008; MAHMUD *et al.*, 2011). Os surfactantes têm a capacidade de interagir com os analitos facilitando a adsorção desses compostos, o que aumenta a concentração desses sobre a superfície do eletrodo (XU *et al.*, 2009; RAJBONGSHI *et al.*, 2010).

Vários surfactantes tais como o SDS (FAN *et al.*, 2000), brometo de didodecildimetilamônio (CHEM *et al.*, 2004) e brometo de dimetildiocetadecilamônio (LIU *et al.*, 2005), foram utilizados para modificar a superfície de eletrodos.

### 1.2.2. Surfactantes zwitteriônicos sulfonato imidazólicos

Os surfactantes zwitteriônicos sulfonato imidazólicos, sintetizados e caracterizados por Tondo e colaboradores (TONDO *et al.*, 2010) e por Souza e colaboradores (Souza *et al.*, 2012), apresentam capacidade de organização nas estruturas micelares. Essas moléculas possuem um anel imidazólico rígido e um grupo sulfonato. A interação eletrostática entre eles contribui para a formação de uma estrutura rígida capaz de se organizar. Estes surfactantes foram utilizados com sucesso na construção de biossensores e sensores para detecção de compostos fenólicos (FERNANDES *et al.*, 2012; ZAPP *et al.*, 2013).

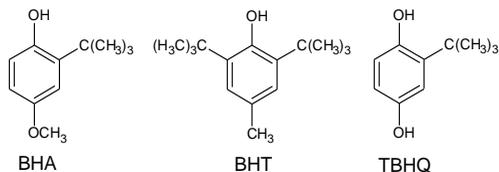
O aumento da sensibilidade do eletrodo é atribuído à capacidade adsorptiva dos surfactantes. Além disso, diversos trabalhos já demonstraram a eficiência dos compostos imidazólicos em aumentar a cinética dos processos de transferência de carga, processos que aumentam as respostas de corrente obtidas (IVASKA e WEI, 2008; FERNANDES *et al.*, 2009; FRANZOI *et al.*, 2011; FEI *et al.*, 2011; FRANZOI *et al.*, 2011).

### 1.3. ANTIOXIDANTES EM ALIMENTOS

Antioxidantes são substâncias adicionadas a um produto para prevenir ou retardar a deterioração oxidativa (HUANG *et al.*, 2005). Estes podem ser classificados como sendo antioxidantes sintéticos ou naturais (substâncias bioativas, tais como ácido cítrico e ácido ascórbico, que possuem naturalmente atividade antioxidante) (MELO e GUERRA, 2002).

Os principais antioxidantes sintéticos pertencentes à classe dos fenóis e mais utilizados na indústria de alimentos ricos em lipídeos são: o BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno) e o TBHQ (terc-butilhidroquinona) (Figura 2). No Brasil, as legislações vigentes (BRASIL, 1998) permitem a adição de antioxidantes em óleos com um limite máximo de 100 mg kg<sup>-1</sup> de BHT e 200 mg kg<sup>-1</sup> para BHA e TBHQ. Estes antioxidantes sintéticos apresentam um potencial tóxico e cancerígeno, portanto, seu uso é proibido em alimentos no Japão, Canadá e países europeus (RIBEIRO *et al.*, 2001, MATTEA *et al.*, 2004).

**Figura 2.** Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos empregados em alimentos.



O BHA e o BHT são antioxidantes mais utilizados como aditivos em gorduras animais do que em óleos vegetais, apresentando pouca estabilidade frente a temperaturas elevadas e por isso uso limitado. O TBHQ é considerado o melhor antioxidante para óleos empregados em frituras, pois resiste ao calor, conferindo uma excelente estabilidade para os produtos acabados (RAMALHO e JORGE, 2006).

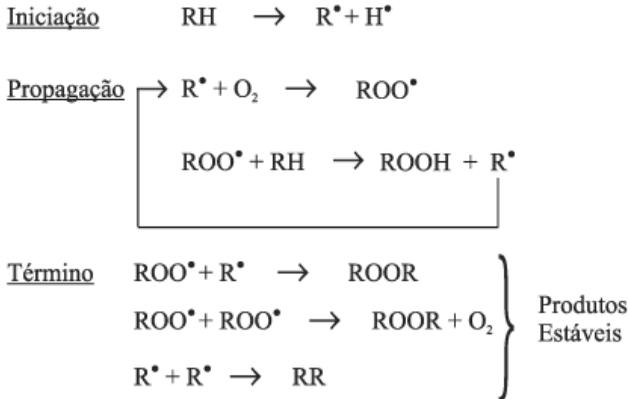
### 1.3.1. Deterioração de óleos

A deterioração de óleos é conhecida como rancidez (QUINTEIRO e VIANNI, 1995) e pode ser classificada como hidrolítica ou oxidativa. A rancidez hidrolítica resulta da hidrólise da molécula de triglicerídeo do óleo, com a formação de glicerol e ácidos graxos livres. Esta reação é promovida por umidade e catalisada por lipases (enzimas naturalmente presentes nas oleaginosas ou de origem microbiana) que acabam sendo extraídas junto com o óleo (ALVEZ, 2004).

A oxidação ou rancidez oxidativa envolve o ataque do oxigênio atmosférico, ou dissolvido no produto, aos ácidos graxos presentes nos óleos e gorduras, sendo favorecida pela elevação da temperatura, incidência de luz e grande concentração de triglicerídeos insaturados (ALVEZ, 2004; RAMALHO e JORGE, 2006). O esquema de auto-oxidação é resumidamente apresentado na Figura 3, e pode ser dividido em três etapas: (I) no início ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo em condições favorecidas por luz e calor; (II) Os radicais livres formados são suscetíveis ao ataque do oxigênio atmosférico e são convertidos em outros radicais, formando-se os produtos primários de oxidação, peróxidos e hidroperóxidos. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico; (III) a reação termina quando dois radicais acabam combinando-se, formando produtos estáveis, produtos secundários de

oxidação, obtidos pelo rearranjo dos peróxidos (RAMALHO e JORGE, 2006).

**Figura 3.** Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.



onde: RH - Ácido graxo insaturado;  $\text{R}^{\bullet}$  - Radical livre;  
 $\text{ROO}^{\bullet}$  - Radical peróxido e ROOH - Hidroperóxido

FONTE: RAMALHO e JORGE, 2006.

Para evitar a degradação de óleos e gorduras, é necessário suprimir todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo a temperatura e a luz, evitando a presença de metais no óleo e diminuindo o contato com oxigênio. Além destas medidas, geralmente são adicionadas aos alimentos industrializados pequenas quantidades de antioxidantes que bloqueiam a degradação, inibindo a propagação da reação de degradação. Compostos como o BHA, BHT e o TBHQ são ótimos antioxidantes, pois sua estrutura fenólica permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando o ácido graxo e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres. Como são utilizados em diversos alimentos, sua concentração deve ser monitorada, evitando adições excessivas e, conseqüentemente, danos à saúde humana (MATTEA *et al.*, 2004; RAMALHO e JORGE, 2006).

### 1.3.2. Determinação de antioxidantes em óleos comestíveis

Atualmente, muitas técnicas analíticas têm sido utilizadas para detectar e quantificar substâncias antioxidantes. Entre os métodos mais utilizados estão os colorimétricos e os espectrofotométricos; contudo estas técnicas não apresentam grande sensibilidade, o que dificulta a determinação de baixas concentrações. As técnicas colorimétricas, como o método Folin-Ciocalteu, requerem um minucioso tratamento da amostra a fim de remover qualquer cor interferente, e como não são seletivos apresentam os resultados como antioxidantes totais, sem diferenciar as espécies presentes (STUCKEY e OSBORNE, 1965; CAMPOS e TOLEDO, 2000; SUCUPIRA, *et al.*, 2012).

As técnicas de cromatografia gasosa (GC- *Gas chromatography*) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *High performance liquid chromatography*), também são utilizadas na quantificação de antioxidantes (TAKEMOTO *et al.*, 2000; CAMPOS e TOLEDO, 2000), porém as indústrias de alimentos necessitam de respostas rápidas para assegurar a qualidade dos produtos e do processo, e estas são técnicas que demandam elevado tempo de análise, preparo das amostras e elevado custo instrumental e de reagentes.

As metodologias eletroanalíticas, empregando técnicas voltamétricas, por exemplo, representam uma alternativa promissora para determinação de antioxidantes, principalmente com o desenvolvimento de CME cada vez mais sensíveis e seletivos. A voltametria de onda quadrada (SWV) é uma técnica eletroanalítica que proporciona resultados rápidos com adequada detectabilidade, comparável aos métodos cromatográficos (MELLO e KUBOTA, 2002; MEDEIROS *et al.*, 2010). Diferentes técnicas voltamétricas podem ser utilizadas para detecção dos antioxidantes BHA, BHT e TBHQ tais como a voltametria cíclica (CV), voltametria de pulso diferencial (DPV), voltametria de onda quadrada (SWV) e a voltametria de varredura linear (LSV) (DE LA FUENTE *et al.*, 1999; CEBALLOS *et al.*, 2000; GUO *et al.*, 2006; MEDEIROS *et al.*, 2010). O comportamento voltamétrico do BHA e BHT em um GCE foi avaliado em solução de ácido perclórico por Ni *et al.* (2000) utilizando a técnica de LSV, obtendo-se faixas lineares de  $2,8-83,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para BHA e  $2,8-36,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para BHT, com limites de detecção de 1,0 e  $0,68 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente. Ceballos *et al.* (2000), utilizaram a SWV com ultramicroeletrodos de disco de carbono para quantificar BHA e BHT em óleos vegetais. As determinações foram realizadas diretamente em uma mistura de benzeno/etanol/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou em

acetonitrila, após um procedimento de extração. Posteriormente, comportamento eletroquímico do BHA, BHT e TBHQ foi avaliado utilizando um GCE modificado com nanopartículas de ouro e, após otimização, utilizado com sucesso na quantificação destes antioxidantes em óleos comestíveis (NI *et al.*, 2013). A voltametria de pulso diferencial (DPV) também foi empregada para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel utilizando um GCE e extrações com acetonitrila (CASTILHO *et al.*, 2014).

Nanocompósitos de grafeno e ouro foram empregados por Du e colaboradores (DU *et al.* 2014) para determinação do antioxidante TBHQ em amostras de alimentos empregando a CV e a técnica de DPV obtendo um dispositivo analítico com faixa linear de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  a  $2,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e um limite de detecção de  $5,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Ultramicro eletrodos de Pt e carbono, foram empregados juntamente com a técnica de SWV para determinação de TBHQ em amostras de óleo comestível por Robledo e colaboradores (ROBLEDO *et al.*, 2014) empregando extrações com benzeno e acetonitrila. A faixa de recuperação obtida empregando a adição de padrão foi de 92% a 102% e os valores de TBHQ calculados por esta metodologia apresentaram concordância com os valores declarados pelos fabricantes de óleo.

Oliveira e colaboradores (OLIVEIRA *et al.*, 2014) empregaram nanotubos de carbono e enzima peroxidase para determinação de TBHQ em molhos de salada, empregando a SWV. Nas condições otimizadas foi obtida uma faixa linear de  $9,92 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  a  $5,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  com um limite de detecção de  $2,46 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . O eletrodo proposto apesentou recuperações na determinação de TBHQ em molhos para salada de 99,6% a 104,8%.

Um estudo foi realizado por Wang e colaboradores (WANG *et al.*, 2014) utilizando um GCE ativado *in situ* por oxidação química para determinação de TBHQ empregando a DPV. A faixa linear obtida foi de  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  a  $1,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Posteriormente o eletrodo foi empregado na determinação de TBHQ em biodiesel com uma faixa de recuperação de 95,2% a 103,2%.

