Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Desenvolvimento de eletrodo de pasta de carbono modificado para a quantificação do teor alcoólico em amostras de uísque”

Guilherme Vieira Lima

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**

RIBEIRÃO PRETO-SP

2021

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Desenvolvimento de eletrodo de pasta de carbono modificado para a quantificação do teor alcoólico em amostras de uísque”

Versão Corrigida

Guilherme Vieira Lima

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Firmino de Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**

RIBEIRÃO PRETO-SP

2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Lima, Guilherme Vieira

Desenvolvimento de eletrodo de pasta de carbono modificado para a quantificação do teor alcóolico em amostras de uísque.

Ribeirão Preto, 2021.

89 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Química.

Orientador: Oliveira, Marcelo Firmino de

1. Uísque. 2. Etanol. 3. Eletroquímica 4. Eletrodo de pasta de carbono.

Nome: Lima, Guilherme Vieira

Título: Desenvolvimento de eletrodo de pasta de carbono modificado para a quantificação do teor alcoólico em amostras de uísque

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: Química.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Dedico este trabalho à toda minha família, em especial aos meus pais Valdeni e Maria e aos meus irmãos Ana Flávia e Henrique que me deram todo o apoio incondicional durante esta jornada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e discernimento para aproveitar as oportunidades oferecidas.

Aos meus pais, Valdeni e Maria pelo apoio, incentivo, compreensão, amor e companheirismo, estando ao meu lado nos momentos que eu mais precisei. Aos meus irmãos Ana Flávia e Henrique pelo apoio, amizade e incentivo.

A todos da minha família, que torceram e ainda torcem pelo meu sucesso em tudo o que eu me proponho a realizar.

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Marcelo Firmino de Oliveira pela confiança depositada em mim para que eu pudesse realizar os meus estudos na pós-graduação. Um reconhecimento especial ao professor José Fernando de Andrade (Zefer) que sempre se colocava à disposição para ajudar a todos no laboratório e por transmitir seu conhecimento, não apenas sobre química, mas principalmente sobre a vida. Agradeço também a todos os membros que estiveram comigo no GEEQFor durante estes 3 anos, de forma especial aos meus colegas de laboratório Bruno, Leandro, Maria Fernanda, Pedro, Juliana, Alex Castro, Alex Chedid, Ana e Gustavo que me acompanharam desde o início desta aventura científica, ajudando nas dúvidas, nos momentos de alegria e também nos dias mais difíceis.

A todos os profissionais do Departamento de Química e do Programa de Pós-Graduação em Química que, mesmo de forma indireta, estiveram presentes na elaboração deste estudo. Em especial a secretária Lâmia pelo apoio documental e aos técnicos do departamento Luiz Zanatto (“in memorian”) e Mércia Carlos pelo apoio técnico, Rodrigo Silva pelas imagens de microscopia e Claudio Neri pelas análises termogravimétricas do complexo. Um agradecimento especial para os professores Adalgisa Rodrigues de Andrade, Aline Thaís Bruni, Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira, Bruno Spinosa de Martinis, Cynthia Manso, Paulo Olivi e Zeki Naal pelas valiosas contribuições que me foram passadas nas disciplinas cursadas e na elaboração desta dissertação.

Ao doutorando Lucas dos Santos Mello e ao Prof. Dr. Edward Ralph Dockal do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (DQ/UFSCar) que gentilmente cederam o complexo sintetizado e purificado por eles para que pudesse ser utilizado neste trabalho.

Ao IFSP Câmpus Sertãozinho que ofereceu todas as condições para que eu pudesse realizar o mestrado em paralelo com o meu trabalho.

Aos meus amigos da graduação, Victor Rasteira, Guilherme Lanfredi (“Doutor”),

William Felipe (“Mi”), Fernanda Ribeiro e aos demais pela amizade e companheirismo que continua em todos estes anos.

Por fim, agradeço às pessoas que conheci durante este período no programa de pós-graduação.

*“The mystery generates curiosity and curiosity is the basis of human
desire to understand...”*
(Neil Armstrong)

RESUMO

LIMA, G. V. **Desenvolvimento de eletrodo de pasta de carbono modificado para a quantificação do teor alcoólico em amostras de uísque**. 2021. 89 f. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

A adulteração de bebidas alcoólicas consiste num problema em nossa sociedade, pois ela consegue ser realizada das mais diversas formas, desde pela diluição do álcool etílico com água de torneira em bebidas legítimas até a adição de corantes e aromas caseiros em bebidas com baixo valor agregado. As bebidas destiladas (especialmente o uísque) são o maior alvo destas adulterações, justamente devido ao seu alto valor agregado e consumo elevado. Atualmente a quantificação do teor alcoólico em bebidas é geralmente realizada por métodos picnométricos e cromatográficos. Entretanto, neste contexto as técnicas eletroanalíticas tem sido cada vez mais usadas em análises do campo forense, farmacêutico, alimentício e controle ambiental devido a apresentarem resultados cada vez mais promissores em termos de reprodutibilidade, seletividade e confiabilidade dos resultados. Além disso, estas demonstraram ser de fácil aplicação e com baixo custo, o que justifica o desenvolvimento de novas pesquisas por sensores eletroquímicos ao longo das últimas décadas.

Este trabalho versa sobre o desenvolvimento de um eletrodo de pasta de carbono modificado (EPCM) com um complexo metálico de base de Schiff ($[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$), capaz de obter resultados com capacidade de quantificação e exatidão similares aos obtidos por eletrodos metálicos (cobre, níquel, ouro e platina) com a mesma finalidade. Além disso, o emprego do complexo como modificante na pasta de carbono facilita a renovação da superfície do eletrodo, garantindo reprodutibilidade nos dados experimentais. Desta forma, à fim de determinar o teor alcoólico de amostras de uísque em solução alcalina, este trabalho teve como objetivos desenvolver um EPCM capaz de obter um desempenho similar aos eletrodos metálicos, e compará-lo com o teste picnométrico, usualmente empregado com esta finalidade. Assim, com a aplicação das técnicas de voltametria cíclica e amperometria, otimizou-se os parâmetros experimentais mais adequados para a proposta. Os resultados indicaram para o ensaio amperométrico uma boa capacidade para a detecção e quantificação do etanol quando utilizado o EPCM com teor de $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$ na pasta de carbono de 30 % m/m, potencial elétrico aplicado de +0,55 V (vs, Ag/AgCl), faixa de trabalho investigado entre 5 a 250 mmol L⁻¹ e os LoD e LoQ foram de 0,75 e 2,50 mmol L⁻¹, respectivamente. Por sua vez, a voltametria cíclica também apresentou capacidade de detecção e quantificação do etanol com faixa de trabalho investigado entre 25 a 400 mmol L⁻¹ e os LoD e LoQ foram de 24,81 e 82,69 mmol L⁻¹, respectivamente. O eletrodo de pasta de carbono modificado com o complexo de níquel mostrou-se apto para as análises com as amostras de uísque para ambas as técnicas eletroanalíticas, obtendo resultados similares aos obtidos com o método picnométrico. Desta forma, abrem-se perspectivas para a sua aplicação na quantificação do teor alcoólico de outras bebidas destiladas e assim favorecendo o monitoramento do processo de fabricação e controle de qualidade.

Palavras-chave: Uísque. Etanol. Eletroquímica. Eletrodo de pasta de carbono.

