DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE Cu EM COMBUSTÍVEL USANDO ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO POR SAIS DE TETRAZÓLIOS

VOLTAMETRIC DETERMINATION OF Cu IN FUEL USING CHEMICALLY MODIFIED ELECTRODE BY TETRAZOLES

MOREIRA, Lucy Rose de M^a O.^{1*}; SILVA, Janiciara Botelho²; FURTADO, Jethânia Glasses Cutrim³, MARQUES; Aldaléa Lopes Brandes³, BEZERRA, Cícero Wellington Brito⁴, MARQUES, Edmar Pereira⁴

¹ Universidade Federal do Maranhão - UFMA, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal- REDE BIONORTE, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga - CEP 65080-805, São Luís – MA, Brasil, (Fone: +55 98 3272 8681)

² Instituto Federal do Piauí – IFPI, BR-402, Km 3, s/n - Baixa do Aragão, Parnaíba - PI, 64215-000, fone: (86) 3323-7466

³ Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Departamento de Tecnologia Química, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga - CEP 65080-805, São Luís – MA, Brasil
(Fone: +55 98 3272 8683; fax: +55 98 3272 8683)

⁴ Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Departamento de Química, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga - CEP 65080-805, São Luís – MA, Brasil, (Fone: +55 98 3272 9207)

** Autor correspondente
e-mail: lucyrose@ig.com.br*

Received 28 March 2018; received in revised form 06 December 2018; accepted 10 December 2018

RESUMO

Este artigo descreve um procedimento analítico para a determinação de cobre em amostras de combustível, usando o eletrodo de grafite modificado pirólise do plano basal (BPPGME) por sais de tetrazólio: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT)Br]. A determinação de metais em combustível é um assunto de relevância ambiental por considerar que estes elementos podem ser liberados para a atmosfera ocasionando danos ao meio ambiente e a saúde. Amostras de combustíveis (etanol, biodiesel e gasolina) foram previamente digeridas em forno de microondas usando meios de ácido nítrico e peróxidos (biodiesel) e apenas ácido nítrico (álcool e gasolina). O íon metálico estudado reagiu na superfície do eletrodo quimicamente modificado para produzir alterações marcadas no voltammogramas correspondente. A fim de determinar a espécie de interesse, os melhores resultados foram, em pH 5,0 para cobre e pH 6,0 para outras espécies. A escala de concentração para o cobre era $2,0 \times 10^{-6}$ a $1,25 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. O limite de detecção em combustíveis de amostras (etanol, biodiesel ou gasolina), por ARV foi de $2,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O procedimento avaliado apresentou resultados satisfatórios do ponto de vista analítico e estatístico e, portanto, foi considerado adequado para a matriz analisada.

Palavras-chave: voltametria, íons metálicos, biocombustíveis.

ABSTRACT

This article describes an analytical procedure for the determination of copper in fuel samples using the modified graphite electrode basal pyrolysis (BPPGME) by tetrazolium salts: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium (MTT) Br]. The determination of metals in fuel is an issue of environmental relevance because it believes that these elements can be released into the atmosphere causing damage to the environment and health. Fuel samples (ethanol, biodiesel and gasoline) were previously digested in a microwave oven using nitric acid and peroxides (biodiesel) and only nitric acid (alcohol and gasoline). The metal ion studied reacted on

the surface of the chemically modified electrode to produce marked changes in the corresponding voltammograms. In order to determine the species of interest the best results were at pH 5.0 for copper and pH 6.0 for other species. The concentration scale for copper was 2.0×10^{-6} at $1.25 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. The limit of detection in fuels of samples (ethanol, biodiesel or gasoline), by ARV was $2.5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. The accuracy of the proposed technique was compared by providing similar results, ie the copper concentration in the samples analyzed by both techniques at a non-statistically different 95% certainty level.

Keywords: voltammetry, Metal ions, biofuels.

INTRODUÇÃO

Os primeiros sais de tetrazólios e formazans foram descobertos pouco antes do começo do Século XX (BAMBERGER, 1969). Alguns destes compostos foram estudados por Kuhn e Jerchel, desde 1941, devido as suas possíveis aplicações em pesquisas bioquímicas.

Os primeiros relatos sobre compostos derivados do tetrazólio ocorreram no período de 1939 a 1945 sobre aplicações biológicas. Logo foi observado que esses sais apresentam produtos de redução que possuíam coloração vermelho púrpura. Esses produtos de redução passaram a ser chamados de formazan (RUTENBERG, 1950).

Embora alguns sais derivados do tetrazólio tenham sido usados extensivamente em estudos biológicos nos últimos anos, os comportamentos eletroquímicos desta classe de compostos têm sido adequadamente discutidos na literatura, provavelmente pelo fato de depositarem-se na superfície do eletrodo quando reduzido em água, resultando em um pobre comportamento eletroquímico em solução aquosa. Além da importância em se determinar metais tóxicos em baixas concentrações, os metais pesados ocorrem no ambiente aquático sob diversas formas: em solução na forma iônica ou na forma de complexos solúveis orgânicos ou inorgânicos; formando ou ficando retidos às partículas coloidais minerais ou orgânicas; ficando retidos no sedimento; ou incorporados à biota (AGUIAR, 2002) a rapidez e abrangência destas informações são de extrema relevância para aplicação de políticas de saúde e ambientais, tem despertado grandes interesses nas pesquisas.