## 2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho foi desenvolver um CME com filme de surfactante zwitteriônico derivado de imidazol, avaliar seu desempenho analítico e empregá-lo na determinação de TBHQ em extratos de óleo de soja.

## 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a contribuição do filme de surfactante e a influência do tamanho da cadeia alquílica na resposta analítica do eletrodo;
- Verificar o mecanismo de funcionamento do eletrodo;
- Verificar a influência da concentração do surfactante na resposta analítica do eletrodo;
- Avaliar a resposta voltamétrica do CME para os antioxidantes: BHA, BHT e TBHQ, em diferentes valores de pH;
- Caracterizar a superfície do CME utilizando a técnica de microscopia de força atômica e a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS);
- Avaliar o desempenho analítico do eletrodo empregando SWV, DPV e LSV;
- Investigar e otimizar os parâmetros experimentais de varredura da técnica de SWV (frequência, amplitude e incremento);
- Construir uma curva de calibração para o TBHQ, sob as condições otimizadas;
- Avaliar a repetibilidade do CME e investigar possíveis espécies interferentes;
- Verificar a porcentagem de recuperação e aplicar o CME para a determinação de TBHQ em extratos obtidos a partir de amostras comerciais de óleo de soja utilizando a SWV;
- Comparar o teor de TBHQ determinado utilizando o eletrodo proposto com o valor obtido pelo método comparativo espectrofotométrico.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. INSTRUMENTAÇÃO

Um banho ultrassom Unique 1400A foi utilizado para auxiliar na limpeza dos eletrodos de carbono vítreo. Todas as medidas de pH das soluções foram realizadas com um medidor de pH B475 Micronal usando um eletrodo combinado de vidro, calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. As medidas eletroquímicas de CV, DPV, SWV, LSV e EIS foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT128N (Eco Chemie, Holanda), conectado a um *software* de processamento de dados (NOVA, versão 1.10). Para execução das medidas voltamétricas utilizou-se uma cela de vidro (capacidade máxima aproximada de 15 mL) com tampa de Teflon provida de orifícios circulares para encaixe dos eletrodos e adição das soluções. Foi utilizado um sistema de três eletrodos para realização dos experimentos: GCE (Metrohm) modificado com filme de surfactante como eletrodo de trabalho, um eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>) como eletrodo de referência e uma placa de platina (0,5 cm<sup>2</sup>) como eletrodo auxiliar.

As caracterizações morfológicas do filme de surfactante foram realizadas no Laboratório de Filmes Finos e Superfícies da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Uma placa de carbono vítreo recoberta com filme de surfactante forneceu as imagens topográficas de microscopia de força atômica (AFM), que foram obtidas utilizando um microscópio modelo Pico-SPM (Molecular Imaging Corporation, EUA), operando no modo de contato com uma agulha revestida de Platina/Irídio, uma constante de força nominal de 0,2 N m<sup>-1</sup> e raio de curvatura da ponta de 20 nm.

As amostras comerciais de óleo de soja foram submetidas a um processo de extração em uma mini-incubadora shaker MA832 (Marconi). Um espectrofotômetro UV-Vis Cary60 (Agilent), com uma célula de quartzo (caminho óptico de 1,0 cm), foi usado para determinação do TBHQ pelo método comparativo.

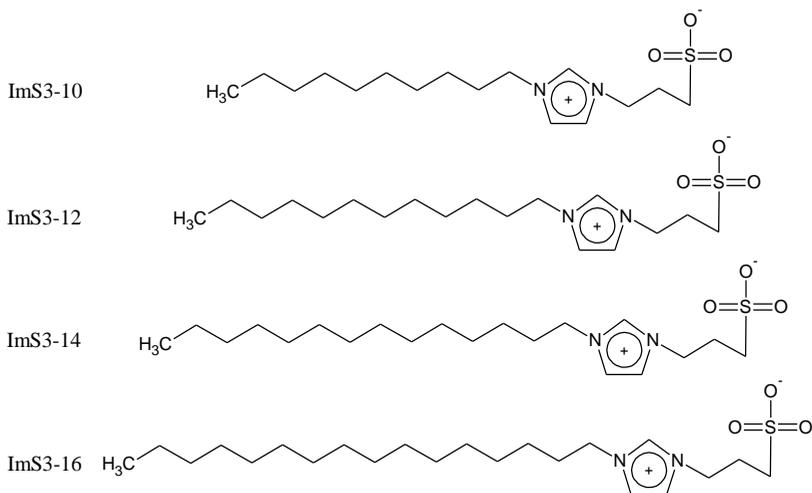
#### 3.2. REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRAS

Todos os reagentes empregados neste trabalho eram de grau analítico e obtidos comercialmente, sendo usados sem purificação adicional. Todas as soluções foram preparadas com água desionizada (7,5 µS cm<sup>-1</sup>). Soluções tampão acetato (pH 3,0; 4,0; 5,0) e fosfato (pH 6,0; 7,0; 8,0), na concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup>, foram preparadas

utilizando reagentes obtidos da Vetec. BHA, BHT, TBHQ, ácido cítrico e ácido ascórbico foram adquiridos da Sigma-Aldrich, e as soluções estoque preparadas diariamente em etanol (Synth). Suspensão de alumina com partículas de 0,05  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Aratec, Brasil) foi utilizada para o polimento dos eletrodos.

Os surfactantes sulfonato imidazólicos empregados neste trabalho (Figura 4) foram sintetizados e caracterizados no Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais (LACFI) da UFSC, coordenado pelo Prof. Dr. Faruk Nome (TONDO *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2012), e fornecidos para realização do presente trabalho em colaboração. Amostras de óleo de soja de duas marcas diferentes (representadas por A e B) foram adquiridas em um supermercado local em Florianópolis, Santa Catarina e usadas para obtenção dos extratos contendo TBHQ.

**Figura 4.** Estrutura dos surfactantes sulfonato imidazólicos avaliados, com diferentes caudas.



### 3.3. MODIFICAÇÃO DO ELETRODO

A superfície do GCE (diâmetro de 2 mm), antes da modificação, foi polida em suspensão de alumina sobre feltro para limpeza do eletrodo. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água destilada e mantido em banho com ultrassom por 5 minutos para remoção da alumina residual e novamente lavado com etanol. Após o procedimento de limpeza, uma alíquota de 2  $\mu\text{L}$  de uma solução de surfactante (em clorofórmio) foi gotejada sobre a superfície do eletrodo e, em seguida, mantido em dessecador com vácuo por 15 minutos em temperatura ambiente.

### 3.4. MEDIDAS ELETRQUÍMICAS

As medidas voltamétricas foram realizadas em uma cela eletroquímica contendo 10,0 mL de solução tampão e as adições de solução padrão dos antioxidantes estudados ou extratos de óleo de soja foram feitas com auxílio de uma micropipeta.

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em um intervalo de potencial de -1,0 a +1,0 V, com uma velocidade de varredura de 100  $\text{mV s}^{-1}$ . As medidas utilizando a SWV foram feitas com varreduras de potenciais entre 0,0 e +0,8 V. Os parâmetros da técnica foram avaliados na faixa de 10–100 Hz de frequência, amplitude de pulso de 10–100 mV e incremento de potencial de 1–10 mV. Todos os voltamogramas foram registrados com as soluções sob repouso, a temperatura ambiente e com um tempo prévio de agitação de 30 segundos para homogeneizar a solução.

### 3.5. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E DETERMINAÇÃO DE TBHQ

Duas amostras de óleo de soja A e B foram submetidas a um processo de extração para obtenção dos extratos contendo TBHQ (TAKEMODO *et al*, 2009). Foram realizadas extrações utilizando acetonitrila e solução tampão acetato (0,1  $\text{mol L}^{-1}$ , pH 5,0). Inicialmente, uma alíquota de 10,0 mL de óleo vegetal foi diluída em 10,0 mL de hexano e, em seguida, 10,0 mL de acetonitrila ou solução tampão acetato (0,1  $\text{mol L}^{-1}$ , pH 5,0) foram adicionados. A mistura obtida foi agitada durante 2 horas em um agitador automático para o processo de extração do TBHQ. A mistura foi então transferida para um funil de separação e os extratos do óleo de soja contendo TBHQ coletados em

frascos âmbar e armazenados a 4 °C. Posteriormente, alíquotas dos extratos foram transferidas para a célula eletroquímica, já contendo eletrólito suporte, e o teor de TBHQ foi determinado empregando o eletrodo proposto, através do método de adição de padrão. As medidas eletroquímicas foram realizadas em triplicata por SWV.

Como método comparativo, empregou-se a espectrofotometria UV ( $\lambda = 230$  nm), e os teores de TBHQ presentes nos extratos foram obtidos a partir do método da adição de padrão (ANDRIKOPOULOS, 1991; ESPINOSA-MANSILLA *et al.*, 1996; SÁ *et al.*, 2004). Para realização das medidas, o extrato foi diluído dez vezes com solução tampão acetato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 5,0). Em seguida 1,0 mL do extrato diluído foi transferido para uma cubeta de quartzo e o volume ajustado para 3,0 mL com a solução tampão. O procedimento foi realizado em triplicata.

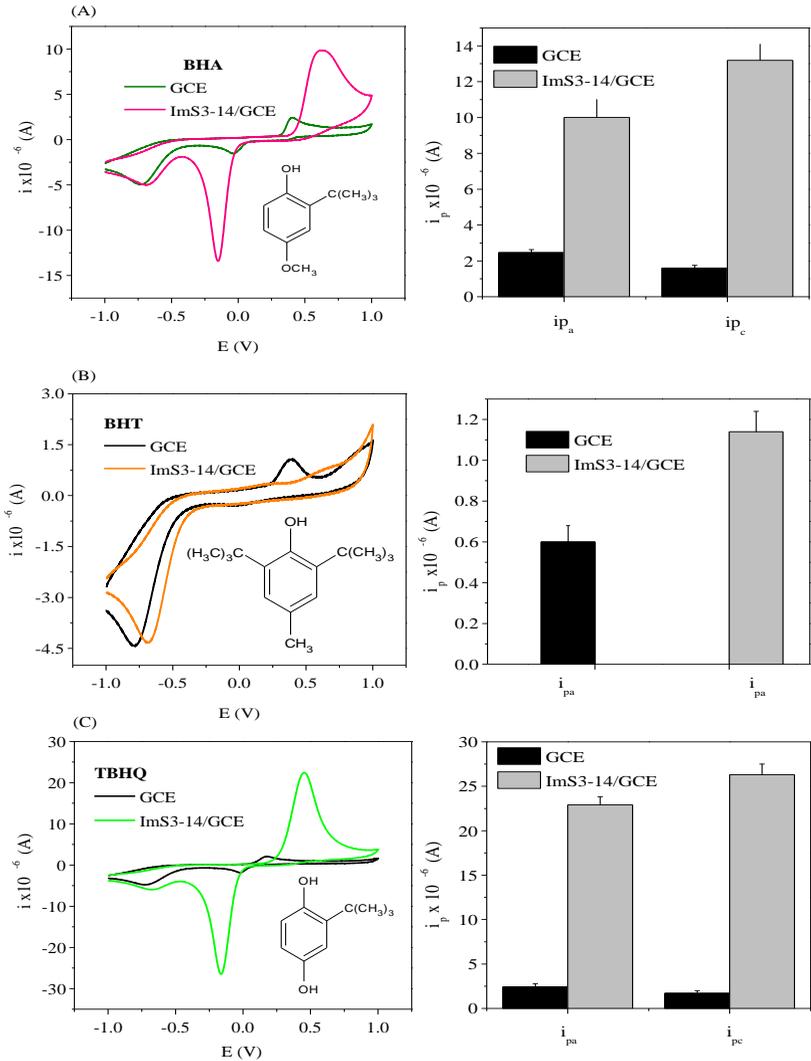
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. CONTRIBUIÇÃO DO FILME DE SURFACTANTE

Com a finalidade de verificar a contribuição do filme de surfactante sobre a resposta do eletrodo para os antioxidantes BHA, BHT e TBHQ, foram realizadas medidas de CV utilizando um GCE não modificado e um GCE modificado com uma solução  $5,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de surfactante sulfonato imidazólico, contendo 14 carbonos na cadeia alquílica, 3-(1-tetradecil-3-imidazólio)propanossulfonato (denominado ImS3-14/GCE). A Figura 5 apresenta os voltamogramas cíclicos e as correntes de pico obtidos para uma solução  $1,45 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de (A) BHA, (B) BHT e (C) TBHQ em solução tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0). A técnica de CV foi empregada nas otimizações para obter informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos. Esta técnica fornece resultados rápidos sobre a termodinâmica dos processos redox, da cinética das reações de transferências de elétrons e sobre os processos adsorptivos.