ABSTRACT

LIMA, G. V. **Development of modified carbon paste electrode for quantification of alcohol in whiskey samples.** 2021. 89 p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

Adulteration of alcoholic beverages is a common problem in our society. Adulteration can be performed in various ways, including diluting ethyl alcohol with tap water in legitimate drinks and adding colorings and homemade aromas to drinks with low added value. Distilled beverages (especially whiskey) are the main target of adulterations precisely because of their high added value and consumption. Pycnometric and chromatographic methods usually quantify alcohol content in beverages. However, electroanalytical techniques have been increasingly used for analyses in the forensic, pharmaceutical, food, and environmental control fields because they provide promising reproducibility, selectivity, and reliability results. In addition, these techniques are inexpensive and easy to apply, justifying new research into electrochemical sensors to meet the demand for these analyses.

This work involves the development of a carbon paste electrode modified with a metal complex based on Schiff ($[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$) that can provide similar quantification ability and accuracy to those obtained with metallic electrodes (copper, nickel, gold, and platinum electrodes) in the determination of the alcohol content of whiskey samples in alkaline solution. Furthermore, the use of the complex as a modifier in the carbon paste facilitates the renewal of the electrode surface, ensuring reproducibility in the experimental data. The results obtained with the developed electrode, designated EPMC herein, were compared to the results achieved with the pycnometric test, which is usually used for this purpose. First, by applying cyclic voltammetry and amperometry, the most adequate experimental parameters were optimized. Regarding the amperometric test, good capacity for ethanol detection and quantification was obtained by using the EPCM with a $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$ content of 30% m/m in the carbon paste, applied electrical potential of +0.55 V (vs. Ag/AgCl), and working range between 5 and 250 mmol L⁻¹; the LoD and LoQ were 0.75 and 2.50 mmol L⁻¹, respectively. As for cyclic voltammetry, ethanol detection and quantification were possible at working range between 25 and 400 mmol L⁻¹ and the LoD and LoQ were 24.81 and 82.69 mmol L⁻¹, respectively. The EPCM proved suitable for analyzing of whiskey samples by both electroanalytical techniques, affording better results than the pycnometric method. This opens up perspectives for applying this EPCM to quantify the alcohol content of other distilled beverages, favoring monitoring of the manufacturing process and quality control.

Keywords: Whiskey. Ethanol. Electrochemistry. Carbon paste electrode.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Exemplos de bebidas alcoólicas.....	19
Figura 2. Fórmula estrutural do etanol.	20
Figura 3. Uísque.	23
Figura 4. Representação esquemática de uma célula eletroquímica onde: “A)” - eletrodo de referência, “B)” - eletrodo de trabalho e “C)” – eletrodo auxiliar.	26
Figura 5. Representação adaptada de um voltamograma cíclico obtido a partir da análise de um composto hipotético X.	27
Figura 6. Perturbação aplicada em amperometria com um único degrau de potencial..	31
Figura 7. Tipos de resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial, em condição por agitação (A) e estacionária (B).	31
Figura 8. Escala representativa das faixas de trabalho para o potencial aplicado nos eletrodos de platina (Pt), mercúrio (Hg) e carbono (C) em diversos eletrólitos suportes.	33
Figura 9. Esquema geral para a síntese de uma base de Schiff.	35
Figura 10. Estrutura molecular do complexo [Ni(cis-salcn)].	35
Figura 11. Diagrama de Bode.....	36
Figura 12. Mecanismo simplificado proposto para a reação de eletro-oxidação do etanol catalisada pelo NiOOH em meio alcalino.....	39
Figura 13. Representação ilustrativa da confecção de um eletrodo de pasta de carbono.	44
Figura 14. TGA e DSC do complexo [Ni(cis-salcn)].	50
Figura 15. a) Micrografias do CPE@[Ni(cis-salcn)], b) Micrografia de contraste de número atômico onde em destaque em amarelo são os átomos de níquel e c) espectro de energia (em keV).	52
Figura 16. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono variando a velocidade de varredura, obtidas a partir de solução aquosa contendo hexacianoferrato (III) de potássio 5 mmol L ⁻¹ em KCl 0,5 mol L ⁻¹ . b) Gráfico de i_{pc} do par redox ferro/ferri em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (n=3).	53
Figura 17. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com o complexo [Ni(cis-salcn)], obtidas a 100 mV s ⁻¹ a partir de solução contendo antes e depois da adição de 11% (v/v) de Etanol na presença de: a) KCl 0,1 mol L ⁻¹ , b) HCl 0,1 mol L ⁻¹ , c) NaOH 0,1 mol L ⁻¹	54

Figura 18. a) Análises voltamétricas (50º ciclo) do eletrodo de pasta de carbono com e sem modificação do complexo [Ni(cis-salcn)], obtidas a partir da solução contendo NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a 50 mV s ⁻¹ . b) Avaliação da intensidade do pico anódico em função do teor de modificador na pasta de carbono.	55
Figura 19. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando o potencial inicial de varredura. a) -0,25 V, -0,20 V e -0,15 V; b) -0,10 V, -0,05 V e 0,00 V (vs. Ag/AgCl). Obtidas a partir de solução aquosa contendo etanol 0,5 mol L ⁻¹ em NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a 50 mV s ⁻¹	56
Figura 20. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando o potencial final de varredura. a) +0,50 V, +0,55 V e +0,60 V; b) +0,65 V, +0,70 V, +0,75 V e +0,80 V (vs. Ag/AgCl). Obtidas a partir de solução aquosa contendo etanol 0,5 mol L ⁻¹ em NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a 50 mV s ⁻¹	57
Figura 21. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando a concentração de NaOH no eletrólito suporte a 50 mV s ⁻¹ , onde em: a) Vista geral e b) Vista ampliada.	58
Figura 22. Intensidade das correntes de pico (i _{pa} e i _{pc}) e potenciais de meia-onda (E _{1/2}) do processo redox do complexo [Ni(cis-salcn)] presente no eletrodo de pasta de carbono em função do pH da solução em v = 50 mV s ⁻¹	58
Figura 23. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% (m/m) de [Ni(cis-salcn)], obtidas a partir da solução contendo NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a 50 mV s ⁻¹ . b) Gráfico do pico de corrente anódica normalizado em função do número de ciclos voltamétricos (em triplicata).	60
Figura 24. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando a velocidade de varredura obtidas a partir de solução contendo NaOH 1,0 mol L ⁻¹ . b) Gráfico da corrente de pico em função de v ^{1/2} . c) Gráfico do log i _p em função do log v. d) Gráfico de E _p em função do log v. .	61
Figura 25. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando a velocidade de varredura obtidas a partir de solução contendo NaOH 1,0 mol L ⁻¹ e Etanol 0,5 mol L ⁻¹ . b) Gráfico da corrente de pico em função de v ^{1/2} . c) Gráfico do log i _p em função do log v. d) Gráfico de E _p em função do log v.	63
Figura 26. Mecanismo proposto para a eletro-oxidação do etanol em meio alcalino por um eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com o complexo [Ni(cis-salcn)].	64
Figura 27. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando-se o potencial de pré-concentração, obtidas a partir da solução contendo 0,5 mol L ⁻¹ de Etanol e NaOH 1,0 mol L ⁻¹ , a 50 mV s ⁻¹ e 10 s para a pré-concentração.	65
Figura 28. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando-se o tempo de pré-concentração, obtidas a partir da solução contendo 0,5 mol L ⁻¹ de Etanol e NaOH 1,0 mol L ⁻¹ , a 50 mV s ⁻¹ e potencial para a pré concentração de +0,6 V (vs. Ag/AgCl).	65