Esses compostos são facilmente identificados por técnicas analíticas, sendo que a forma oxidada é solúvel em etanol e em solventes aquosos, enquanto que a sua forma reduzida, fortemente colorida, é insolúvel em água. Todos os sais tetrazólio são obtidos dos seus respectivos sais formazan os quais são

sintetizados por métodos clássicos (BAMBERGER, 1969). As informações sobre a síntese de formazan têm sido obtidas a partir de três fontes principais: estudos polarográficos, espectroscópicos e de ressonâncias spin (ERS), (JAMBOR, 1957, 1960). Os estudos polalográficos contribuíram de forma importante para elucidação da formação dos intermediários a partir da reação com o sal de tetrazólio. Um dos grandes colaboradores para este estudo, (JAMBOR 1960 apud MARQUES, 1995), na década de 60, relatou brevemente que utilizando-se a polarografia a redução dos sais de tetrazólio em meio ácido leva a formação de formazan de forma lenta, ocorrendo antes a formação de vários intermediários até a obtenção do produto final formazan. (LACAN, 1974).

A redução dos sais derivados do tetrazólio tem sido estabelecida por diversos autores segundo a reação mostrada a seguir na figura 1. O tetrazólio possui uma estrutura cíclica na qual o R representa diversos radicais que podem se ligar a estrutura.

Figura 1. Processo de redução da espécie tetrazólio a formazan onde R representa diversos radicais que podem se ligar a estrutura tetrazólio.

Aspectos Gerais Sobre o Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil-2H Tetrazólio-(MTT)Br.

O [MTT]Br pertence à família de sais tetrazólio tais como o 2,3,5- trifeniltetrazólio e Azul Nitro-Tetrazólio Cloreto cujo mecanismo de redução tem sido muito estudado em solução (MARQUES, 1988). Nos estudos eletroquímicos têm sido observadas duas etapas de redução

sucessivas, sendo que na primeira há a formação de um radical intermediário, confirmado por estudos de ressonância eletrônica de spin, e na segunda forma-se uma espécie formazan na qual o anel do tetrazólio é aberto (MARQUES, 1988).

O MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil-2H tetrazólio brometo) é um composto de cor amarelo, de massa molecular $414,32 \text{ g mol}^{-1}$ que na forma reduzida (FORMAZAN) possui uma coloração roxa, daí o seu grande emprego em estudos envolvendo células vivas (MOSMANN, 1983). A Figura 2 mostra a estrutura do composto MTT sendo convertida, na corresponde forma reduzida formazan. A absorbância desta solução colorida pode ser quantificada pela medição em certo comprimento de onda (geralmente entre 500 e 600 nm) em um espectrofotômetro.

Figura 2. Fórmula estrutural do composto MTT

O cobre é um dos principais metais presentes no corpo humano. Encontra-se distribuído praticamente em todo o organismo, mas em diferentes concentrações, o que indica seu papel funcional. A toxicidade do cobre varia em relação a aspectos do ambiente de exposição, da sua forma química e em relação ao organismo e espécies expostas. O cobre, quando em altas quantidades passa a ser tóxico, tanto ao meio ambiente, quanto aos seres vivos. Quando permanece no solo, afeta fortemente os minerais e matéria orgânica, e por não se fragmentar no ambiente, pode se acumular em plantas e animais. (OLIVEIRA, 2018).

O excesso de cobre solúvel no organismo humano (hipercupremia) pode ser tóxico devido à afinidade do cobre com grupos SH (tióis) de muitas proteínas e enzimas, causando doenças como epilepsia, melanomas, artrite, reumatóide e doenças psiquiátricas (AZEVEDO, 2003).

Este trabalho tem como objetivo avaliar o teor dos íons de cobre em amostras de álcool, biodiesel e gasolina. Através de procedimentos eletroanalíticos após pré-tratamento ácido das

amostras, uma vez que há necessidade de desenvolvimento de novos métodos de análise para matrizes combustíveis.

MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes

Ácido nítrico HNO_3 (Suprapuro – MERCK), Ácido Clorídrico (HCl) – MERCK, Ácido Acético (CH_3COOH) – MERCK, Ácido Orto-Fosfórico (H_3PO_4) – MERCK, Ácido Bórico (H_3BO_3) – MERCK, Perclorado de Sódio ($\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) – MERCK, Hidróxido de Sódio (NaOH) – ALDRICH, Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) – MERCK, Ferrocianeto de Potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) – MERCK, Gás Nitrogênio supra-seco da WHITE MARTINS, Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil-2H tetrazólio- (MTT)Br – MERCK, Sulfato de Cobre (II) - ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)- MERCK, Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) – CRQ

Equipamentos

Nos experimentos Voltamétricos empregou-se um potenciostato BAS automático modelo CV-50W, acoplado a um microcomputador para registro e aquisição das medidas. Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) modelo Vista-pró, simultâneo e com configuração axial (Varian 720-ES).