Como podemos observar, a adição do filme de ImS3-14 sobre a superfície do eletrodo aumenta as correntes de pico para o BHA e TBHQ. Embora o processo redox seja termodinamicamente desfavorecido (afastamento e deslocamento dos potenciais de pico), a cinética dos processos de transferência de carga para estes antioxidantes é acelerada. O filme de surfactante inibiu a interação do BHT com a superfície impedindo a transferência de carga, com diminuição quase que total do pico de oxidação. Este efeito se deve ao fato de que a adsorção do analito no filme é uma etapa que precede a transferência de elétrons. Podemos concluir que o filme de surfactante limitou a adsorção do BHT na superfície do eletrodo. A alta organização das estruturas micelares formadas pelo surfactante no filme sobre a superfície acaba impedindo estericamente a adsorção do BHT e, conseqüentemente, diminuindo a reação de transferência de carga na superfície do eletrodo (NASSAR *et al.*, 1995; BRUNA *et al.*, 2006; ZAPP *et al.*, 2013). O que se observou foi um aumento de 84,6% na resposta do eletrodo para o antioxidante BHA e um aumento de 90,3% na resposta eletroquímica do eletrodo para o antioxidante TBHQ após a adição do filme sobre a superfície.

**Figura 5.** Voltamogramas cíclicos e correntes de pico obtidos utilizando o GCE não modificado e o ImS3-14/GCE para  $1,45 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de (A) BHA, (B) BHT e (C) TBHQ em solução tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0).

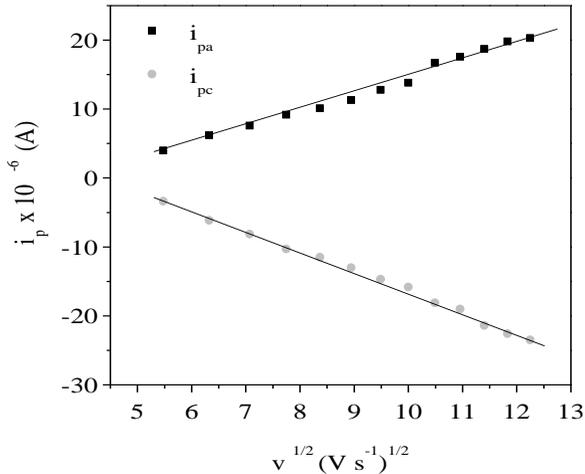


## 4.2. EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA E MECANISMO ELETROQUÍMICO

A fim de determinar o mecanismo de funcionamento do eletrodo foi avaliada a influência da velocidade de varredura na corrente de pico dos voltamogramas obtidos utilizando a técnica de CV. O experimento foi executado em uma faixa de velocidades de 20 – 140 mV s<sup>-1</sup>. Para isso foi empregado o CME ImS3-14/GCE como eletrodo de trabalho e uma solução de KCl (0,1 mol L<sup>-1</sup>) contendo ferricianeto de potássio (K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) e ferrocianeto de potássio (K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) (1,0x10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>).

A equação de Randles-Sevcik foi aplicada para avaliar o mecanismo dominante nas correntes de pico obtidas. Para isso usou-se o plote  $i_p$  vs.  $v^{1/2}$  (Figura 6); a linearidade obtida indica que o processo redox na superfície do eletrodo é controlado pelo transporte de massa do TBHQ na superfície, ou seja, este é o fator limitante do processo. Como forma de confirmar este fato, foi realizado o plote de  $\log i_p$  vs.  $\log v$ , que apresentou uma inclinação de 0,98 para as correntes de pico anódico e inclinação de -1,10 para as correntes de pico catódico. Um valor de inclinação próximo a 1,0 é esperado para o gráfico  $\log i_p$  vs.  $\log v$  em um processo eletródico controlado por adsorção e próximo a 0,5 em processos controlados por difusão. Podemos concluir que o mecanismo de funcionamento do eletrodo é controlado pela adsorção do analito na superfície do filme e, posteriormente, pelo processo de transferência de elétrons.

**Figura 6.** Efeito da velocidade de varredura no CME em solução de KCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) contendo ferricianeto de potássio ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) e ferrocianeto de potássio ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) ( $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ).



Ainda empregando a equação de Randles-Sevcik e o coeficiente de difusão do ferricianeto de potássio ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) e ferrocianeto de potássio ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) foram calculadas as áreas ativas do GCE e do ImS3-14/GCE, sendo  $0,036 \text{ cm}^2$  e de  $0,052 \text{ cm}^2$  respectivamente, o que equivale a um aumento de, aproximadamente, 45,0% da área superficial. O aumento da área superficial do eletrodo contribuiu para os maiores valores de correntes de picos obtidos com o eletrodo modificado.

### 4.3. ESTUDO DO ELETRÓLITO DE SUPORTE E pH DA SOLUÇÃO

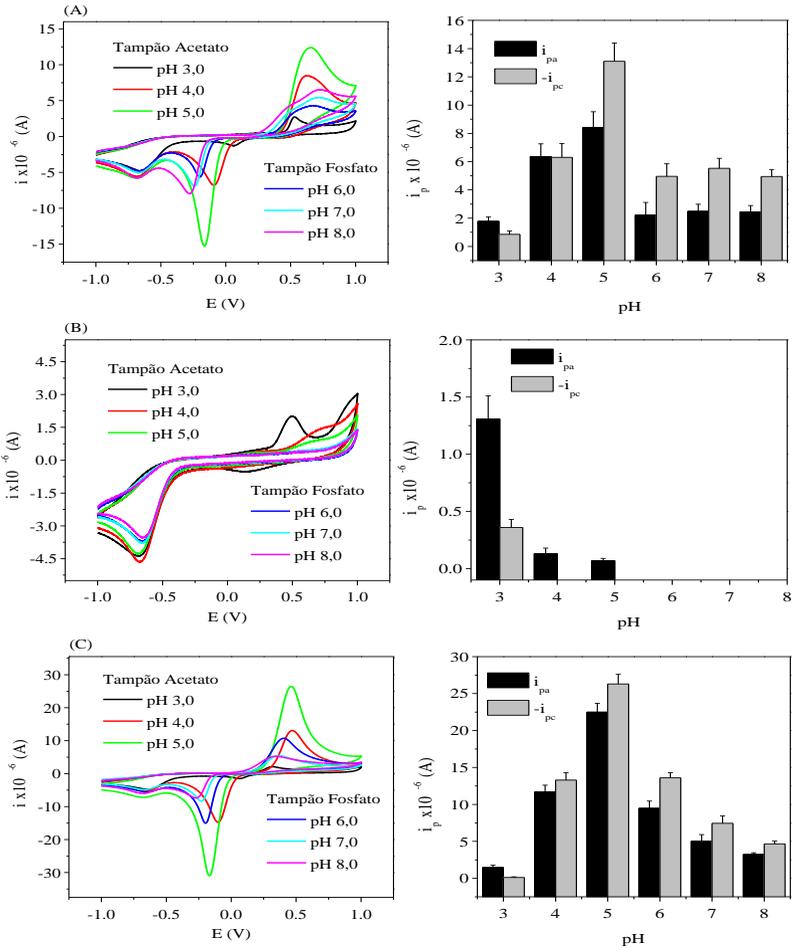
A natureza do eletrólito suporte e o pH da solução tem grande influência na resposta de corrente usando o CME. Assim, para avaliar este efeito foram realizadas medidas de CV empregando uma solução  $1,45 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de BHA, BHT e TBHQ, preparadas em diferentes eletrólitos suporte: solução tampão acetato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 3,0 a 5,0) e solução tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 6,0 a 8,0).

Os voltamogramas cíclicos e as correntes de pico em diferentes eletrólitos suporte e pH para (A) BHA, (B) BHT e (C) TBHQ utilizando o eletrodo ImS3-14/GCE são apresentados na Figura 7.

Como pode ser observado nos voltamogramas, o TBHQ apresentou os maiores valores de correntes de pico utilizando o eletrodo ImS3-14/GCE, seguido pelo BHA. As correntes de pico obtidas aumentaram com a elevação dos valores de pH dos tampões de 3,0 a 5,0 para ambos os antioxidantes (BHA e TBHQ), ocorrendo um decréscimo do pico para valores superiores de pH. O tampão acetato mantém o grupo fenólico protonado, sendo este grupo o responsável pelo sinal eletroquímico de oxidação e redução. Observa-se também um aumento nos valores de  $\Delta E_p$  com o aumento do pH da solução indicando que o processo se torna termodinamicamente desfavorecido, ou seja a reversibilidade da reação é prejudicada. O aumento das correntes de pico obtido demonstra que o processo é cineticamente mais favorável devido a maior área superficial do eletrodo e a adsorção do analito na superfície. A maior corrente de pico foi obtida empregando como eletrólito suporte a solução tampão acetato (pH 5,0), tanto para o BHA como para o TBHQ, sendo selecionada como eletrólito suporte para os demais estudos.

O antioxidante BHT apresentou baixas correntes de pico para o eletrodo modificado, sendo que em solução tampão pH 5,0 a resposta eletroquímica para este antioxidante foi praticamente nula, e soluções tampão com pH acima de 6,0 não apresentaram pico de oxidação. Isto se deve ao fato de que para pH acima de 5,5 o BHT não apresenta mais atividade eletroquímica e, portanto, não pode mais ser detectado em solução, resultados concordantes com estudos anteriores (NI *et al.*, 2000; RAYMUNDO *et al.*, 2006). Como o antioxidante TBHQ foi o que apresentou maior resposta voltamétrica e também por ser empregado isoladamente como antioxidante em óleos vegetais, este composto foi escolhido para os estudos subsequentes.

**Figura 7.** Voltamogramas cíclicos e corrente de pico em função do pH da solução em diferentes soluções de eletrólito suporte para (A) BHA, (B) BHT e (C) TBHQ utilizando o eletrodo ImS3-14/GCE.