Figura 29. Sensibilidade amperométrica em função do potencial aplicado para detecção do etanol em solução de NaOH 1,0 mol L ⁻¹ no eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] (n=3).....	67
Figura 30. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado variando a concentração de etanol, obtidas a partir da solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a 50 mV s ⁻¹ . b) Curva analítica do etanol (n=3).	69
Figura 31. a) Amperograma normalizado do eletrodo de pasta de carbono modificado variando a concentração de etanol, obtidas a partir da solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a E = +0,55 V (vs. Ag/AgCl). b) Curva analítica do etanol (n=3).	70
Figura 32. Amperograma do eletrodo de pasta de carbono modificado obtido após adições de etanol, sulfito de sódio e glicose em solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a E = +0,55 V (vs. Ag/AgCl).	72
Figura 33. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado obtido após adição da amostra de Red Label [®] seguida da adição de etanol padrão em solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a v = 50 mV s ⁻¹ . b) Curva analítica do método de adição de padrão.....	74
Figura 34. a) Amperograma normalizado do eletrodo de pasta de carbono modificado obtido após adição da amostra de Red Label [®] seguida da adição de etanol padrão em solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L ⁻¹ a E = +0,55 V (vs. Ag/AgCl). b) Curva analítica do método de adição de padrão.	75
Figura 35. Materiais usados na análise picnométrica – picnômetro, béquer, termômetro de mercúrio, bebidas alcoólicas e água deionizada.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do etanol.	21
Tabela 2. Associação entre os parâmetros da voltametria cíclica com o mecanismo da reação.	30
Tabela 3. Dados obtidos para as correntes de pico anódicas e catódicas, razão entre i_{pa}/i_{pc} , potenciais de pico anódicos e catódicos e valores de ΔE_p e $E_{1/2}$, para o eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] em solução aquosa de NaOH 1,0 mol L ⁻¹	62
Tabela 4. Parâmetros otimizados para a detecção do etanol em meio alcalino por voltametria cíclica.	66
Tabela 5. Comparação dos parâmetros analíticos (figuras de mérito) obtidos pela construção das curvas analíticas (n=3) para as técnicas de voltametria cíclica e amperometria.	71
Tabela 6. Resultados obtidos para a adição e recuperação do etanol em amostras de uísque por voltametria cíclica utilizando o eletrodo de pasta de carbono modificado com 30 % m/m de [Ni(cis-salcn)] em solução aquosa de NaOH 1,0 mol L ⁻¹ (n=3)...	73
Tabela 7. Resultados obtidos para a adição e recuperação do etanol em amostras de uísque por amperometria utilizando o eletrodo de pasta de carbono modificado com 30 % m/m de [Ni(cis-salcn)] em solução aquosa de NaOH 1,0 mol L ⁻¹ (n=3).	73
Tabela 8. Resultados obtidos pelos métodos voltamétrico (índice V) e amperométrico (índice A) para a determinação do teor alcoólico em amostras de uísque, intervalo de confiança e os valores indicados no rótulo pelos fabricantes (n=3).	75
Tabela 9. Resultados obtidos pelo método picnométrico (índice P) para a determinação do teor alcoólico em amostras de uísque (n=3).	77
Tabela 10. Resultados obtidos pelo método picnométrico (índice P) comparado com os resultados obtidos pelos métodos voltamétrico (índice V) e amperométrico (índice A) para a determinação do teor alcoólico em amostras de uísque, intervalo de confiança e os valores indicados pelos fabricantes (n=3).	77
Tabela 11. Teor alcoólico a 20°C (expresso em % v/v) correspondente à densidade relativa.	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔE_p – Diferença de potencial entre os picos anódico e catódico

a – Área ativa do eletrodo

Amp – Amperometria

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – Associação oficial de químicos analíticos (Association of Official Analytical Chemists)

BIA – Análise em batelada (Batch Injection Analysis)

C – Concentração

CAS – Chemical Abstracts Service

CE – Reação química seguida de uma reação eletroquímica

CPE@[Ni(cis-salcn)] – Eletrodo de pasta de carbono modificado com o complexo [Ni(cis-salcn)]

D – Coeficiente de difusão

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial (Differential Scanning Calorimetry)

E – Potencial elétrico

$E_{1/2}$ – Potencial de meia-onda

EC – Reação eletroquímica seguida de uma reação química

EDS – Espectrometria de raios-X por energia dispersiva (Energy-dispersive X-ray Spectroscopy)

E_f – Potencial final aplicado

E_i – Potencial inicial aplicado

E_p – Potencial de pico

E_{pa} – Potencial do pico anódico

E_{pc} – Potencial do pico catódico

EPCM – Eletrodo de pasta de carbono modificado

F – Constante de Faraday

FIA – Análise em fluxo (Flow Injection Analysis)

GABA – Ácido gama-aminobutírico

GC – Cromatografia gasosa (Gas Chromatography)

i – Corrente elétrica

IAL – Instituto Adolfo Lutz

i_p – Corrente de pico

i_{pa} – Corrente de pico anódico

i_{pc} – Corrente de pico catódico

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry)

LoD – Limite de detecção

LoQ – Limite de quantificação

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

n – Número de elétrons

[Ni(cis-salcn)] – Cis-N,n'-bis-(salicideno)-1,2-(cicloexadiaminato)níquel(II)

NiO – Óxido de níquel II

NiOOH – Óxi-hidróxido de níquel III

NIRS – Espectroscopia no infravermelho próximo (Near-Infrared Spectroscopy)

OMS – Organização Mundial da Saúde

PTFE - Politetrafluoretileno

pH – Potencial hidrogeniônico

R – Coeficiente de correlação linear

R² – Coeficiente de determinação

SCE – Eletrodo saturado de calomelano (Saturated Calomel Electrode)

SD – Desvio padrão (Standard Deviation)

SEM – Microscopia eletrônica de varredura (Scanning Electron Microscopy)

SNC – Sistema nervoso central

t – Tempo

TGA – Análise Termogravimétrica (Thermogravimetric Analysis)

UFSCar – Universidade Federal de São Carlos

USP – Universidade de São Paulo

v – Velocidade de varredura do potencial elétrico

VC – Voltametria Cíclica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1. Bebidas alcoólicas.....	18
1.1.1. Definição, histórico e tipos	18
1.1.2. Perfil no consumo de bebidas alcoólicas.....	19
1.2. Etanol	20
1.2.1. Aspectos físico-químicos	20
1.2.2. Aspectos farmacológicos	21
1.3. Uísque.....	22
1.3.1. Definição	22
1.3.2. Processo de fabricação	23
1.3.3. Tipos e composição do uísque.....	24
1.3.4. Principais formas de adulteração.....	24
1.4. Métodos analíticos.....	25
1.4.1. Métodos eletroanalíticos	25
1.4.1.1. Voltametria	25
1.4.1.1.1. Voltametria Cíclica.....	26
1.4.1.2. Amperometria.....	31
1.5. Abordagens em Eletroquímica	32
1.5.1. Eletrodos de Carbono.....	32
1.5.1.1. Eletrodos de Pasta de Carbono	33
1.5.2. Modificação química dos eletrodos	34
1.5.3. Bases de Schiff: Histórico e Aplicações	34
1.5.4. Hidróxido de Níquel: Definição e Aplicações.....	36
1.6. Análise do Etanol por Técnicas Eletroanalíticas.....	38
2. OBJETIVOS.....	41
2.1. Objetivos específicos	41

3. MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1. Materiais, Reagentes e Amostras.....	42
3.2. Instrumentação	43
3.3. Procedimento Experimental	43
331. Confeção da Pasta de Carbono.....	43
332. Caracterização do complexo e do eletrodo de trabalho	44
3.3.2.1. TGA-DSC	44
3.3.2.2. SEM-EDS	45
333. Análises Eletroquímicas.....	45
3.3.3.1. Voltametria Cíclica.....	46
3.3.3.2. Amperometria.....	46
3.3.3.3. Figuras de mérito.....	47
3.3.3.3.1. Linearidade e Limiares Analíticos	47
3.3.3.3.2. Estudo de Interferentes	47
3.3.3.3.3. Ensaios de Recuperação.....	48
3.3.3.4. Quantificação do Etanol nas Amostras	48
334. Análise Picnométrica.....	49
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.1. Caracterização do complexo e do eletrodo de trabalho modificado	50
4.1.1. Análise Termogravimétrica (TGA-DSC)	50
4.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM-EDS)	51
4.2. Análises eletroquímicas	52
4.2.1. Voltametria Cíclica.....	52
4.2.1.1. Área ativa do eletrodo de trabalho	52
4.2.1.2. Otimização do eletrólito suporte	54
4.2.1.3. Teor de modificador na pasta de carbono.....	55
4.2.1.4. Otimização dos parâmetros voltamétricos.....	56

4.2.2.	Amperometria	66
4.2.2.1.	Otimização do potencial de detecção para os ensaios amperométricos	66
4.2.3.	Figuras de Mérito	67
4.2.3.1.	Linearidade e Limiares Analíticos	67
4.2.3.2.	Estudos dos Interferentes.....	71
4.2.3.3.	Ensaio de Recuperação	73
4.3.	Quantificação do teor alcoólico nas amostras	74
4.4.	Análise picnométrica	75
CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....		79
REFERÊNCIAS		81
ANEXOS		89

1. INTRODUÇÃO

1.1. Bebidas alcoólicas

1.1.1. Definição, histórico e tipos

Com relatos e estudos desde o período do antigo testamento, o etanol é uma das substâncias mais consumidas pela humanidade de forma exagerada ^[1]. Em análises de jarros antigos encontrados em uma região do norte da China pode-se determinar que a primeira poção alcoólica (um drinque que continha arroz, mel, uvas e um tipo de cereja) foi produzida por volta do ano de 8000 a.C. ^[2]. Em seguida, por volta de 4000 a.C. os sumérios aperfeiçoaram o processo de fabricação de bebidas alcoólicas a partir de grãos de trigo e cevada sendo concebida pela primeira vez a cerveja. Inicialmente, o consumo da cerveja era restrito apenas à elite da sociedade, porém com o passar do tempo a cerveja passou a ser consumida pelas classes menos favorecidas economicamente. Esta migração no padrão de consumo da cerveja fez com que a elite consumisse outro tipo de bebida alcoólica: o vinho ^[2].

Outras civilizações antigas (egípcios, gregos e romanos) também consumiam o etanol na forma de bebidas alcoólicas seja por entretenimento ou como arma para fins geopolíticos e militares. Um exemplo disso são os romanos que inicialmente embriagavam seus inimigos com vinho antes de realizar expedições militares, facilitando o processo de conquista territorial ^[2]. Atualmente, é conhecido que o consumo moderado de álcool favorece no relaxamento e aumento da sociabilidade do consumidor, além de contribuir em aspectos saudáveis, com benefícios cardiovasculares e anticancerígenos ^[3].

Durante a idade média, o consumo de bebidas alcoólicas já estava disseminado nas mais diversas culturas da época (vikings, islâmicos, hunos, mesoamericanos e etc.). Na Europa, por exemplo, novos tipos de bebidas destiladas como o uísque, gim e rum foram elaborados ^[3]. Com o passar do tempo, principalmente durante o período da revolução industrial, as inovações tecnológicas aperfeiçoaram o processo de fabricação das bebidas alcoólicas, favorecendo a elaboração de novos tipos de bebidas assim como também melhorando qualitativamente e quantitativamente a capacidade produtiva, tornando as bebidas mais acessíveis ao consumo da população mundial em geral ^[2].

As bebidas alcoólicas (Figura 1) são produzidas pela conversão de açúcares (monossacarídeos e dissacarídeos) em etanol devido à ação de leveduras (gênero *Saccharomyces*). Estas bebidas podem ser classificadas de acordo com a sua origem, sendo os

dois principais tipos: bebidas fermentadas (cerveja, vinho, cidra etc.), produzidas através da fermentação alcoólica dos mostos açucarados por leveduras; e as bebidas destiladas (uísque, rum, cachaça, vodca etc.), que são produzidas pela destilação do álcool sintetizado durante a etapa de fermentação. Além disso, é possível produzir bebidas com maior teor alcoólico (licores e aguardente) por meio da evaporação do álcool em bebidas fermentadas ^[1].

Figura 1. Exemplos de bebidas alcoólicas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

1.1.2 Perfil no consumo de bebidas alcoólicas

De acordo com o Relatório Global Sobre Álcool e Saúde em 2018 divulgado pela OMS, 55,5% da população mundial com idade igual ou superior a 15 anos declarou que já consumiu algum tipo de bebida alcoólica pelo menos uma vez em sua vida e 43% deste público se declarou consumidor atual (consumo realizado no último ano) deste tipo de bebida. Com os dados relacionados ao Brasil, os valores encontrados foram de 78,6% e 40,3% respectivamente ^[4].

Em relação ao consumo diário de álcool no Brasil para o público consumidor (idade igual ou superior a 15 anos), o valor médio de álcool puro consumido em 2016 foi igual a 41,7 g (cerca de 3 doses-padrão de álcool) por dia. Este dado observado no Brasil é aproximadamente 27% superior ao valor observado pelos consumidores nas Américas e na média mundial (ambas de 32,8 g/dia o equivalente à 2,3 doses/dia) ^[4].

Analisando a preferência do consumidor por um determinado tipo de bebida alcoólica, pode-se concluir que este dado é influenciado por diversos fatores, sejam eles sociais, culturais ou até mesmo individuais. Também de acordo com o estudo divulgado pela OMS, as bebidas destiladas são as mais consumidas no mundo (44,8%), seguida pela cerveja (34,3%) e vinho (11,7%). Porém, nas Américas (com as exceções de Argentina, Uruguai e Chile pela predileção

pelo vinho) e principalmente no Brasil, a cerveja é a bebida alcoólica mais consumida (61,8%), acompanhada logo a seguir pelos destilados (34,3%) e pelo vinho (3,4%) ^[4].