Parâmetro Análise por voltametria de Redissolução

Para as análises de varredura anódica seguiu-se os parâmetros descritos na Tabela 1, após o eletrodo ser limpo este era colocado em uma solução de tampão BR no pH desejado, era deaerado por 10 minutos e registrava-se o voltamograma do eletrodo limpo, em seguida era colocado em uma solução de tetrazólio de interesse (MTT) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$

Coleta e preparo das amostras

As amostras de álcool e gasolina foram coletadas em postos de venda de combustíveis do município de São Luís – MA, em frasco de polietileno com capacidade de 5L estéreis (Figura 3). A amostra de Biodiesel de sebo bovino (B100) foi fornecida pelo Laboratório de Análises e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo, Gás Natural e Bicompostíveis

(LAPQAP) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Esta amostra é (foi) originada do Programa Interlaboratorial de Biodiesel.

Figura 3. Frasco com gasolina coletado no posto de combustível em São Luis- MA.
Fonte: O próprio autor

Preparo das soluções Procedimento Experimental para a modificação do eletrodo

Para a modificação do eletrodo grafite pirolítico recém-polido, o mesmo era colocado em uma célula contendo eletrólito suporte (tampão BR) com o pH selecionado previamente para o registro do voltamograma do eletrodo limpo.

A seguir em uma célula eletroquímica adicionou-se 10 mL do tampão BR, sendo o pH da solução ajustado para 6,0 com adições de NaOH (1 mol.L^{-1}). A solução foi primeiramente deaerada com nitrogênio por 10 minutos. Em seguida registravam-se os voltamogramas cíclicos. O eletrodo era imerso em uma solução de tetrazólio de interesse (MTT) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, rapidamente lavado com água purificada e transferido para a mesma célula com tampão Britton Robinson e registrava-se o voltamograma com o tetrazólio.

Digestão das Amostras (Álcool, Biodiesel e Gasolina)

Para a digestão das amostras de álcool, biodiesel e gasolina em sistema fechado com micro-ondas como fonte de energia foi utilizado

um sistema convencional de digestão com cavidade MULTIWAVE 3000 (Anton Paar) equipado de um rotor com 4 frascos de quartzo. Neste trabalho utilizou-se o programa de aquecimento proposto pelo fabricante do equipamento.

Para a decomposição da amostra de etanol, colocou-se no frasco de quartzo 500 μL da amostra etanol com 5 mL de ácido nítrico (supra-puro) e 2 mL de água deionizada em seguida utilizava-se os parâmetros da tabela 2. Para o biodiesel, colocou-se no frasco de quartzo 65,6 μL da amostra de biodiesel com 4 mL de água deionizada, 3 mL ácido nítrico (supra-puro), 3 mL de peróxido de hidrogênio 0,5 mL de ácido clorídrico em seguida utilizava-se os parâmetros da tabela 2. Para a gasolina, colocou-se no frasco de quartzo 200 μL da amostra de gasolina e 4 mL de ácido nítrico (supra-puro) e 2 mL de água deionizada em seguida utilizaram-se os parâmetros da tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros para digestão das amostras de combustíveis (álcool, biodiesel, gasolina).

Amostra	Potencia (W)	Rampa (W/min)	Tempo (min)
Álcool	400	15	20
Biodiesel	500	15	20
Gasolina	700	15	20
Limpeza	700	5	15

Fonte: próprio Autor, 2018.

Após a digestão das amostras à solução resultante era adicionada solução de NaOH (hidróxido de sódio) até atingir pH=6,0 em seguida transferiu-se 2 mL desta solução para uma célula eletroquímica contendo 8 mL de tampão BR pH 6,0 totalizando em volume de 10 mL.

Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado – (ICP OES)

Utilizou-se um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado modelo Vista-pró, simultâneo e com configuração axial (Varian 720-ES). As intensidades de emissão foram medidas nas linhas mais sensíveis e livres de interferência espectral, sendo em 324 a 754 nm para Cu (II).

A alta temperatura e a atmosfera inerte do argônio no plasma minimizam as

interferências não espectrais, melhorando a sensibilidade, precisão e a exatidão da técnica. A grande vantagem da ICP OES é a possibilidade de análises multielementares para uma ampla faixa de concentração com limites de detecção geralmente na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$. Entretanto, a introdução das amostras é realizada, principalmente, sob a forma líquida e como soluções aquosas (CHAVES, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos da adsorção da espécie de MTT na superfície do EGP em função do pH do meio, apresentado na Figura 4, indica dependência do sistema em função da concentração do meio, onde se observa que à medida que o pH aumenta há uma diminuição da variação do potencial entre os dois picos anódicos e os catódicos, isto é, aumenta o caráter de reversibilidade (MARQUES, 1988).