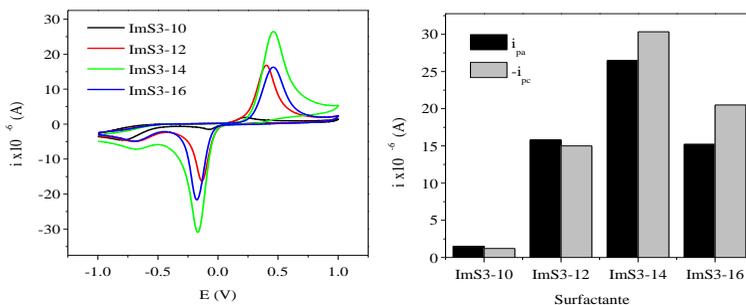


#### 4.4. TAMANHO DA CADEIA ALQUÍLICA

A influência do tamanho da cadeia alquílica do surfactante sulfonato imidazólico sobre a resposta do eletrodo foi investigada utilizando surfactantes contendo diferentes tamanhos de caudas hidrofóbicas, sendo estes tamanhos iguais a: 10 carbonos (ImS3-10), 12 carbonos (ImS3-12), 14 carbonos (ImS3-14) e 16 carbonos (ImS3-16). Os voltamogramas cíclicos empregando os eletrodos modificados com filmes destes surfactantes foram gerados utilizando uma solução de TBHQ  $1,45 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> em solução tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0) e são apresentados na Figura 8 juntamente com as correntes de pico obtidas a partir dos voltamogramas.

Como pode ser observada na Figura 8, a melhor interação entre o CME e o TBHQ ocorre quando o surfactante contém uma cauda alquílica com 14 átomos de carbono, evidenciada pelas corrente de pico obtidas, sendo este então selecionado para a modificação do eletrodo de GCE. Este ganho de corrente se deve ao fato das caudas alquílicas serem responsáveis pela adsorção do TBHQ na superfície do GCE, fato que contribui para aumentar as correntes de pico obtidas, confirmado pelo aumento da corrente de pico até o surfactante ImS3-14. Porém, para o surfactante ImS3-16 ocorre uma diminuição da corrente de pico. Isto se deve ao fato da cauda alquílica contendo 16 carbonos dificultar a adsorção do analito devido a um impedimento estérico, consequentemente diminuindo as respostas de corrente obtidas pelo eletrodo (JAGANNATAN *et al.*, 1987; CRUZ *et al.*, 2000).

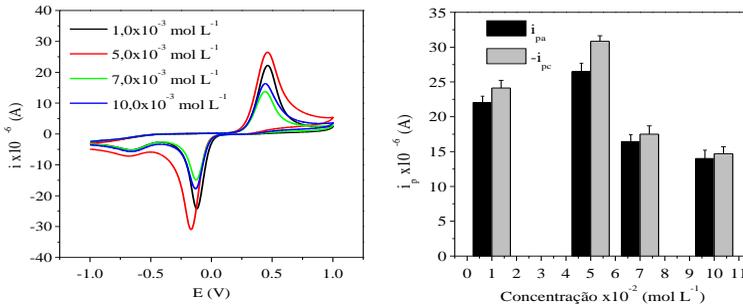
**Figura 8.** Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando uma solução de TBHQ  $1,45 \times 10^{-4}$  mol L $^{-1}$  em solução tampão acetato (0,1 mol L $^{-1}$ , pH 5,0) empregando eletrodos modificados com surfactantes com diferentes caudas alquílicas e respectivas correntes de pico obtidas.



#### 4.5. CONCENTRAÇÃO DE SURFACTANTE

O efeito da concentração da solução de ImS3-14 sobre a resposta do eletrodo proposto foi verificado utilizando soluções de surfactante com diferentes concentrações:  $1,0 \times 10^{-2}$ ,  $5,0 \times 10^{-2}$ ,  $7,0 \times 10^{-2}$  e  $10,0 \times 10^{-2}$  mol L $^{-1}$ . Os eletrodos modificados com filmes a partir destas soluções foram avaliados utilizando uma solução padrão de TBHQ  $1,45 \times 10^{-4}$  mol L $^{-1}$  em solução tampão acetato (0,1 mol L $^{-1}$ , pH 5,0). Para a modificação, 2  $\mu$ L da solução de surfactante com diferentes concentrações foram gotejados sobre a superfície do eletrodo e testados individualmente. Os voltamogramas cíclicos adquiridos são apresentados na Figura 9 juntamente com as correntes de pico. Pode-se verificar que o eletrodo modificado com  $5,0 \times 10^{-2}$  mol L $^{-1}$  de ImS3-14 fornece a maior corrente de pico, sendo esta concentração selecionada para os estudos subsequentes. Esta quantidade corresponde a CMC do surfactante ImS3-14, onde inicia-se a formação das micelas (TONDO *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2012). Com a elevação da concentração da solução de surfactante empregado na formação do filme, ocorre um aumento da corrente de pico devido a uma maior adsorção do TBHQ na superfície. Observou-se que ocorre uma diminuição na resposta de corrente do eletrodo para a solução acima de  $5,0 \times 10^{-2}$  mol L $^{-1}$ . Isso se deve ao fato de concentrações mais elevadas produzirem filmes muito espessos que acabam dificultando o acesso do TBHQ à superfície, reduzindo a resposta obtida (PEREIRA *et al.*, 2002; ZAPP *et al.*, 2013).

**Figura 9.** Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodos modificados com diferentes concentrações de ImS3-14 para uma solução  $1,45 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ em solução tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0) e correntes de pico obtidas a partir dos voltamogramas.



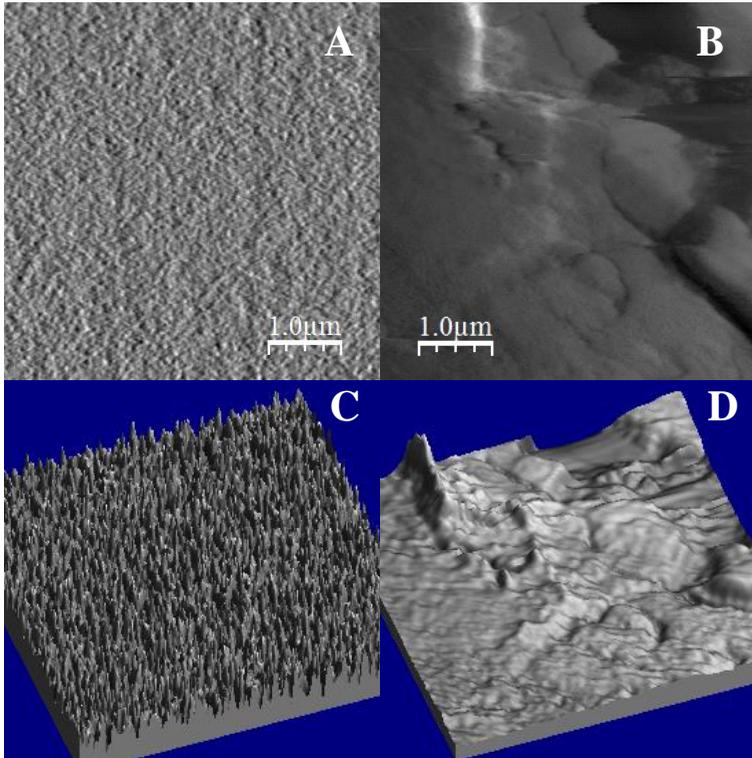
## 4.6. CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DO ELETRODO

### 4.6.1. Microscopia de Força Atômica

A fim de verificar o efeito do filme na morfologia da superfície do carbono vítreo, a técnica de AFM foi utilizada para obter a topografia da superfície em imagens em duas dimensões (2D) e em três dimensões (3D). Para este estudo, utilizou-se a superfície de uma placa de carbono vítreo para simular a construção do eletrodo. As Figuras 10A e 10C mostram as imagens da superfície da placa de carbono vítreo limpa (GCP – *glassy carbono plate*), as Figuras 10B e 10D mostram a superfície após a adição do filme de surfactante (ImS3-14/GCP).

Podemos perceber claramente nas imagens 2D e 3D, que a superfície de ImS3-14/GCP apresenta grandes aglomerados compactos, diferindo significativamente da morfologia da GCP. Estas estruturas podem se formar durante a evaporação de solvente na superfície do carbono, provocando ondulações no filme antes deste secar completamente. Além disso, as moléculas que estão sendo depositadas sofrem forte interação das moléculas vizinhas o que contribui para formação desta morfologia (YUAN *et al.*, 2005; GAMBOA *et al.*, 2012; DAVID *et al.*, 2013). Estas estruturas tridimensionais permitem um maior acúmulo de analito na superfície, o que aumenta as correntes de pico obtidas pelo CME (GONZALEZ, 2000).

**Figura 10.** Imagem 2D de AFM de (A) GCP; (B) ImS3-14/GCP; (C) Imagem 3D da superfície do GCP e (D) Imagem 3D do ImS3-14/GCP.



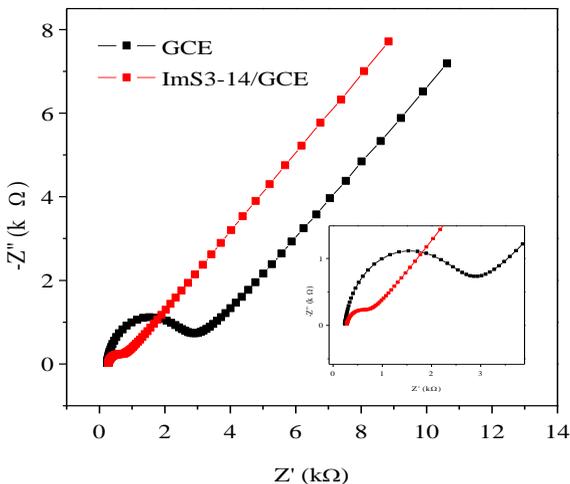
#### 4.6.2. Caracterização por EIS

A técnica de EIS foi empregada para avaliar a superfície do GCE e as suas propriedades elétricas após o recobrimento com o filme de ImS3-14, utilizando-se uma solução de KCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) contendo ferricianeto de potássio ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) e ferrocianeto de potássio ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) ( $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). A EIS é uma técnica eletroquímica que permite o estudo de características da superfície de eletrodos modificados (GIROTTO, 1999).

A Figura 11 apresenta as medidas de plote de Nyquist para os diferentes eletrodos (GCE e ImS3-14/GCE) e no detalhe o semicírculo referente a resistência a transferência de carga. Como observado, a resistência a transferência de carga ( $R_{ct}$ ) sofre uma significativa

diminuição após o recobrimento com o filme de ImS3-14, indicando a presença de uma camada condutora sobre a superfície do eletrodo capaz de aumentar a corrente de pico obtida. Consequentemente, isso leva a um aumento na detectabilidade do eletrodo. Isto se deve à presença do surfactante contendo um anel imidazólico. Este anel especificamente é capaz de acelerar a cinética dos processos de transferência de elétrons na superfície de eletrodos, fato comprovado por diversos estudos anteriores (FERNANDES *et al.* 2009; FRANZOI *et al.*, 2011; FERNANDES *et al.*, 2012. Os circuitos equivalentes de Randles foram empregados para estimar a resistência a transferência de carga correspondentes a cada sistema. Pode-se calcular uma  $R_{ct}$  de 2,21 k $\Omega$  para o GCE, com uma diminuição deste valor para 362  $\Omega$  no ImS3-14/GCE.

**Figura 11.** Espectros de impedância eletroquímica para os diferentes eletrodos GCE não modificado e ImS3-14/GCE, obtidos em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> contendo [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3+/4+</sup> (1,0x10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>), em uma faixa de frequência de 100 kHz a 0,1 Hz e amplitude de 10 mV, usando potencial de circuito aberto.