1.2. Etanol

1.2.1. Aspectos físico-químicos

Os álcoois são compostos orgânicos que possuem um carbono saturado (com as quatro ligações covalentes preenchidas) ligado com um grupo hidroxila (OH^-). Devido a presença do grupo hidroxila em sua composição, os álcoois de cadeia curta (com até 3 carbonos) são compostos polares, característica que os torna miscíveis em água e em outros líquidos polares ^[5,6].

Dentro da família dos álcoois, o álcool etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) é o principal constituinte das bebidas alcoólicas, possuindo a denominação comum para o derivado hidroxílico do etano. A IUPAC (tradução do inglês para União Internacional de Química Pura e Aplicada) também o identifica como etanol, com número de registro no CAS (Chemical Abstracts Service) de 64-17-5 ^[7].

O álcool etílico (Figura 2) possui como principais características ser um líquido transparente com baixa massa molar, polar, com miscibilidade em água e na maioria dos líquidos de baixa massa molar, sendo facilmente produzido na indústria. Além disso, é um composto inflamável, com capacidade de produzir e liberar vapores irritantes ^[5,8].

Figura 2. Fórmula estrutural do etanol.

Fonte: [9]

As principais propriedades físico-químicas do álcool etílico são descritas na Tabela 1 ^[8].

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do etanol.

Propriedade Físico-Química	Valor
Ponto de fusão	-112°C
Ponto de ebulição	78,3°C
Massa molar	46,07 g mol ⁻¹
Densidade	0,790 g cm ³
Calor de combustão	-6425 cal g ⁻¹
Viscosidade	1,11 cP

Fonte: [8].

1.2.2 Aspectos farmacológicos

De forma geral, a principal via de administração do álcool etílico é oral por meio do consumo de bebidas alcoólicas. Após a ingestão, o álcool é absorvido pelo organismo de forma predominante no estômago (30%) e no duodeno (65%). O tempo entre a ingestão e a completa absorção do álcool etílico pode ser estimado em média uma hora, porém o tempo e a quantidade de álcool a ser metabolizado depende de diversos fatores, como por exemplo a presença e o tipo de comida digeridos anteriormente no estômago, além da velocidade no consumo pelo indivíduo [4,10]. Após a etapa de absorção, o álcool é distribuído pelo sangue a todos os tecidos que possuam água em sua maior concentração, especialmente no fígado (onde ocorre quase que exclusivamente a metabolização do álcool), coração, cérebro, rins e músculos [4]. No fígado, aproximadamente 95% do álcool ingerido é metabolizado por meio de enzimas específicas, as quais o convertem em acetaldeído que em seguida é convertido em ácido acético, tornando este o produto final da metabolização. Em geral, o tempo que leva para o organismo metabolizar uma dose padrão de bebida alcoólica (cerca de 14 g de álcool puro) é de 1 a 3 horas [4]. Aproximadamente 95% do álcool consumido é excretado pela urina após sua metabolização no fígado, sendo o restante do álcool eliminado sem passar pelo processo de metabolização através da respiração, transpiração e salivagem [4].

Em geral, o álcool etílico atua no organismo como um depressor do sistema nervoso central (SNC) influenciando na liberação dos principais neurotransmissores presentes no SNC (GABA, glutamato, dopamina, serotonina, acetilcolina e opioides endógenos) assim como também acaba influenciando no fluxo de cálcio (Ca⁺²) que permeia a membrana celular [11]. Os principais efeitos relacionados ao consumo de álcool variam de acordo com a quantidade

ingerida, desde sintomas como desinibição e relaxamento passando por estado de euforia até apresentar sintomas mais graves como disartria, perda de coordenação motora e perda de consciência ^[4].

1.3. Uísque

1.3.1. Definição

Pela definição mais aceita na maioria dos países, o uísque (whisky ou whiskey dependendo do país) consiste em um líquido destilado obtido a partir de mistura de cereais, levedura e água, no qual é envasado e armazenado para maturação em barris de madeira (carvalho) ^[12]. De acordo com a legislação brasileira, no Artigo 55 do Decreto nº 6871 de 04 de junho de 2009 promulgado pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) ^[13], a definição utilizada para esta bebida alcoólica é:

“Uísque, whisky ou whiskey é a bebida com graduação alcoólica de trinta e oito a cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida do destilado alcoólico simples de cereais envelhecidos, parcial ou totalmente maltados, podendo ser adicionado de álcool etílico potável de origem agrícola, ou de destilado alcoólico simples de cereais, bem como de água para redução da graduação alcoólica e caramelo para correção da cor.” ^[13].

Em geral, o uísque (Figura 3) é obtido pela destilação de cereais anteriormente dissolvidos em água e fermentados por leveduras, cujo processo de maturação acontece em barris de carvalho com tempo mínimo de 3 anos, exibindo as características sensoriais específicas da bebida (cor, sabor e aroma) ^[14].

Uma pesquisa realizada em 2017 pela empresa SEMRush (líder mundial em marketing digital e em ferramentas de monitoramento na internet) descobriu que o uísque e suas palavras derivadas (como marcas e tipos) foi o termo relacionado à bebida alcoólica mais buscado na internet em território nacional, com aproximadamente 110 mil buscas naquele ano. Este dado obtido demonstra que embora não seja a bebida alcoólica mais consumida no Brasil, perdendo para a cerveja e a cachaça, o uísque vem atraído interesse em novos consumidores, sobretudo os mais jovens ^[15].

Figura 3. Uísque.

Fonte: Elaborado pelo autor.

1.3.2. Processo de fabricação

O processo de fabricação do uísque consiste em cinco etapas principais: maltagem, maceração, fermentação, destilação e maturação. Inicialmente, a cevada é convertida em malte, onde os grãos da cevada são umidificados, acelerando o processo de germinação artificial e em seguida dispostos em estufas para a redução do teor de umidade, facilitando o processo de conversão do amido em açúcares ^[14].

Na etapa de maceração (ou "mashing"), os grãos são moídos em uma farinha grosseira ("grist") e logo em seguida, transferidos para um tanque de cozimento contendo água a uma determinada temperatura onde ocorrerá a ativação enzimática que converterá os polissacarídeos em açúcares simples. Na fermentação, leveduras são adicionadas neste mosto açucarado em um reservatório com temperatura controlada para converter o açúcar em álcool. Na destilação, o mosto fermentado proveniente da etapa anterior é aprisionado em alambiques de cobre para separar a água do álcool por meio da diferença do ponto de ebulição entre ambos, podendo esta etapa possuir de 2 a 3 destilações sucessivas dependendo do uísque a ser produzido. Por fim, na etapa de maturação (ou envelhecimento), o destilado obtido é armazenado em barris de carvalho por um tempo mínimo que varia de 2 a 4 anos, onde ocorrerá a conversão do destilado em uísque, adquirindo as características sensoriais da bebida ^[14,16].

Ao final do processo de maturação, o uísque envelhecido é extraído do barril por meio de filtros de celulose em temperatura baixa (5 a 10°C) para remoção de partículas suspensas; adiciona-se corante caramelo (ou E150) para a correção de eventuais variações de tonalidade e engarrafado em garrafas de vidro de 750 mL por meio de linha mecanizada ^[16].

133. Tipos e composição do uísque

De acordo com o Decreto nº 6871 da legislação brasileira vigente, o uísque pode ser catalogado de acordo com o tipo de cereal usado na produção, dentre os quais podem ser citados os uísques do tipo puro malte, cortado (ou blended whisky), cereais (ou grain whisky) e bourbon whisky ^[13]. Além dos tipos de uísque citados acima, existem muitos outros como por exemplo o whiskey americano, o whiskey irlandês e o whisky escocês, sendo este último citado como o mais popular e apreciado no mundo inteiro ^[17-20].