Em $\text{pH}=2,0$ os picos (I/II) encontram-se sobrepostos, e à medida que aumenta-se o pH para 4,0 observa-se o desdobramento destes picos, registrados em -0,19 e -0,25 volts. Este comportamento se acentua à medida que o pH aumenta, e nos pHs mais básicos (5 e 6) temos os 2 picos catódicos e 2 anódicos melhor definidos, por exemplo, em $\text{pH } 6,0$, picos I e II em -0,060 e -0,320 e I' e II' em +0,280 e -0,270. Até que em $\text{pH}=12,0$ esta separação entre os pares (I/I' e II/II') torna-se mais evidente, ou seja, assumindo um caráter reversível. Conforme visto, em $\text{pH } 12$ os picos catódicos I e II estão nos potenciais em -0,180 e -0,750 V e processos anódicos I' e II' em -0,150; -0,720 V respectivamente.

Com base nos voltamogramas da Figura 4 podemos dizer que à medida que o pH aumenta ocorre uma maior separação entre os processos anódicos e catódicos concomitantemente com o aumento da reversibilidade. Isto pode ser evidenciado no voltamograma em $\text{pH } 12$, no qual os pares I e I' ; II e II' estão sobrepostos, aproximadamente nos mesmos potenciais (I e I' em aproximadamente -0,150V e II e II' em aproximadamente -0,750V)

Reação da espécie metálica Cu^{2+} com MTT na superfície do EQM

A complexação do íon Cu (II) pelo composto MTT na superfície do eletrodo, foi

realizada em circuito aberto, ou seja, o eletrodo previamente modificado por adsorção espontânea do composto MTT foi exposto por alguns segundos em uma solução de Cu (II) , sem nenhuma excitação eletroquímica.

O eletrodo usado para registrar o voltamograma, foi, retirado da célula eletroquímica, lavada e imerso em uma solução de sulfato de cobre (II) $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ por alguns segundos, então é transferido de volta para a célula eletroquímica contendo eletrólito suporte tampão Britton-Robinson no pH desejado registrado o voltamograma.

A reação do Cobre (II) com o MTT na superfície do eletrodo modificado está evidenciado na Figura 5, onde temos o voltamograma característico do MTT em tampão BR (linha cheia) e após imersão deste em solução de cobre (linha preta pontilhada). Conforme visto nessa Figura ocorre o desaparecimento dos picos anódicos e catódicos do MTT com o concomitante aparecimento de dois novos picos um anódico em (+0,380V e -0,167V) e o catódico em (-0,21V e -0,20V).

Neste caso, a grande alteração no voltamograma característico do processo redox atribuído ao MTT, com o surgimento de novos picos, como mencionado cima, pode ser atribuída ao complexo MTT-Cu formado na superfície do eletrodo. Com os estudos de otimização do método observou-se que o complexo tem melhor evidencia entre $\text{pH}=5,0$ e 6,0.

DETERMINAÇÃO DE COBRE POR VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO EMPREGANDO O EQM.

Tendo em vista que os eletrodos quimicamente modificados pelas espécies tetrazólios estudadas por voltametria cíclica apresentaram sensibilidade eletroanalítica para o traço cobre, buscou-se uma técnica mais sensível para detecção dos íons metálico para o uso destes eletrodos como sensores analíticos na determinação de traço de metais.

Os voltamograma disposto na figura 6 foram obtidos com eletrodo quimicamente modificado pelo MTT em tampão BR $\text{pH } 6,0$ para concentrações Cu (II) na faixa de $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$. O voltamograma (a) corresponde ao EQM modificado por MTT e os

demais as correspondentes varreduras do EQM em solução contendo concentrações diferentes de Cu (II). Analisando o conjunto de voltamograma da Figura 6, verifica-se uma diminuição no pico do tetrazólio, em torno de 300 mV, o qual é dependente da concentração do cobre.

Os dados dos voltamogramas da figura abaixo de corrente e concentração—de cobre foram utilizados para construir a curva analítica visto na Figura 6 (B). A faixa de concentração empregada foi de $2,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-9}$ mol.L⁻¹ a qual possui uma boa linearidade com coeficiente de correlação igual a 0,99021.

APLICAÇÃO DO ELETRODO EM AMOSTRA DE COMBUSTIVEL

Após o estudo da viabilidade da utilização do Eletrodo Quimicamente Modificado por Espécies Tetrazólio para a determinação de íons metálicos em meio aquoso, foram feitos testes voltamétricos com vistas a utilização destes EQM's em amostras de combustíveis (álcool, biodiesel e gasolina).

Tendo em vista a complexidade destas matrizes combustíveis, optou-se por um pré-tratamento, o qual consistiu na digestão ácida da matriz conforme descrito na parte experimental.

EQM (MTT-Cu) em amostra de Álcool

Para a amostra de álcool digerida seguiu-se o mesmo procedimento descrito anteriormente. Na Figura 7 estão dispostos os voltamogramas obtidos com o eletrodo quimicamente modificado com o MTT em álcool digerido com as respectivas adições de cobre.

Na Figura 7 (A) o segundo voltamograma corresponde ao registro da varredura do EGP na célula contendo 10 mL de álcool digerido. Os demais voltamogramas foram obtidos com as respectivas adições de cobre ($2,5 \times 10^{-6}$, $5,0 \times 10^{-6}$, $7,5 \times 10^{-6}$, $1,0 \times 10^{-5}$, $1,25 \times 10^{-5}$, $1,50 \times 10^{-5}$ mol/L⁻¹).