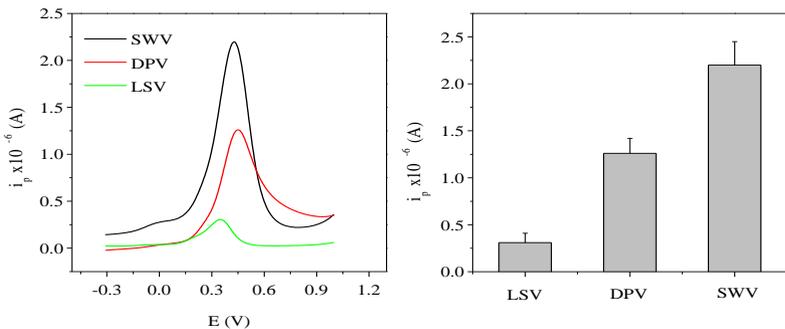


#### 4.7. SELEÇÃO DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA

As técnicas de SWV, DPV e LSV podem ser empregadas na quantificação de TBHQ. Estas técnicas são mais sensíveis que a CV e, por isso, comumente usadas do desenvolvimento de metodologias analíticas. Todas as medidas foram realizadas em uma janela de potenciais de -0,3 à +1,0V. Para a LSV foi empregada uma velocidade de varredura de 50 mV.s<sup>-1</sup>. A técnica de DPV foi executada utilizando uma amplitude de pulso de 50mV e uma velocidade de varredura de 30 mV.s<sup>-1</sup>. A SWV foi realizada utilizando 50Hz de frequência, 50 mV de amplitude e 5mV de incremento de potencial.

Para obtenção dos voltamogramas foi empregada uma solução 2,62x10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> de TBHQ em solução tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0). Os voltamogramas obtidos são apresentados na Figura 12, juntamente com as correntes de pico. Como podemos observar as técnicas de LSV e DPV apresentaram menor corrente de pico quando comparadas à corrente obtida empregando a SWV. Como a SWV foi a técnica que apresentou maiores valores de corrente de pico empregando o eletrodo modificado esta foi selecionada para a construção da curva de calibração e determinação do TBHQ em extratos obtidos a partir de óleos de soja.

**Figura 12.** Resposta do eletrodo modificado empregando diferentes técnicas eletroanalíticas para uma solução 2,62x10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> de TBHQ em solução de tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0) e as correntes de pico obtidas a partir dos voltamogramas.

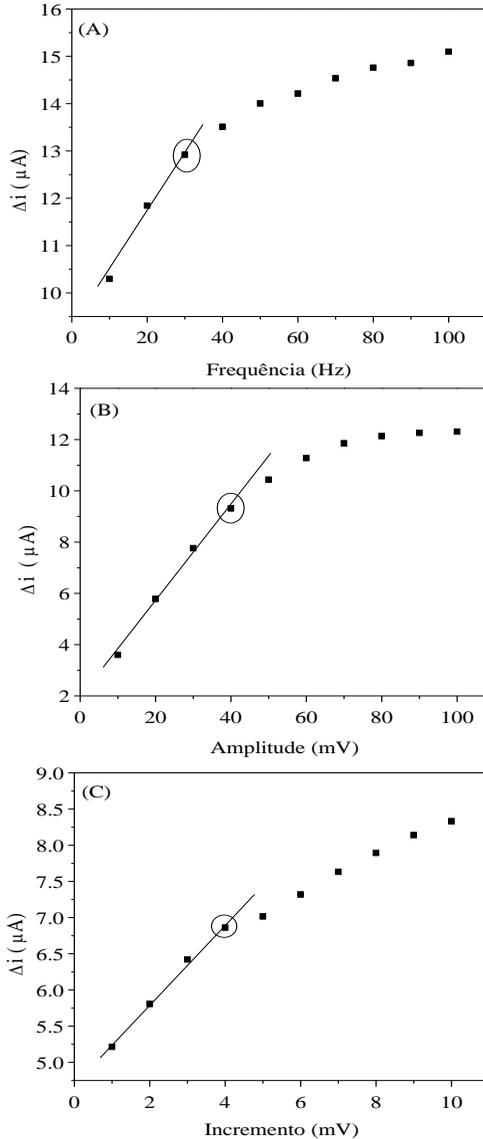


#### 4.8. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA SWV

A corrente obtida na SWV utilizando o eletrodo ImS3-14/GCE é dependente de parâmetros instrumentais como frequência, amplitude de pulso e incremento de potencial. Para obter as melhores condições experimentais, os efeitos destes parâmetros sobre a corrente de pico foram investigados empregando uma solução  $2,62 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ em solução tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0).

A frequência empregada tem influência sobre a velocidade de aplicação dos pulsos que deve se adequar à cinética do processo de transferência de carga entre o TBHQ e a superfície do eletrodo, o que representa maior resposta de corrente, por isso foi o primeiro parâmetro a ser otimizado. A frequência foi avaliada em uma faixa de 10,0 a 100,0 Hz (Figura 13A) e foi selecionada levando em conta a região linear. O valor escolhido foi de 30,0 Hz sendo este valor empregado nas subsequentes experiências. A amplitude do pulso tem relação com a velocidade com que são feitas as varreduras, que também depende da cinética da reação de transferência de carga. Este parâmetro foi avaliado em um intervalo de 10 a 100 mV e a corrente de pico aumentou linearmente com o aumento da amplitude; o valor selecionado levando em conta a região linear foi de 40 mV (Figura 13B). Após a técnica estar otimizada para o processo de transferência de carga do TBHQ com o eletrodo modificado, o efeito do incremento de potencial foi avaliado. Este parâmetro garante a melhor definição dos voltamogramas e dos picos de corrente obtidos. Para isso o incremento foi investigado no intervalo de 1 a 10 mV. A corrente aumentou linearmente com o aumento do incremento (Figura 13C); porém, para valores superiores a 4 mV os voltamogramas apresentaram ruídos nas medidas. Portanto, o valor de 4 mV de incremento foi selecionado para os demais estudos.

**Figura 13.** (A) Efeito da frequência, (B) amplitude de pulso e (C) incremento de pulso sobre a corrente de pico obtida na SWV para  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ em solução de tampão acetato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,0).



A Tabela 2 resume todas as variáveis investigadas e os valores selecionados para construção e utilização do eletrodo ImS3-14/GCE na quantificação de TBHQ.

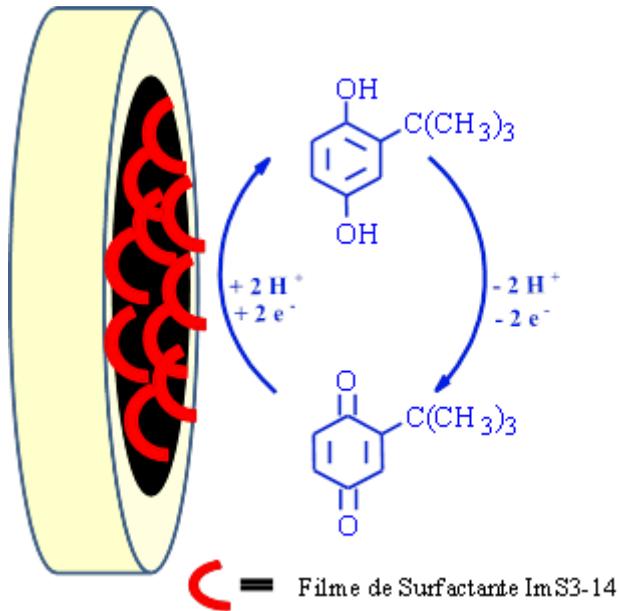
**Tabela 2.** Variáveis investigadas e valores selecionados para construção e otimização do eletrodo ImS3-14/GCE

Parâmetros	Faixa Avaliada	Melhor Resposta
pH do eletrólito suporte	3,0 – 8,0	5,0
Tamanho da cadeia alquílica do surfactante (nº de carbonos)	10 – 16	14
Concentração da solução de ImS3-14 (mol L <sup>-1</sup> )	1,0 a 10,0x10 <sup>-3</sup>	5,0x10 <sup>-3</sup>
Frequência (Hz)	10 – 100	30
Amplitude de pulso (mV)	10 – 100	40
Incremento de potencial (mV)	1 – 10	4

#### 4.9. CURVA DE CALIBRAÇÃO

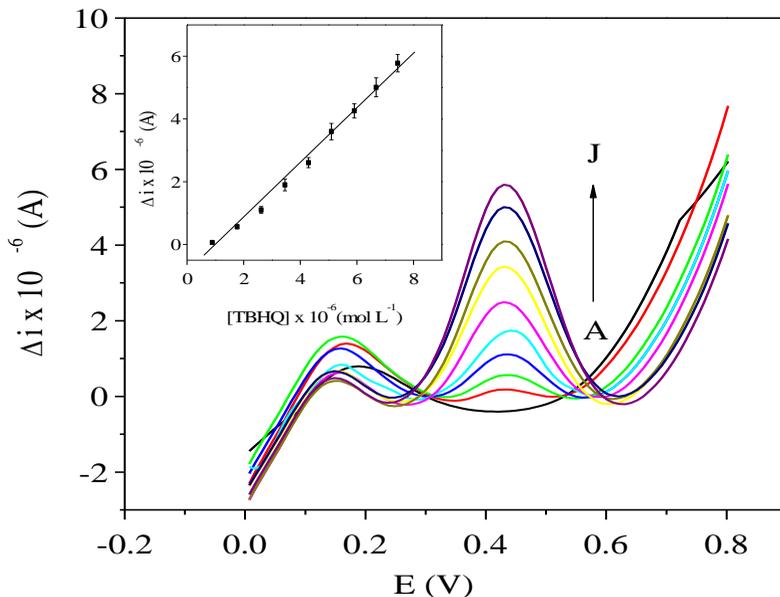
Nas melhores condições estabelecidas para a utilização do eletrodo proposto (Tabela 2), a SWV foi empregada para a construção da curva analítica, obtida através de medidas de corrente após adições sucessivas da solução estoque de TBHQ. O pico de corrente resultante do TBHQ foi observado em um potencial de 0,43 V vs. Ag/AgCl, e a Figura 14 apresenta um esquema ilustrativo desta reação sobre a superfície do CME.

**Figura 14.** Esquema ilustrativo da reação de oxidação e redução do TBHQ na superfície do eletrodo ImS3-14/GCE.



Os voltamogramas de onda quadrada são mostrados na Figura 15 e a curva analítica construída com as correntes resultantes *vs.* concentração de TBHQ pode ser vista no detalhe. A curva analítica apresentou uma faixa linear de  $8,93 \times 10^{-7}$  a  $7,44 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> de TBHQ, que pode ser expressa pela seguinte equação:  $\Delta i_p = -1,01(\pm 0,14) \times 10^{-7} + 0,089(\pm 0,003) [\text{TBHQ}]$ ;  $r^2 = 0,996$ , onde  $\Delta i_p$  é a corrente de pico resultante em Amperes (A) e [TBHQ] é a concentração de TBHQ em mol L<sup>-1</sup>. A correlação entre os pontos ( $r^2$ ) satisfaz os valores exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Instituto Nacional de Metrologia Normalização e Qualidade Instrumental (INMETRO ( $r^2 > 0,90$  - INMETRO;  $r^2 > 0,99$  - ANVISA)). O limite de detecção foi calculado para 95% de confiança usando a equação da curva (3 x desvio padrão do intercepto/inclinação) e o valor obtido foi de  $4,72 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>.