O uísque constitui essencialmente em uma mistura de água, álcool etílico e congêneres, com concentrações (% v/v) aproximadas de 59,9, 40 e 0,1 % (v/v) respectivamente. Os congêneres são traços de componentes secundários provenientes das matérias-primas e dos barris de madeira usados na etapa de maturação, os quais são determinantes para as características específicas da bebida produzida. Os congêneres mais encontrados em análises das amostras de uísque são álcoois de cadeia superior (álcool n-propílico, álcool iso-butílico, álcool iso-amílico e etc.), ésteres (acetato de etila), compostos carboxílicos (acetaldeído, furfural, hidroximetilfurfural) e etc. ^[13,20].

134. Principais formas de adulteração

A mídia recentemente tem noticiado com frequência um aumento no número de apreensões de bebidas alcoólicas adulteradas pela força policial, em especial as bebidas destiladas (vodca, uísque, rum, cachaça e etc.) devido ao seu alto consumo e valor agregado, justificando, portanto, a aplicação de análises confiáveis na quantificação do teor alcoólico destas bebidas ^[21-23].

Em geral, estas bebidas são adulteradas pela adição de água ou de simples mistura de água, álcool de procedência duvidosa, aromas e corantes alimentícios (no caso específico do uísque com corante caramelo) ^[24,25]. Os principais transtornos causados pela falsificação de bebidas são relacionados aos riscos à saúde do consumidor final, por ser uma atividade ilegal com uso de matéria-prima e instrumentação sem um controle mínimo de qualidade, além claro de lesão ao erário ^[22,24].

Com estas adulterações, torna-se necessário a realização de análises físico-químicas no controle de qualidade das bebidas alcoólicas, sendo as mais utilizadas atualmente a picnometria, a cromatografia e a espectroscopia ^[24]. Um outro conjunto de técnicas analíticas que possui capacidade de auxiliar no controle de qualidade das bebidas são as técnicas eletroanalíticas,

devido à sua facilidade de implementação, portabilidade, detectabilidade e baixo custo de operação.

1.4. Métodos analíticos

1.4.1. Métodos eletroanalíticos

A Química Analítica busca entender, identificar e quantificar os componentes presentes em uma amostra, seja por métodos clássicos ou por métodos instrumentais. Estes métodos analíticos são muito úteis e valiosos a ponto de serem aplicados em diversas áreas da ciência, desde a Física até a Medicina ^[26].

A eletroanalítica consiste em grupo de técnicas analíticas fundamentadas no estudo das propriedades elétricas de um analito presente em solução, podendo ser medidas em função do tempo ou do volume (titulações) ^[27]. As técnicas envolvidas no estudo da eletroanalítica podem ser catalogadas em dois principais grupos ^[27], baseadas:

- na transferência de cargas elétricas no nível da interface eletrodo/solução (e. g., voltametria, potenciometria, amperometria);
- no estudo da interface eletrodo/solução (exemplo: condutimetria).

1.4.1.1. Voltametria

De forma geral, a voltametria é o conjunto de técnicas eletroanalíticas que medem a intensidade da corrente elétrica em função da varredura do potencial elétrico aplicado ^[27].

Nesta técnica, é utilizada uma célula eletroquímica contendo três eletrodos: o eletrodo de trabalho, o eletrodo auxiliar e o eletrodo de referência ^[26], como pode ser observado sua distribuição dentro da célula eletroquímica na Figura 4 ^[28].

Figura 4. Representação esquemática de uma célula eletroquímica onde: “A)” - eletrodo de referência, “B)” - eletrodo de trabalho e “C)” – eletrodo auxiliar.

Fonte: Adaptado pelo autor, baseado em [28].

No sistema mostrado na Figura 4, o potencial elétrico é aplicado por um instrumento denominado potenciostato ^[26]. Este instrumento aplica o potencial elétrico entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, fazendo com que o potencial aplicado induza a formação de uma corrente elétrica que é transportada entre o eletrodo de trabalho e o contra eletrodo (ou eletrodo auxiliar) ^[26,29-30]. O eletrodo auxiliar e o eletrodo de referência não devem ser degradados por nenhum tipo de reação química ou física durante a análise eletroquímica ^[26,29-30].

As técnicas voltamétricas empregadas atualmente diferenciam-se essencialmente na forma com que a variação do potencial elétrico é aplicada, sendo as mais empregadas ^[26]:

- Voltametria linear;
- Voltametria cíclica;
- Voltametria de pulso diferencial;
- Voltametria de onda quadrada.

1.3.1.1.1. Voltametria Cíclica

A técnica da voltametria cíclica consiste em realizar uma varredura linear do potencial elétrico em função do tempo, com medição posterior da corrente elétrica. O potencial elétrico é alterado de forma a identificar as reações de oxidação/redução de interesse. Esta técnica

possui este nome justificado, pois ao finalizar a varredura de potencial de sentido direto, este é revertido e a varredura passa a acontecer no sentido contrário, retornando ao potencial elétrico inicial e finalizando assim o ciclo [29,31-33].

Por ser uma técnica voltamétrica, o sinal monitorado durante a varredura de potencial é a corrente e o gráfico plotado por estas duas variáveis é denominado como voltamograma. Como exemplo, o sinal voltamétrico de um sistema reversível para um composto hipotético X pode ser observada na Figura 5, de acordo com a reação descrita na equação (1):

Figura 5. Representação adaptada de um voltamograma cíclico obtido a partir da análise de um composto hipotético X.

Fonte: Adaptado pelo autor baseado em [26].

O ponto A no voltamograma indica o início da varredura de potencial, com a varredura

indo em direção para potenciais mais positivos. Entre os pontos A e B, não ocorre mudança considerável na intensidade da corrente (aproximadamente igual a zero), pois não existem substâncias que possam ser oxidadas ou reduzidas para esta faixa de potencial [26].

Com início em B, ocorre um incremento na intensidade da corrente anódica, devido ao início da reação de oxidação do íon X^{+2} para X^{+3} na proximidade da superfície eletródica. O rápido incremento na intensidade da corrente entre os pontos B e D pode ser explicado em virtude do consumo dos íons X^{+2} localizados próximos a superfície eletródica, atingindo o pico de consumo do analito no ponto D. A diminuição na intensidade da corrente elétrica entre os pontos D e F é justificada não pelo fim da reação de oxidação do analito, mas devido a diminuição na quantidade de íons X^{+2} localizados próximos a superfície eletródica, pois a velocidade de varredura do voltamograma é maior que a velocidade de reposição dos íons presentes no seio da solução em direção a superfície eletródica [26].

A reversão no sentido da varredura de potencial para potenciais mais negativos ocorre no ponto F no voltamograma, porém a corrente permanece anódica, pois não foi alcançado o potencial elétrico exigido para o início da redução dos íons. A corrente torna-se catódica apenas no transcorrer da varredura entre os pontos H e J. De forma análoga ao processo de oxidação, forma-se inicialmente um pico catódico (ponto J) por meio da redução dos íons X^{+3} seguida pela diminuição da intensidade da corrente catódica (entre os pontos J e K) devido a menor quantidade de íons X^{+3} localizados próximos a superfície eletródica. O ponto K indica o fim da varredura [26].