No gráfico, observa-se um decaimento do pico em função da corrente versus concentração.

A Figura 7 (B) apresenta o tratamento matemático das adições de cobre na amostra digerida. Este foi obtido integrando a área do correspondente voltamograma, ou seja,

integrando corrente versus potencial, e este resultado (a área) foi plotada em função da variação da concentração de cobre. O gráfico de área versus concentração do MTT-Cu mostrou uma boa linearidade ($R=0,99562$) na faixa estudada. A partir da construção de curvas de calibração pode-se verificar um limite de detecção de $2,5 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹. Com teor de cobre de $2,45 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹ na amostra analisada.

EQM (MTT-Cu) em amostra de Biodiesel

De forma semelhante, a mostra de biodiesel foi submetida a uma digestão ácida e em seguida aplicou-se o mesmo procedimento para a quantificação de cobre. Na Figura 8 (A), o voltamograma (A) corresponde ao registro da varredura do EGP na célula contendo 10 mL de biodiesel digerido. Os demais voltamogramas foram obtidos com as respectivas adições de cobre ($2,5 \times 10^{-6}$, $5,0 \times 10^{-6}$, $7,5 \times 10^{-6}$, $1,0 \times 10^{-5}$, $1,25 \times 10^{-5}$, $1,50 \times 10^{-5}$ mol/L⁻¹).

A Figura 8 (B) apresenta o tratamento matemático das adições de cobre registradas. Este foi obtido integrando a área do correspondente voltamograma, ou seja, integrando corrente versus potencial, e este resultado (a área) foi plotado em função da variação da concentração de cobre. O gráfico de área versus concentração do MTT-Cu mostrou uma boa linearidade ($R=0,99171$) na faixa estudada. A partir da construção de curvas de calibração pode-se verificar um limite de detecção de $2,5 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹. Com teor de cobre de $1,38 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹ na amostra analisada.

EQM (MTT-Cu) em amostra de Gasolina

Para as amostra de gasolina digerida utilizou-se o procedimento anterior já citado, nas mesmas condições de pH=6,0 com EGP modificado pela espécie de tetrazólio de MTT 1×10^{-3} mol.L⁻¹. Em seguida adiciona-se alíquotas de cobre em uma célula contendo 10 mL do eletrólito suporte. Adição de $2,5 \times 10^{-6}$, $5,0 \times 10^{-6}$, $7,5 \times 10^{-6}$, $1,0 \times 10^{-5}$, $1,25 \times 10^{-5}$, $1,50 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹). Os voltamogramas obtidos estão mostrados na figura 9. Nestes, observa-se que o pico correspondente ao tetrazólio diminui à medida que aumenta a concentração de cobre.

A Figura 9 (B) apresenta o tratamento matemático das adições de cobre registradas. Este foi obtido integrando a área do correspondente voltamograma, ou seja,

integrando corrente versus potencial, e este resultado (a área) foi plotado em função da variação da concentração de cobre. O gráfico de área versus concentração do MTT-Cu mostrou uma boa linearidade ($R=0,9857$) na faixa estudada. A partir da construção de curvas de calibração pode-se verificar um limite de detecção de $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Com teor de cobre de $2,62 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ na amostra analisada.

DETERMINAÇÃO DE COBRE EM ÁLCOOL, BIODIESEL E GASOLINA POR ESPECTROMETRIA DE MASSA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO ICP OES.

No sentido de validar uma possível metodologia analítica para a determinação de íons metálicos em amostra de combustíveis (álcool, gasolina e biodiesel) buscou-se analisar estes metais por outra técnica analítica; já que não foi possível a utilização de amostras certificadas destas matrizes.

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinado com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. A tabela 3 traz dados de inclinação da reta, a linearidade e o RSD (%) do íon metálico na curva de calibração.

Tabela 3. Parâmetros de mérito para a determinação de cobre em álcool, biodiesel e gasolina por ICP OES, calibração com padrões.

Isótopo	Inclinação L.mg^{-1}	R	RSD (n=3) %	Calibração L.mg^{-1}
Cu	3283,06	0,9997	** (no texto)	1 - 10

** A precisão foi calculada como sendo o desvio padrão relativo (RSD %) para $n=3$. Sendo encontrado o valor de 10,7 % para amostra de álcool, 4% para biodiesel e 4,6% para a gasolina.

Outra expressão da precisão é através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV) em termos percentuais.

$$RSD \text{ ou } CV = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100 \quad (\text{Equação 1})$$
 cc todos que quantificam
 tidades requerem um
 RSD de 1 a 2%. Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos RSD de até

25%, dependendo da complexidade da amostra. Uma maneira simples de melhorar a precisão é aumentar o número de replicatas (MENDHAM *et al.*, 2000).

A precisão em validação de métodos é considerada em três níveis diferentes: repetitividade; precisão intermediária; reprodutibilidade (INMETRO, 2003).

Aplicação analítica nas amostras de combustíveis

As determinações de cobre nas amostras de combustíveis foram feitas em triplicata, os resultados obtidos foram tratados em programa de gráfico (Origin) para construção do respectivo gráfico, obtendo-se a média e o erro relativo das amostras encontradas. A Figura 10 representa os teores de álcool, biodiesel e gasolina encontrados.