**Figura 15.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos usando o eletrodo ImS3-14/GCE para: (A) solução tampão acetato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 5,0); (B)  $8,93 \times 10^{-7}$ ; (C)  $1,77 \times 10^{-6}$ ; (D)  $2,62 \times 10^{-6}$ ; (E)  $3,46 \times 10^{-6}$ ; (F)  $4,29 \times 10^{-6}$ ; (G)  $5,10 \times 10^{-6}$ ; (H)  $5,91 \times 10^{-6}$ ; (I)  $6,68 \times 10^{-6}$ ; (J)  $7,44 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ, com 30 Hz de frequência, 40 mV de amplitude e 4 mV de incremento. Inserido: a correspondente curva analítica obtida.



#### 4.10. REPETIBILIDADE DO ELETRODO E REPETIBILIDADE DA MEDIDA

Um estudo de repetibilidade foi realizado para avaliar a precisão do instrumento. Para isso o grau de concordância entre quatro determinações sucessivas usando o mesmo eletrodo em uma solução contendo  $2,62 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ em solução tampão acetato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 5,0) foi avaliado. O desvio padrão relativo das correntes de pico resultantes obtidas para o TBHQ foi de 5,4%. Quando três eletrodos preparados independentemente e de igual modo foram utilizados para a medida de uma solução  $2,62 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de TBHQ em tampão acetato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 5,0), o desvio padrão relativo para a corrente de pico resultante foi de 7,2% indicando que o eletrodo ImS3-

14/GCE apresenta adequada repetibilidade para aplicações em determinações analíticas de TBHQ.

#### **4.11. ESTUDO DE INTERFERENTES**

Para verificar se espécies existentes nas amostras de óleo, como ácido cítrico e ácido ascórbico, podem interferir na resposta do eletrodo, foi realizado um estudo que comparou as respostas fornecidas para uma solução de TBHQ  $2,62 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> em relação a soluções contendo proporções fixas de 1:1 e 1:10 de TBHQ:Interferente. Nenhum efeito de interferência significativa na determinação de TBHQ (mudança do sinal superior a 5%) foi observado na presença do ácido cítrico e do ácido ascórbico nas proporções avaliadas, permitindo a determinação do TBHQ em amostras de óleo de soja que contenham estes compostos.

#### **4.12. ESTUDO DE RECUPERAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE TBHQ**

Um estudo de recuperação do TBHQ foi realizado utilizando os dois extratos obtidos a partir do óleo de soja (A e B) com adição de três alíquotas de diferentes concentrações de TBHQ (0,81, 1,77 e  $2,62 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>). A recuperação está relacionada com a exatidão da metodologia e reflete a quantidade de analito que é determinada no processo experimental, em relação à quantidade real presente na amostra (ou adicionada) (FERNANDES, 2012). Um erro sistemático pode ocorrer pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas voltamétricas imprecisas, substâncias interferentes na amostra, entre outros problemas (BRITO *et al.*, 2003). Os resultados obtidos foram comparados com as concentrações adicionadas, como mostra a Tabela 3. Os valores de recuperação variaram de 94,3 e 105,7%, demonstrando uma adequada exatidão do eletrodo ImS3-14/GCE.

**Tabela 3.** Estudo de recuperação de TBHQ em amostras de extrato de óleo de soja, usando o eletrodo ImS3-14/GCE.

Amostra <sup>a</sup>	TBHQ ( $\times 10^{-6}$ mol L <sup>-1</sup> )		Recuperação (%) <sup>c</sup>
	Adicionado	Determinado <sup>b</sup>	
A	0,81	0,808 $\pm$ 0,06	99,80
	1,77	1,72 $\pm$ 0,30	97,40
	2,62	2,63 $\pm$ 0,29	100,25
B	0,81	0,78 $\pm$ 0,05	97,0
	1,77	1,67 $\pm$ 0,29	94,3
	2,62	2,77 $\pm$ 0,20	105,7

<sup>a</sup> A e B = extratos obtidos à partir do óleo de soja utilizados como amostra;

<sup>b</sup> n=3;

<sup>c</sup> Recuperação = (valor encontrado/valor adicionado)  $\times$  100.

A concentração de TBHQ nos extratos A e B foi determinada pelo método de adição de padrão para avaliar o desempenho analítico do eletrodo ImS3-14/GCE. Como procedimento comparativo foram realizadas medidas de absorvância utilizado o método espectrofotométrico em um comprimento de onda de 230 nm (ANDRIKOPOULOS, 1991; ESPINOSA-MANSILLA *et al.*, 1996; SÁ, *et al.*, 2004). Os resultados obtidos com os dois métodos são apresentados na Tabela 4. Como pode ser observado, o erro relativo na determinação foi de 7,90% e 6,00% para a amostra A e B, respectivamente, havendo uma pequena diferença entre as medidas usando o eletrodo proposto ImS3-14/CGE e o método UV. Para comparação dos resultados obtidos usando os diferentes procedimentos foi aplicado o teste *t-Student* e o teste F. Os valores de  $F_{\text{calculado}}$  são menores que o valor de  $F_{\text{tabelado}} = 19,00$  ( $\alpha = 0,05$ ), portanto não há significância na diferença entre as duas precisões, O valor tabelado de *t* para 2 graus de liberdade (Graus de liberdade = *n*-1, onde *n* é o numero de medias comparadas) é de 4,30 com intervalo de confiança de 95%. Uma vez que os valores  $t_{\text{calculado}}$  são menores que o  $t_{\text{tabelado}}$  não há diferença significativa nas determinações. demonstrando que os

métodos são estatisticamente iguais. As pequenas diferenças entre os valores obtidos entre o método proposto e o método comparativo confirmam que o eletrodo modificado pode ser empregado na determinação de TBHQ.

**Tabela 4.** Determinação de TBHQ nos extratos de óleo de soja, utilizando o método comparativo e o método proposto.

Amostra <sup>a</sup>	TBHQ ( $\times 10^{-6}$ mol L <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>		Erro Relativo <sup>c</sup>
	Método UV	ImS3-14/GCE	
A	1,100 $\pm$ 0,08	1,013 $\pm$ 0,09	7,90%
		$t_c = 0,87$ $F_c = 1,27$	
B	1,432 $\pm$ 0,09	1,346 $\pm$ 0,07	6,00%
		$t_c = 0,26$ $F_c = 1,65$	

<sup>a</sup> A e B = extratos obtidos à partir do óleo de soja utilizados como amostra;

<sup>b</sup> n=3;  $t_c$ = valor de t calculado;  $t_t$ = valor de t tabelado = 4,30;  $F_c$ = valor de F calculado;  $F_t$ = valor de F tabelado = 19,00.

<sup>c</sup> Erro Relativo = [(método proposto - método comparativo)/(método comparativo)] x 100.

A Tabela 5 apresenta eletrodos modificados desenvolvidos por pesquisadores para a determinação de TBHQ. Pode-se observar que o limite de detecção e a faixa linear do método proposto é comparável ou melhor que os demais relacionados.

**Tabela 5.** Eletrodos modificados para determinação de TBHQ.

Composição do eletrodo	Faixa Linear (mol L <sup>-1</sup> )	Limite de detecção (mol L <sup>-1</sup> )	Referência
GCE – nano Au - Grafeno	0,15x10 <sup>-6</sup> a 300x10 <sup>-6</sup>	0,07x10 <sup>-6</sup>	NIU <i>et al.</i> , 2014.
Nanotubos de carbono - peroxidase	9,92x10 <sup>-6</sup> a 5,9x10 <sup>-6</sup>	2,46x10 <sup>-6</sup>	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2014.
Grafeno – Nanoparticulas de Au	5,0x10 <sup>-5</sup> a 2,3x10 <sup>-4</sup>	5,8x10 <sup>-6</sup>	DU <i>et al.</i> , 2014.
GCE – ativado com oxidação química	1,0x10 <sup>-6</sup> a 1,1x10 <sup>-3</sup>	7,4x10 <sup>-7</sup>	WANG <i>et al.</i> , 2014.
GCE – nanoparticulas de oxido de irídio	2,3x10 <sup>-7</sup> a 2,8x10 <sup>-4</sup>	1,0x10 <sup>-7</sup>	ROUSHANI <i>et al.</i> , 2014.
GCE – eletrólito com surfactante	2,02x10 <sup>-6</sup> a 1,01x10 <sup>-3</sup>	2,3x10 <sup>-7</sup>	ZIYATDINOVA <i>et al.</i> , 2014.
GCE – filme de surfactante zwiteriônico	8,93x10 <sup>-7</sup> a 7,44x10 <sup>-6</sup>	4,72x10 <sup>-7</sup>	Este trabalho

## 5. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi desenvolvido e aplicado um novo eletrodo modificado para determinação do antioxidante TBHQ, os resultados obtidos demonstraram a vantagem de modificar um GCE com o filme do surfactante ImS3-14, principalmente pela simplicidade da modificação. A adição do modificador ImS3-14 conferiu um aumento na resposta eletroquímica, principalmente devido à capacidade das moléculas de surfactante em auxiliarem os mecanismos adsorptivos sobre a superfície do eletrodo e a característica do surfactante sulfonato imidazólico de acelerar os processos de transferência de elétrons.

A utilização do filme como modificador sobre a superfície mostrou ser um processo simples e de elevada facilidade operacional para obter um CME com adequada repetibilidade nas medidas, repetibilidade do eletrodo. Estes fatores contribuem para os baixos limites de detecção ( $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>). Sob condições otimizadas, foi obtida uma faixa linear de trabalho de  $8,93 \times 10^{-7}$  a  $7,44 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> para o TBHQ.

Os resultados obtidos na quantificação de TBHQ utilizando o eletrodo ImS3-14/GCE, e no método comparativo, bem como os estudos de recuperação, mostraram que o eletrodo desenvolvido possibilita a quantificação de antioxidantes em extratos obtidos à partir do óleo de soja empregando a SWV.

Pode-se destacar que o eletrodo proposto associado às características da técnica de SWV representa uma alternativa atraente e complementar para aplicação em análises e controle da quantidade de antioxidantes presentes em óleos de soja.

## REFERÊNCIAS

ANDRIKOPOULOS, N. K.; BRUESCHWEILET, H.; FELBER, H.; TAESCHLER, Ch.; HPLC Analysis of Phenolic Antioxidants, Tocopherols and Triglycerides **J. Am. Oil Chem. Soc.**, 68, 359-364, 1991.

ALEZANDRO, M. R. Determinação de isoflavonas e capacidade antioxidante de alimentos industrializados à base de soja e/ou produtos derivados consumidos no Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). São Paulo, 2009. Universidade de São Paulo.

ALVEZ, M. A. O.; Efeito da adição de Absorvedor Sobre a Qualidade de Óleo de Soja embalado em Polietileno Tereftalato (PET). Florianópolis, 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina.

ARKIN, L.; SINGLETERRY, C. R. Study of Soap Micelles in Non-Aqueous Solvents Using a Fluorescent Dye, **J. Am. Oil Chem. Soc.**, 70, 3965-3965, 1948.

ASGARI, M.; MARAGHEH, M. G.; DAVARKHAH, R.; LOHRASBI, E.; NOZAD, A. G.; Electrocatalytic oxidation of methanol on the nickel-cobalt modified glassy carbon electrode in alkaline medium. **Electrochim. Acta**, 59, 284-289, 2012.

BOLLO, S.; FINGER, S.; STURM, J. C.; NÚÑEZ-VERGARA, J. A.; SQUELLA, J. A. Cyclic voltammetry and scanning electrochemical microscopy studies of the heterogeneous electron transfer reaction of some nitrosoaromatic compounds. **Electrochim. Acta**, 52, 4892-4898, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria nº 1004 de 11 de dezembro de 1998. Atribuição de Funções de Aditivos, Aditivos e seus limites máximos de uso para a Categoria 8 – Carnes e Produtos Cárneos. **DOU – Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1998.