Pela análise de alguns parâmetros fornecidos por estes voltamogramas, é possível obter informações qualitativas e quantitativas do analito de interesse. Os potenciais de pico anódico e catódico (E_{pa} e E_{pc}) podem ser associados à identificação do analito, a separação dos potenciais de pico anódico e catódico pode ser associada a reversibilidade do sistema em estudo e a intensidade das correntes de pico anódica e catódica (i_{pa} e i_{pc}) são associadas a concentração do analito, de acordo com as leis de Faraday [26,34-35].

Em uma reação do tipo reversível, a intensidade das correntes de pico anódico e catódico são aproximadamente iguais entre si e a separação dos potenciais de pico anódico e catódico (a 25°C) ΔE_p (em Volts) deve ser igual a [26]:

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 0,059/n \quad (2)$$

em que n é o número de elétrons envolvido na semirreação [26].

Para a investigação dos aspectos quantitativos envolvidos em uma reação eletroquímica do tipo reversível, como por exemplo a área ativa do eletrodo, a concentração e o coeficiente de difusão de um analito em solução, pode ser usada a equação de Randles-Sevick (a 25° C) (equação 3) que é igual a [26]:

$$i_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} a C D^{1/2} v^{1/2} \quad (3)$$

em que i_p é a corrente de pico (A), a é a área ativa do eletrodo (cm²), D é o coeficiente de difusão do analito (cm² s⁻¹), C é a concentração do analito (mol cm⁻³) e v é a velocidade de varredura (V s⁻¹) [26].

Nas reações do tipo irreversível, a separação dos potenciais de pico anódico e catódico (ΔE_p) são maiores do que o valor previsto pela equação acima, devido a cinética lenta de transferência eletrônica que acontecem neste tipo de reação. A cinética lenta de transferência eletrônica e sua constante de velocidade podem ser observadas pela medida de separação dos picos em diferentes velocidades de varredura, pois em baixas velocidades de varredura determinadas reações de transferência eletrônica possuem características do tipo reversível. Contudo em velocidades mais altas ocorre um aumento na separação dos picos, evidenciando uma reação do tipo irreversível [26].

Com a associação dos parâmetros (E_p e i_p) obtidos no voltamograma em conjunto com a modificação da velocidade de varredura, é possível obter dados relativos aos processos termodinâmicos e cinéticos envolvidos no sistema, conforme pode ser demonstrado na Tabela 2 [32,33].

Tabela 2. Associação entre os parâmetros da voltametria cíclica com o mecanismo da reação.

Parâmetros associados	Resposta obtida	Mecanismo relacionado
i vs v	Linear	Controlado por Adsorção
i vs v^{1/2}	Linear	Controlado por Difusão
log i vs log v	Linear, com inclinação da reta igual a 0,5	Controlado por Difusão
	Linear, com inclinação da reta igual a 1,0	Controlado por Adsorção
	Linear, com inclinação da reta entre 0,5 e 1,0	Controlado por Adsorção e Difusão
i v^{-1/2} vs log v	Linear	Controlado por Difusão
	Cresce com v	Controlado por Adsorção
E_p vs log v	Linear, com deslocamento de E _p para potenciais mais positivos	Mecanismo EC*
	Linear, com deslocamento de E _p para potenciais mais negativos	Mecanismo CE**

*Mecanismo EC – etapa eletroquímica seguida por uma etapa química.

**Mecanismo CE – etapa química seguida por uma etapa eletroquímica.

Fonte: Adaptado pelo autor, baseado em [32,33].

Os mecanismos de reação mais estudados são intitulados como EC e CE. No mecanismo EC, acontece no sistema uma etapa eletroquímica (transferência de elétrons) acompanhada por uma reação química. Já no mecanismo CE, ocorre o inverso, onde uma reação química é acompanhada por uma etapa eletroquímica.

1.4.1.2. Amperometria

A amperometria é uma técnica eletroanalítica baseada na aplicação de um ou mais degraus de potencial elétrico fixo (Figura 6), induzindo a geração de uma corrente elétrica (Figura 7) ^[36]. Esta técnica é fundamentada na medida da intensidade da corrente-limite sob um potencial elétrico fixo, onde a concentração do analito presente na solução é diretamente proporcional com a intensidade da corrente elétrica obtida ^[26].

O sinal elétrico obtido pode variar de acordo com a condição em que o meio reacional se apresenta, estando em condição por agitação ou em modo estacionário, conforme exibido na Figura 7. A agitação do meio reacional promove um carregamento contínuo das espécies eletroativas na superfície do eletrodo, o que justifica a indução de um sinal elétrico transiente.

Figura 6. Perturbação aplicada em amperometria com um único degrau de potencial.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 7. Tipos de resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial, em condição por agitação (A) e estacionária (B).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Um dos maiores benefícios obtidos pelo uso da amperometria como ferramenta de análises consiste no fato dela ser realizada em um potencial elétrico constante, onde a corrente capacitiva residual torna-se constante demonstrando baixos valores, aproximadamente igual a zero. Por este fato, a amperometria apresenta maior sensibilidade em comparação com as técnicas voltamétricas que se baseiam na varredura de potenciais.

A amperometria também apresenta limitações, sendo a principal delas a baixa seletividade. No caso da amperometria acontecer em potenciais máximos (positivos ou negativos), é favorecida a oxidação ou redução de todos os compostos na solução que são eletroativos em potenciais menores do que o valor ajustado. Logo, é recomendável usar valores mínimos de potenciais elétricos [36].

As principais aplicações da amperometria na eletroanalítica envolvem as titulações amperométricas, sensores amperométricos e as medidas em fluxo. Ao associar a amperometria com técnicas analíticas de alta velocidade, como por exemplo BIA (análise por injeção em batelada) e FIA (análise por injeção em fluxo), as medidas são fundamentadas pelos picos de corrente em função do tempo de análise, através da aplicação de um potencial elétrico fixo ao eletrodo de trabalho. O saldo obtido entre os sinais de corrente gerados pelo analito de estudo e pelo eletrólito suporte (branco) é a medida de interesse, e esta deve ser correspondente à concentração do analito na solução [36].

1.5. Abordagens em Eletroquímica

1.5.1. Eletrodos de Carbono

A aplicação do carbono na eletroquímica teve início por volta de 1840, com a substituição dos eletrodos de platina e cobre que eram utilizados nas pilhas do período citado. Com as suas características químicas e eletroquímicas e sua diversidade nas estruturas físicas, atualmente é viável encontrarmos eletrodos de carbono na forma de grafite sólido, carbono poroso, carbono vítreo, pasta de carbono, etc. [37,38].

Analisando os ensaios eletroquímicos em solução, a faixa de potencial aplicado para os eletrodos de carbono é restringida pelas reações de desprendimento de oxigênio e hidrogênio, mas sua faixa é mais extensa que a faixa de potencial aplicado para os eletrodos de platina na maior parte dos eletrólitos, e também podem ser usados em meios mais ácidos do que os eletrodos de mercúrio, que possuem sua faixa de potencial aplicado restrita devido à sua oxidação nesta condição específica, conforme podemos verificar na relação simplificada das

faixas de potenciais destes eletrodos representados pela Figura 8 ^[29,31].