Figura 10. Determinação de cobre em amostras de combustíveis (álcool, biodiesel e gasolina) por espectrometria (ICP-OES.)

Os resultados demonstram que as amostra de álcool apresentaram concentrações baixas próximas de 0,11 mg/L de cobre e na gasolina teve-se o valor próximo de 0,12 mg/L, enquanto no biodiesel já apresenta o valor de 0,17 mg/L.

Comparação dos métodos eletroquímico e espectrométrico.

A tabela 4 mostra as médias ($\bar{X}_1$ e $\bar{X}_2$) do teor de cobre determinados pelas duas técnicas e seus respectivos desvios padrões, além da comparação entre o t_{tab} e o t_{cal} .

Tabela 4. Comparação estatística entre as técnicas VRA e ICP-OES para determinação de Cu(II).

Amostras	VRA		ICP-OES		t_{cal}	t_{tab}
	$\bar{X}_1$ (mg/L)	s_1	$\bar{X}_2$ (mg/L)	s_2		
Álcool	0,1039	0,0004	0,1084	0,0135	0,580	2,776
Biodiesel	0,1340	0,0052	0,1072	0,0083	0,345	2,776
Gasolina	0,1546	0,0063	0,1146	0,0065	0,447	2,776

Tendo em vista um tratamento estatístico para estabelecermos se existe diferença significativa entre a metodologia empregada VRA e a metodologia usando ICP-OES, aplicamos o teste t que está resumido na Tabela 4. Para as 3 amostras utilizadas, os valores de $t_{CALCULADO}$ foram menores do que o valores de $t_{TABELADO}$. Isto indica que não existe diferença significativa entre as duas metodologias.

CONCLUSÕES

Através da comparação dos resultados com a técnica de Espectrofotometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), pode-se observar que houve uma boa concordância entre os valores encontrados;

Os resultados obtidos vêm confirmar a validade do método proposto dentro das limitações experimentais e mostrar a importância da implementação dos métodos estatísticos como ferramenta complementar da atividade de pesquisa analítica;

A técnica ICP OES apresentou uma boa concordância com a VRA na análise de cobre uma vez que esse metal estava na escala de ppm. Essa concordância foi avaliada com o teste t de Student e apresentou t_{cal} menor que t_{tab} igual a 2,776 em todas as amostras;

Comparando os procedimentos empregados nas análises com VRA, sejam validos, essa técnica apresentou eficiência na determinação de Cu(II), pode-se dizer que VRA é mais acessível que ICP OES.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Maranhão, e ao laboratório de Pesquisa Analítica (LPQA) e a Capes pelas bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

1. A.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, *14*, 543.
2. AGUIAR, M. R. . P. ; NOVAES, A. C . Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. *Quím. Nova* vol.25 no.6b são paulo nov./dec. **2002**.
3. ALLOWAY, B. J. Heavy metals in soils. New York: John Wiley, **1990**. 339p.
4. ANP – Agência Nacional do Petróleo, Portaria Nº 255, de 15 de Setembro de **2003**. Especificação preliminar do Biodiesel B100.
5. ANP – Agência Nacional do Petróleo, Resolução 07/2008 (Art. 2º). Especificação do Biodiesel. 19.3.2008 - DOU 20.3.2008.
6. ANP – Agência Nacional do Petróleo, Resolução Nº 42/2009 (Art. 2º). Especificação do Biodiesel. 16.12.2009.
7. AZEVEDO, S.M. et al. Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 27, n. 3, p. 618-624, **2003**.
8. BAMBERGER, E and Wheelwright, E. (1969). 25 3201.
9. BENTO, F R. Utilização de Técnicas Eletroquímicas para a determinação de Cu,Cr e As em Madeira de Eucalipto Preservada com Produto Hidrossolúveis. Dissertação de Mestrado - UFPR, Curitiba – Paraná, 135p, **2004**.
10. CHAVES, E. S. Determinação de elementos traço em diesel e biodiesel por espectrometria de emissão atômica em chama e por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com introdução da amostra por vaporização eletrotérmica. . Programa de Pós-graduação em Química Analítica, UFSC, **2008**. Dissertação de Mestrado, 82p.
11. CLEMENTE, J. C. Estudo da Adsorção do Nitro Blue Tetrazolium [NBT] Na superfície do eletrodo de grafite pirolítico para fins analíticos. Dissertação de Mestrado – UFMA, São Luis - MA, 76p, **2001**.