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: R. Ecotox. Meio Ambiente**, 13, 129-146, 2003.

BRUNA, F.; PAVLOVIC, I.; BARRIGA, C.; CORNEJO, J.; ULIBARRI, M. A.; Adsorption of pesticides Carbetamide and Metamitron on organohydrotalcite. **Appl. Clay Sci.**, 33,116-124, 2006.

BRONDANI, D.; SOUZA, B.; SOUZA, B. S.; NEVES, A.; VIEIRA, I. C.; PEI-coated gold nanoparticles decorated with laccase: A new platform for direct electrochemistry of enzymes and biosensing applications. **Biosens. Bioelectron.**, 42, 242-247, 2013.

CAMPOS, G. C. M.; TOLEDO, C. F.; Determinação de BHA, BHT e TBHQ em Óleos e Gorduras por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Braz. J. Food Technol.**, 3, 65-71, 2000.

CAO, X.; LUO, L.; DING, Y.; ZOU, X.; BIAN, R. Electrochemical methods for simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid using cetylpyridine bromide/chitosan composite film-modified glassy carbon electrode. **Sensors Actuat. B-Chem.**, 129, 941-946, 2008.

CARAMIT, R. P.; ANDRADE, A. G. F.; SOUZA, J. B. G.; ARAUJO, T. A.; VIANA, L. H.; TRINDADE, M. A. G.; FERREIRA, V. S.; A new voltammetric method for the simultaneous determination of the antioxidants TBHQ and BHA in biodiesel using multi-walled carbon nanotube screen-printed electrodes. **Fuel**, 105, 306-313, 2013.

CASTILHO, M.; GOULART, L. A.; TEIXEIRA, A. R. L.; RAMALHO, D. A.; TEREZO, A. J.; Development of an analytical method for the determination of *tert*-butylhydroquinone in soybean biodiesel. **Fuel**, 115, 126-131, 2014.

CEBALLOS, C., & FERNANDEZ, H.; Synthetic antioxidants determination in lard and vegetable oils by the use of voltammetric methods on disk ultramicroelectrodes. **Food Res. Int.**, 33, 357-365, 2000.

CHI, Q. e DONG, S.; Flow-injection analysis of glucose at an amperometric glucose sensor based on electrochemical deposition of palladium and glucose oxidase on a glassy carbon electrode. **Anal. Chim. Acta**, 278, 17-23, 1993.

CHEN, C.-N.; HUANG, C.-T.; TSENG, W. J.; WEI, M.-H. Dispersion and rheology of surfactant-mediated silver nanoparticle suspensions. **Appl. Surf. Sci.**, 257, 650-655, 2010.

CRESPILHO, F. N.; ZUCOLOTO, V.; OLIVEIRA Jr., O. N.; NART F. C.; Electrochemistry of Layer-by-Layer Films: a review **Int. J. Electrochem. Sci.**, 1, 194-214, 2006.

CRUZ, J.; KAWASAKI, M.; GORSKI, W.; Electrode Coatings Based on Chitosan Scaffolds. **Anal. Chem.**, 72, 680-686, 2000.

DE LA FUENTE, C., ACUNA, J. A., VAZQUEZ, M. D., TASCÓN, M. L., BATANERO, P. S. Voltammetric determination of the phenolic antioxidants 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole and tert-butylhydroquinone at a polypyrrole electrode modified with a nickel phthalocyanine complex. **Talanta**, 49, 441-452, 1999.

DU, H.; YE, J.; ZHANG, J.; HUANG, X.; YU, C.; A voltammetric sensor based on graphene-modified electrode for simultaneous determination of catechol and hydroquinone. **J. Electroanal. Chem.**, 650, 209-213, 2011.

DU, Y.; GAO, X.; YE, X.; Composition and architecture-engineered Au-SnO<sub>2</sub>/GNs-SWCNTs nanocomposites as ultrasensitive and robust electrochemical sensor for antioxidant additives in foods. **Sensors Actuat. B-Chem.**, 203, 926-934, 2014.

DURST, R. A.; BAUMNER, A. J.; MURRAY, R. W.; BUCK, R. P.; ANDRIEUX, C. P.; Chemically Modified Electrodes: Recommended Terminology and Definitions, **Pure Appl. Chem. - IUPAC**, 69, 1317-1323, 1997.

FATIBELLO-FILHO, O.; CAPELATO, M. D. Biossensores. **Quim. Nova**, 15, 28-39, 1992.

FAN, C. H.; SUZUKI, I.; CHEN, Q.; LI, G. X.; ANZAI, J. I.; An unmediated hydrogen peroxide sensor based on a hemoglobin-SDS film modified electrode. **Anal. Lett.**, 33, 2631-2644, 2000.

FENG, C.; LI, M.; ZHANG Z.; SHEN, Z.; SUGIURA N.; Electrochemical reduction of nitrate using various anodes and a Cu/Zn cathode. **Electrochem. Commun.** 11, 1853–1856, 2009.

FERNANDES, S. C.; Biossensores eletroquímicos para compostos fenólicos usando novos materiais. Florianópolis, 2012. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina.

FERNANDES, S. C. MOCCELINI, S. K.; SCHEEREN, P. M.; DUPONT, J. HELLER, M.; VIEIRA, I. C.; Biosensor for chlorogenic acid based on an ionic liquid containing iridium nanoparticles and polyphenol oxidase. **Talanta**, 79, 222-228, 2009.

FERNANDES, S. C.; SANTOS, D. M. P. O.; VIEIRA, I. C.; Genipin-Cross-Linked Chitosan as a Support for Laccase Biosensor. **Electroanal.** 25, 557-566, 2013.

FERNANDES, S. C.; SOUZA, F. D.; SOUZA, B. S.; NOME, F.; VIEIRA, I. C.; Gold nanoparticles dispersed in zwitterionic surfactant for peroxidase immobilization in biosensor construction. **Sensors Actuat. B-Chem.**, 173, 483-490, 2012.

FEI, J.; DING, Y.; CAO, A.; Biocompatible hybrid film of  $\beta$ -cyclodextrin and ionic liquids: A novel platform for electrochemical biosensing. **Sensors Actuat. B-Chem.**, 155, 632-638, 2011.

FISHER, A. C. Electrode Dynamics. **Oxford Chemistry Primers, Oxford**, 1996. 96 p.

FRANZOI, A. C.; ZAPP, E. BRONDANI, D.; VIEIRA, I. C.; Incorporação de líquidos iônicos e nanopartículas metálicas na construção de sensores eletroquímicos. **Quim. Nova**, 34, 1042-1050, 2011.

FRANZOI, A. C.; MOCCELINI, S. K.; VIEIRA, I. C.; DUPONT, J.; SCHEEREN, C. W.; A novel support for laccase immobilization: Cellulose acetate modified with ionic liquid and application in biosensor for methyl dopa detection. **Biosens. and Bioelectron.**, 26, 3549-3554, 2011.

GAMBARA NETO, F. F.; Classificação de Óleos Vegetais Utilizando Voltametria de Onda Quadrada e Métodos Quimiométricos. João Pessoa, 2008. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal da Paraíba.

GAMBOA, J. C. M.; PETRI, D. F. S.; BENEDETTI, T. M.; GONÇALVES, V. R.; BERTOTTI, M.; Morphology, microstructure and electrocatalytic properties of activated copper surfaces. **J. Braz. Chem. Soc.**, 23, 120-123, 2012.

GIROTTI, E. M.; DE PAOLI, M.-A.; Transporte de massa em polímeros intrinsecamente condutores: importância, técnicas e modelos teóricos. **Quím. Nova**, 22, 358-368, 1999.

GUPTA, M.K. Processing to improve soybean oil quality. **Inform.**, 4, 1267-1272, 1993.

GUO, L., XIE, M. Y., YAN, A. P., WAN, Y. Q. & WU, Y. M. Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS. **Anal. Bioanal. Chem.**, 386, 1881-1887, 2006.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. 876 p.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **J. Agric. Food Chem. Toxicol.**, 53, 1841-1856, 2005.

IVASKA, A.; WEI, D.; Applications of ionic liquids in electrochemical sensors. **Anal. Chim. Acta**, 607, 126-135, 2008.

JAGANNATHAN, N. R.; VENKATESWARAN, K.; HERRING, F. G.; PATEY, G. N.; WALKER, D. C.; Localization of methanol, ethanol, and 2-propanol at micelles in water: an NMR T1-relaxation study. **J. Phys. Chem. A**, 91, 4553-4555, 1987.

IZQUIERDO-GIL, M. A.; BARRAGÁN, V. M.; VILLALUENGA, J. P. G.; GODINHO, M. P.; Water uptake and salt transport through Nafion cation-exchange membranes with different thicknesses. **Chem. Eng. Sci.** 72, 1-9, 2012.

KATZ, E.; LOTZBEYER, T.; SCHLERETH, D. D.; SCHUHMANN, W. SCHIMDT, H-L.; Electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide coenzymes at gold and platinum electrode surfaces modified with a monolayer of pyrroloquinoline quinone. Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  cations. **J. Electroanal. Chem.**; 373, 189-200, 1994.

LUPU, S.; LETE, C.; MARIM, M.; TOTIR, N.; BALAURE, P. C.; Electrochemical sensors based on platinum electrodes modified with hybrid inorganic-organic coatings for determination of 4-nitrophenol and dopamine. **Electrochim. Acta**, 54, 1932-1938, 2009.

LANG, A.C.; FLEISCHER, M.; MEIXNER, H.; Surface modifications of  $\text{Ga}_2\text{O}_3$  thin film sensors with Rh, Ru and Ir clusters. **Sensors Actuat. B-Chem.**, 66, 80-84, 2000.

LEHNINGER, A. L.; NELSO, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 2 ed., São Paulo: Sarvier, 1995.

LIU, X. J.; SHANG, L. B.; SUN Z. Y.; LI G. X.; Direct electrochemistry of hemoglobin in dimethyldioctadecyl ammonium bromide film and its electrocatalysis to nitric oxide. **J Biochem Biophys. Methods**, 62, 143-151, 2005.

MAHMUD, I.; SAMED, A. J. F.; HAQUE, M. A.; SUSAN, M. A. B. H. Electrochemical behavior of anthraquinone in aqueous solution in presence of a non-ionic surfactant. **J. Saudi Chem. Soc.**, 15, 203-208, 2011.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica, **Quím. Nova**, 24, 87-93, 2001.

MATTEA, F.; CARDARELLI, D. A.; DAGHERO, J. D.; MATTEA, M. A. Natural antioxidants obtained with supercritical CO<sub>2</sub>. In: **Encontro brasileiro de fluidos supercríticos**. Caderno de Resumos do VEBFS. Florianópolis: EQA/CTC - UFSC, 70, 2004.

MEDEIROS, R. A.; FATIBELLO-FILHO, O.; ROCHA-FILHO, R. C.; Simultaneous voltammetric determination of phenolic antioxidants in food using a boron-doped diamond electrode. **Food Chem. Toxicol.** 123, 886-891, 2010.

MELO, A. F. Desenvolvimento preliminar de um biossensor enzimático para determinação de taninos hidrolisáveis. Rio de Janeiro, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim SBCTA**, Campinas, 36, 1-11, 2002.

MELLO, L. D.; KUBOTA, L. T. Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. **Food Chem. Toxicol.** 77, 237-256, 2002.

MORETTO, E.; FEET, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras vegetais na Indústria de Alimentos**. São Paulo: Varela Editora e Livraria, 1998.

MOREIRA, F. T. C.; SHARMA, S.; DUTRA, R. A. F.; NORONHA, J. P. C.; CASS, A. E. G.; SALES, M. G. F.; Protein-responsive polymers for point-of-care detection of cardiac biomarker. **Sensors Actuat. B-Chem.**, 196, 123-132, 2014.

MUSAMEH, M.; WANG, J.; MERKOCI, A.; LIN, Y.; Low-potential stable NADH detection at carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes. **Electrochem. Commun.** 4, 743-746, 2002.

MURRAY, R.; MOSES, P. R.; WIER, L.; Chemically modified tin oxide electrode. **Anal. Chem.**, 47, 1882-1886, 1975.

NI, Y. N., WANG, L., & KOKOT, S. Voltammetric determination of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, propyl gallate and tertbutylhydroquinone by use of chemometric approaches. **Anal. Chim. Acta**, 412, 185-193, 2000.

NI, Y., KOKOT, S.; LIN, X.; Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants. **Anal. Chim. Acta.**, 765, 54-62, 2013.

NASSAR, A.-E. F.; WILLIS, W. S.; RUSLING, J. F.; Electron transfer from electrodes to myoglobin: facilitated in surfactant films and blocked by adsorbed biomacromolecules. **Anal. Chem.**, 67, 2386-2392, 1995.

PERSSON, B.; LAN, H. L.; GORTON, L.; OKAMOTO, Y.; HALE, P. D.; BOGUSLAVSKY, L.I.; SKOTHEIM, T.; Amperometric biosensors based on electrocatalytic regeneration of NAD<sup>+</sup> at redox polymer-modified electrodes. **Biosens. Bioelec.**, 8, 81-88, 1993.

PEREIRA, D.A.; JABONKLA, F.H.; SZPIZ, R.R.; LAGO, R.C.A. e CABRAL, C. Study of twenty principal soybean varieties cultivated in Brazil with respect to quantity and quality of oil. **Proceedings/Anais International Meeting on Fats and Oils Technology Symposium and Exhibition**. Universidade Estadual de Campinas, 147-149, 1991.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T.; Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Quím. Nova**, 25, 1012-1021, 2002.

PIGARRÓN, J. M.; RUIZ, M. A.; BLÁZQUEZ, M. G.; Electrocatalytic and flow-injection determination of the antioxidant *tert.* - butylhydroxyanisole at a nickel phthalocyanine polymer modified electrode. **Anal. Chim. Acta**, 305, 49-56, 1995.

PUSCH, J. M. E.; BRONDANI, D.; LUZA, L.; DUPONT, J.; VIEIRA, I. C.; Pt-Pd bimetallic nanoparticles dispersed in an ionic liquid and peroxidase immobilized on nanoclay applied in the development of a biosensor. **Analyst**, 138, 4898-4906, 2013.

QUINTANA, H.; RAMÍREZ J. L.; RUBIO, E. F.; MARQUEZ E.; GONZÁLEZ, G.; GONZÁLEZ, G. e URUCHURTO, J.; Electrochemical Sensor Based on Polypyrrole for the Detection of Heavy Metals in Aqueous Solutions. **ECS Trans.**, 47, 265-273, 2013.

QUINTEIRO, L. M. C.; VIANNI, R. Características e estabilidade de óleos de soja. **Ciênc. e Tec. de Alim.**, 15, 29-36, 1995.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N.; Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quím. Nova**, 29, 755-760, 2006.

RASTGAR, S.; SHAHROKHIAN, S.; Nickel hydroxide nanoparticles-reduced graphene oxide nanosheets film: Layer-by-layer electrochemical preparation, characterization and rifampicin sensory application. **Talanta**, 119, 156-163, 2014.

RAJBONGSHI, J.; DAS, D. K.; MAZUMDAR, S. Direct electrochemistry of dinuclear Cu: A fragment from cytochrome c oxidase of *Thermus thermophilus* at surfactant modified glassy carbon electrode. **Electrochim. Acta**, 55, 4174-4179, 2010.

ROUSHANI R.; SARABAEI, M.; Electrochemical detection of butylated hydroxyanisole based on glassy carbon electrode modified by iridium oxide nanoparticles. **J. Electroanal. Chem.**, 717, 147-152, 2014.

ROBLEDO, S. N.; TESIO, A. Y.; CEBALLOS. C. D.; Electrochemical ultra-micro sensors for the determination of synthetic and natural antioxidants in edible vegetable oils. **Sensors Actuat. B-Chem.**, 192, 467-473, 2014.

SAADATI, S.; SALIMIA, A.; HALLAJA, R.; ROSTAMIA, A.; Direct electron transfer and electrocatalytic properties of immobilized hemoglobin onto glassy carbon electrode modified with ionic-liquid/titanium-nitride nanoparticles: Application to nitrite detection. **Sensors Actuat. B-Chem.**, 191, 625-633, 2014.

SAMPATH, S. e LEV, O.; Electrochemical oxidation of NADH on sol-gel derived, surface renewable, non-modified and mediator modified composite-carbon electrodes. **J. Electroanal. Chem.**, 446, 57-65, 1998.

SHRESTHA, R. G.; SHRESTHA, L. K.; ARAMAKI, K. Formation of wormlike micelle in a mixed amino-acid based anionic surfactant and cationic surfactant systems. **J. Colloid Interface Sci.**, 311, 276-284, 2007.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A.; Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Quim. Nova**, 22, 94-103, 1999.

SILVA, B. V. M.; CAVALCANTI, I. T.; MATTOS, A. B.; MOURA, P.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; DUTRA, R. F. Disposable immunosensor for human cardiac troponin T based on streptavidin-microsphere modified screen-printed electrode. **Biosens. Bioelectron.**, 26, 1062-1067, 2010.

SILVA, M. M. S.; DIAS, A. C. M. S.; SILVA, B. V. M.; GOMES-FILHO, S. L. R.; KUBOTA, L. T.; GOULART, M. O. F.; DUTRA, R. F.; Electrochemical detection of dengue virus NS1 protein with a poly(allylamine)/carbon nanotube layered immunoelectrode. **J. Chem. Tech. Biotechnol.**, 90, 194-200, 2014.

SOUZA, B. S.; LEOPOLDINO, E. C.; TONDO, D. W.; DUPONT, J.; NOME, F. Imidazolium-based zwitterionic surfactant: a new amphiphilic pd nanoparticle stabilizing agent. **Langmuir**, 28, 833-840, 2012.

SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Quim. Nova**, 26, 81-89, 2003.

OLIVEIRA, T. S. GRAWE, G. F. TEREZO, A. Enzymatic biosensors based on inga-cipo peroxidase immobilised on sepiolite for TBHQ quantification. **Analyst**, 139, 2214-2220, 2014.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

STUCKEY, B. N., OSBORNE, C. E. A review of antioxidant analysis in food products. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, 42, 228-232, 1965.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA J. N.; Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos  
Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, 14, 263-269, 2012.

TANFORD, C. Theory of Micelle Formation in Aqueous-Solutions, **J. Phys. Chem.**, 78, 2469-2479, 1974.

TAKEMOTO, E.; TEIXEIRA-FILHO, J.; GODOY, H. T.; Validação de Metodologia para Determinação Simultânea dos Antioxidantes Sintéticos em óleos Vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. **Quim. Nova**, 32, 1189-1194, 2009.

TONDO, D. W.; LEOPOLDINO, E. C.; SOUZA, B. S.; MICKE, G. A.; COSTA, A. C.O.; FIEDLER, H. D.; BUNTON, C. A.; NOME, F. Synthesis of a new zwitterionic surfactant containing an imidazolium ring. evaluating the chameleon-like behavior of zwitterionic micelles. **Langmuir**, 26, 15754–15760, 2010.

TREVISAN, M. G. e POPPI, R. J.; Química Analítica de Processos. **Quim. Nova**, 29, 1065-1071, 2006.

XU, J.-J.; DU, Y.; LUO X.-L.; CHEN, H.-Y.; A simple method to fabricate a chitosan-gold nanoparticles film and its application in glucose biosensor. **Bioelectrochemistry**, 70, 342–347, 2007.

WEISS, T. J. **Food Oils and Their Uses**. London: The Avi Publishing Company, Inc., 1970.

WANG, J. **Analytical electrochemistry**. New York: J. Wiley, 1994. 108 p.

WANG, Z.; YANG, F.; QIN, X. LUO, J.; Voltammetric determination of TBHQ at a glassy carbon electrode surface activated by *in Situ* chemical oxidation. **Analyst**, 139, 3622-3628, 2014.

WANG, J.; LI, M.; SHI, Z.; LI, N.; GU, Z.; Direct electrochemistry of cytochrome c at a glassy carbon electrode modified with single-wall carbon nanotubes. **Anal. Chem.**, 74, 1993-1997, 2002.

VITTAL, R.; GOMATHI, H.; KIM, K.-J. Beneficial role of surfactants in electrochemistry and in the modification of electrodes, **Adv. Colloid Interface Sci.**, 119, 55-68, 2006.

XU, Y.; HU, C.; HU, S.; Single-chain surfactant monolayer on carbon paste electrode and its application for the studies on the direct electron transfer of hemoglobin. **Bioelectrochemistry**, 74, 254-259, 2009.

YI, H.; WU, K.; HU, S.; Adsorption stripping voltammetry of phenol at Nafion-modified glassy carbon electrode in the presence of surfactants. **Talanta**, 55, 1205-1210, 2001.

YUAN, S.; CHEN, W.; HUT, S.; Fabrication of TiO<sub>2</sub> nanoparticles/surfactant polymer complex film on glassy carbon electrode and its application to sensing trace dopamine. **Mat. Sci. Eng. C – Biomim.**, 25, 479-483, 2005.

YANG, P.; GAO, X.; WANG, L.; WU, Q.; CHEN, Z.; LIN, X.; Amperometric sensor for ascorbic acid based on a glassy carbon electrode modified with gold-silver bimetallic nanotubes in a chitosan matrix. **Microchim. Acta**, 181, 231-238, 2014.

YAOA, Y.; ZHANGA, L.; XUA, J.; WANGA, X.; DUANB, X.; WENC, Y.; Rapid and sensitive stripping voltammetric analysis of methylparathion in vegetable samples at carboxylic acid-functionalized SWCNTs– $\beta$ -cyclodextrin modified electrode. **J. Electroanal. Chem.**, 713, 1-8, 2014.

ZAPP, E.; SOUZA, F. D.; SOUZA, B. S.; NOME, F.; NEVES, A.; VIEIRA, I. C.; A bio-inspired sensor based on surfactant film and Pd nanoparticles. **Analyst**, 138, 509-517, 2013.

ZAPP, E.; WESTPHAL, E.; GALLARDO, H.; SOUZA, B.; VIEIRA, I. C.; Liquid crystal and gold nanoparticles applied to electrochemical immunosensor for cardiac biomarker. **Biosens. Bioelectron.**, 59, 127-133, 2014.

ZIYATDINOVA, G. K.; .ZIGANSHIMA, E. R; OS'KINA, K. S.; BUDNIKOY, H. C. Voltammetric determination of sterically hindered phenols in surfactant-based self-organized media. **J. Anal. Chem.**, 69, 750-757, 2014.

ZHOU, D-M.; JU, H-X.; CHEN, H-Y.; Catalytic oxidation of dopamine at a microdisk platinum electrode modified by electrodeposition of nickel hexacyanoferrate and Nafion®. **J. Electroanal. Chem.** 408, 219-223, 1996.

ZOU, L.; LI, Y.; CAO, S.; YE, B.; A Glassy Carbon Electrode Modified with Langmuir Blodgett Film Composed of DNA and Polyaniline for the Sensitive Determination of Salbutamol. **Electroanal.**, 26, 1051-1058, 2014.