12. CLEMENTE, J. C., Estudo Eletroquímico e Potencialidade Analíticas do Cloreto de 2,3,5-trifenil-2H-Tetrazólio (TTC). Monografia de Conclusão de Curso de Química Industrial. UFMA, **1998**, 89p.
13. FREIRE, A. S. Oxidação Eletrocatalítica de Etanol sobre Eletrodo de Carbono Grafite Prolítico Modificado com Níquel (II)-1-(2-Pyridilazo)-2-Naphthol em meio Alcalino. Monografia apresentada ao curso de Química Industrial da UFMA, **2008**. São Luis – MA.
14. FURTADO, J. G. C. Estudo de Impactos Ambientais Causadas por Metais Pesados em Água do Mar na Baía de São Marcos Correlações e Níveis Background. Dissertação de Mestrado – UFPB, João Pessoa- Paraíba, 59p, **2007**.
15. GIACOMELLI, M.B.O; M. C. Lima, L. F. Dias, B. Welz, A. J. Curtius, *Fractionation of Cd and Pb in BCR No. 601 sediment reference material following the BCR protocol for sediment extraction and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers*, J. Anal. At. Spectrom., **2002**, 17, 1339-1343.
16. HARRIS, D. Análise Química Quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, **2001**.
17. JÁMBOR, B., "Tetrazolium Salze in der Biologie" G. Fischer. (**1960**).
18. JÁMBOR, Problems Involved in the polarografia of triphenil Tetrazolium Chloride. J. Chem. Soc., 1604-1609, (**1957**).
19. L. Yu, S. R. Koirtiyohann, M. L. Ruppel, A. K. Skipor, *Simultaneous determination of aluminium, titanium and vanadium in serum by electrothermal vaporization-inductively plasma mass spectroscopy*. J. Anal. Atom. Spectrom., **1997**, 12, 69-74.
20. LACAN, M. Tabakovic, I.Z. , *Eltrochemical Systeses of Heterocyclic compounds – I: Intramolecular Eletrochemical Cyclizaion of Formazans to tetrazolium salts*. Tetrahechon, [Belgrade], 30, 2911-2917, (**1974**).
21. LARINI, L. Toxicologia. São Paulo: Manole, **1987**. 315p.
22. LEPERA, J.S. Determinação de Chumbo, Cobre, Zinco e Ferro no cabelo por espectrofotometria de absorção atômica. Araraquara, **1989**. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas/ Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista.
23. LOPES, Ilmar Alves. A voltametria Cíclica e sua aplicação na Química Analítica. Monografia apresentada ao curso de Química Industrial da UFMA, **1995**, São Luis –MA.
24. MARQUES, E P. Estudo Eletroquímico e Potencialidades Analíticas de Sais Derivados do Tetrazólio: Brometo de 3-(4,5- dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil-2H-Tetrazólio (MTTBr) e o Cloreto de 2,3,5-Trifenil-2H-Tetrazólio (TTCCl). Tese apresentada para professor titular da UFMA. São Luis – Ma, **1988**, p59.
25. MARQUES, E P; Zhang, J.; H., Tse; Metcalf, R; Pietro, W.J. Surface Electrochemistry of- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide [MTT]Br adsorbed on a graphite electrode. J. of Electroanal. Chem., 395, 133-138, **1995**.
26. MATTOS, I. L.; Gorton, L.; *Quim. Nova* **2001**, 24, 200.
27. MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. Análise Química Quantitativa. VOGEL. 6ª ed. LTC, Londres, **2000**.
28. MOORE, J.W., RAMAMOORTHY, S. Heavy metals in natural waters. New York: Springer-Verlag, **1984**. 328p.
29. NRIAGU, J.O. A silent epidemic of environmental metal poisoning? Environ. Pollution, v.50, p.139-61, **1988**.
30. OLIVEIRA, S. C. et al. Avaliação toxicológica dos efeitos do cobre na espécie *carassius auratus*. R. gest. sust. ambient., Florianópolis, v. 7, n. 2, p.260-275, abr./jun. **2018**.
31. PACHECO. Wagner Felipe. Desenvolvimento e comparação de métodos voltamétricos para a determinação de ciclofenil e primaquina em medicamentos e em urina. Dissertação de Mestrado PUC –RJ- Rio de Janeiro, 106p, **2004**.
32. PEREIRA, A C.. Quím. Nova vol.25,.nº.6 São Paulo Nov./ dec. **2002**.

33. PEREIRA, E.V.S. Procedimento Voltamétrico Para Determinação Simultânea De Metais Em Biodiesel, Por Voltametria de Redissolução Anódica Usando Eletrodo De Filme De Mercúrio Em Meio Alcoólico Falar completar. Dissertação de Mestrado – UFMA, São Luis-Maranhão, 72p, **2010**
34. RUTENBERG, A.M., Gofstein, R. Seligman, A. M.: Preparation of new tetrazolium salts which yields a blue pigment on reduction and its use in the demonstration of enzymes in normal, **1950**
35. SILVA, J B. Potencialidades e Aplicação Analítica do Brometo de 3-(4,5-dimetitiazol-2IL)-2,5-difenil-2H Tetrazólio na Detecção de Ferro(II) e Cobre(II) em meio aquoso. Monografia apresentada ao curso de Química Industrial da UFMA, **2001**. São Luis – MA.
36. SILVA, L. M. S. Avaliação de Procedimentos Analíticos com Vistas a Determinação Eletroanalítica de Metais em Gasolina. Dissertação de Mestrado, UFMA, São Luis, MA, 95p., **2004**.
37. SKOOG, DOUGLAS A., WEST, DONALD M.; HOLLER, F. JAMES, Fundamentos de Química Analítica. Tradução [Marco Grassi; revisão técnica Célio Pasquini] 8ª Edição – São Paulo, editora Cengage Learning, p 657, **2008**.
38. SUAREZ, P A Z, MENEGHETTI, S P M 70°. Aniversario do biodiesel em 2007. Evolução historia e situação atual no Brasil. Quím. Nova, São Paulo, v 30, n 8, 2007. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2007/vol30n8/46-AG07046.pdf>. Acessado em 18 de agosto de **2009**.
39. T. Kántor, S. Maestre, M.T.C. de Loos-Vollebregt, Studies on transport phenomena in electrothermal vaporization sample introduction applied to inductively coupled plasma for optical emission and mass spectrometry, Spectrochim. Acta Part B, **2005**, 60, 1323-1333.
40. UDOMSOPAGIT, S.; Suphantharika, M.; Kunnecke, W.; Bilitewski, U.; Bhumiratana, A.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, 14, 543.
41. WILKINS, E.; Atanasov, P.; *Med. Eng. Phys.* **1996**, 18, 273.

Tabela 1. Parâmetros experimentais de VRA usando eletrodo de grafite pirolítico utilizado para varredura anódica em diferentes amostras de pH (Amostras de Álcool, Biodiesel e Gasolina).

Parâmetros do CV - 50 W	Especificação do Valor
Direção da varredura	Anódico (positivo)
Tempo de pré-concentração	30 s
Tempo de repouso	15 s
Velocidade de varredura	10 mV/s
Amplitude de pulso	100 mV
Sensibilidade	10 μ A/V

Fonte: Próprio autor, 2018.

Figura 4. Registros voltamétricos para o eletrodo de grafite pirolítico quimicamente modificado pelo MTT em diversos valores de pH (pH= 2,4,5,6,7 e 12) $v=100$ mV.

Figura 5. Resposta voltamétrica do EQM pela espécie MTT. (A) somente o EQM em tampão BR pH=5,0. (B) idem após imersão em solução contendo Cu(II). ($[MTT] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ Mol L}^{-1}$, $[Cu(II)] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$; velocidade de varredura= 100 mV.s^{-1}].

Figura 6. (A) Respostas voltamétricas do EQM pelo MTT em tampão BR pH=6,0 (VRA) (a) $[C_{MTT}] = 1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; (b - i) mesma condição de (A) após adições de cobre $1,0 \times 10^{-9}$, (c) $2,0 \times 10^{-9}$, (d) $3,0 \times 10^{-9}$, (e) $4,0 \times 10^{-9}$, (f) $5,0 \times 10^{-9}$, (g) $6,0 \times 10^{-9}$, (h) $7,0 \times 10^{-9}$, (i) $8,0 \times 10^{-9}$, (j) $9,0 \times 10^{-9}$, (l) $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}^{-1}$ velocidade de varredura de $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, Amplitude = 100 mV.s^{-1} . (B) gráfico da área do pico em função da concentração de cobre na célula: $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 7. (A) Resposta voltamétrica do EQM pelo MTT em amostra de álcool digerido pH =6,0. (a) $[C_{MTT} = 1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}]$; adição de Cobre à célula: (c) $2,5 \times 10^{-6}$, (d) $5,0 \times 10^{-6}$, (e) $7,5 \times 10^{-6}$, (f) $1,0 \times 10^{-5}$, (g) $1,25 \times 10^{-5}$, (h) $1,50 \times 10^{-5} \text{ mol/L}^{-1}$ velocidade de varredura de $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, Amplitude = 100 mV.s^{-1} . (B) gráfico da área em função da concentração de cobre em solução.

Figura 8. (A) Resposta voltamétrica do EQM em Biodiesel digerido pH=6,0 (a) corresponde ao branco, somente o EQM $[C_{MTT} = 1 \times 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}]$; (b) EQM em amostra de biodiesel; (c-h) mesmo de (b) após adição de Cobre à célula: (c) $2,5 \times 10^{-6}$, (d) $5,0 \times 10^{-6}$, (e) $7,5 \times 10^{-6}$, (e) $1,0 \times 10^{-5}$, (g) $1,25 \times 10^{-5}$, (h) $1,50 \times 10^{-5} \text{ mol/L}^{-1}$ velocidade de varredura de $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, Amplitude = 100 mV.s^{-1} . (B) gráfico da área em função da concentração de cobre em solução.

Figura 9. (A) Respostas voltamétricas do EQM em Gasolina digerido pH=6,0. (a) $[C_{MTT} = 1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}]$; (b) mesmo de (a) em amostra de gasolina; (c-h) idem (b) após adições de diferentes concentrações de cobre: (c) $2,5 \times 10^{-6}$, (d) $5,0 \times 10^{-6}$, $7,5 \times 10^{-6}$, (e) 1×10^{-5} , (f) $1,0 \times 10^{-5}$, (g) $1,25 \times 10^{-5}$, (h) $1,50 \times 10^{-5} \text{ mol/L}^{-1}$ (velocidade de varredura de $v=100 \text{ mV.s}^{-1}$, Amplitude = 100 mV.s^{-1}). (B) gráfico da área em função da concentração de cobre em solução.