Figura 8. Escala representativa das faixas de trabalho para o potencial aplicado nos eletrodos de platina (Pt), mercúrio (Hg) e carbono (C) em diversos eletrólitos suportes.

Fonte: Baseado em [29,39-40].

A diversidade nas estruturas físicas do carbono usadas para a fabricação dos eletrodos influencia no sinal voltamétrico obtido, por meio da diferença de altura, resolução e separação entre os picos, sendo este último fator totalmente vinculado à reversibilidade do sistema ^[41].

Os principais benefícios no uso do carbono como material em eletrodos são a alta condutividade elétrica, alta reprodutibilidade superficial e baixo custo, justificando o crescimento de seu emprego nas técnicas eletroquímicas ^[38,41].

1.5.1.1. Eletrodos de Pasta de Carbono

Os eletrodos de pasta de carbono foram produzidos por Ralph Adams em 1958, enquanto ele averiguava as propriedades do eletrodo gotejante de carbono. Naquele momento, a pasta era produzida através de uma mistura uniforme de carbono e bromofórmio, que em seguida era introduzida em um copo de Teflon junto com um contato elétrico, surgindo então o eletrodo ^[42].

Atualmente, a pasta de carbono é produzida através da mistura de pó de carbono (grafite) com um aglutinante (parafina, nujol ou óleo de silicone), com a intenção da pasta atingir uma consistência maleável, dando forma ao eletrodo. Estes aglutinantes servem com apenas esta finalidade, não devendo possuir impurezas em sua composição ou ainda não serem reativos aos analitos que serão estudados ^[35].

As principais vantagens no uso de um eletrodo de pasta de carbono são a fácil renovação da superfície por meio de polimento em uma folha de papel sulfite lisa, praticidade no preparo da pasta e acessível adição de modificadores químicos em sua superfície, com a incorporação destes à mistura contendo o pó de carbono e aglutinante ^[34,38,41-44].

152. Modificação química dos eletrodos

A expressão “eletrodo quimicamente modificado” foi inicialmente introduzida por Royce W. Murray nos anos 70 para apresentar um eletrodo que possuísse grupos químicos retidos em sua superfície. Estas modificações, realizadas em sua superfície, tem a função de aprimorar as propriedades eletrocatalíticas e a seletividade do eletrodo em si, fazendo com que os agentes modificadores atuem como mediadores na transferência eletrônica que ocorre entre a superfície do eletrodo e a espécie eletroativa na solução ^[45].

Há diversas formas de produzir um eletrodo quimicamente modificado, seja por adsorção irreversível de modificador, formação de ligações covalentes e deposição de filmes poliméricos na superfície eletródica ou ainda por meio da adição do composto modificador diretamente no preparo do material do eletrodo, como por exemplo, a pasta de carbono ^[45,46].

As principais aplicações para os eletrodos quimicamente modificados são na área de eletroanálise na produção de sensores eletroquímicos, na área de eletrocatalise para uso em células combustíveis e na área de materiais na fabricação de dispositivos que possuem alteração de cor conforme ocorrem processos de oxidação ou redução ^[26,40].

153. Bases de Schiff: Histórico e Aplicações

As bases de Schiff (ou azometinas) são compostos que foram inicialmente sintetizados pelo químico alemão Hugo Schiff em 1864, por meio de uma reação entre uma amina e uma substância contendo um grupo carbonil ativo (exemplos: aldeído, cetona), seguida por uma etapa final de hidrogenação, com a finalidade de sintetizar uma imina, conforme demonstrado na Figura 9 ^[45,46]. A fórmula geral de uma base de Schiff é $R_1 - R_2 - C = N - R_3$, onde o radical R_3 consiste obrigatoriamente em um grupo fenil ou alquil, o qual garante a estabilidade do composto sintetizado. As bases de Schiff possuem diversas aplicações, sobretudo na área biológica e na síntese de polímeros ^[47-50].

Figura 9. Esquema geral para a síntese de uma base de Schiff.

Fonte: Baseado em [46].

Devido ao seu caráter estável, as bases de Schiff são frequentemente utilizadas em reações de complexação com diversos centros metálicos, como por exemplo, níquel, cobre, manganês, urânio, cobalto, etc. [46].

Neste estudo, foi utilizado como modificador da pasta de carbono, o complexo cis-N,n'-bis-(salicideno)-1,2-(cicloexadiaminato)níquel(II) ([Ni(cis-salcn)]) obtido pela reação de complexação do sal metálico (acetato de níquel (II)) com a base de Schiff (cis-salcn), cuja estrutura molecular está representada na Figura 10.

Figura 10. Estrutura molecular do complexo [Ni(cis-salcn)].

Fonte: Elaborado pelo autor.

A ideia do uso desse complexo de níquel presente na pasta de carbono será de atuar como precursor para a geração de espécies de níquel III na superfície do eletrodo de trabalho em meio alcalino, que por sua vez atuarão como mediadores na oxidação eletrocatalítica do

etanol e assim proporcionando a quantificação do teor alcoólico das bebidas.

15.4. Hidróxido de Níquel: Definição e Aplicações

O emprego do hidróxido de níquel, também denominado como óxido de níquel hidratado ($\text{NiO} \cdot \text{H}_2\text{O}$) como cátodo em baterias tem sido investigado em virtude de suas propriedades electrocatalíticas. Sua estrutura cristalina lamelar pode ser modificada conforme o grau de organização das lâminas. As fases mais habituais de serem encontradas são as estruturas $\alpha\text{-Ni}(\text{OH})_2$ e $\beta\text{-Ni}(\text{OH})_2$, onde a fase α apresenta um maior nível de desarranjo ^[51].

Ademais, o hidróxido de níquel exibe uma forma oxidada em meio básico, o NiOOH (oxi-hidróxido de níquel) que igualmente exibe duas estruturas singulares, β e a γ . Na Figura 11, é demonstrado o diagrama de Bode que reproduz de maneira simples as estruturas que o $\text{Ni}(\text{OH})_2$ e o NiOOH são capazes de gerar ^[52,53].

Figura 11. Diagrama de Bode.

Fonte: Adaptado de [52] e [53].

Por meio da análise do diagrama de Bode, o $\text{Ni}(\text{OH})_2$ e sua forma oxidada podem ser encontrados nas suas mais diversas estruturas, seja por meio da fácil conversão da fase $\alpha\text{-Ni}(\text{OH})_2$ na fase β mediante a ciclagem sucessiva do eletrodo, como também a fase $\gamma\text{-NiOOH}$ pode ser adquirida via sobrecarga. O alto nível de desarranjo demonstrado nas fases α e γ pode ser explicado pela maior distância entre lamelas (7 e 8 Å, respectivamente) em comparação

com as fases β (4,8 Å do NiOOH e 4,6 Å do Ni(OH)₂), o que por sua vez faz com que a exposição dos sítios ativos do hidróxido também seja maior, aperfeiçoando as propriedades eletroquímicas, embora no decorrer de sua transformação possa ocorrer um estresse mecânico irreversível, capaz de avariar o eletrodo ^[51].

A geração do NiOOH pode ser explicada de forma simplificada por meio da equação (4) a seguir, embora ensaios com microbalança de quartzo indicam que o mecanismo proposto para a oxidação do Ni(OH)₂ seja ligeiramente mais complexo do que isso ^[54].

Conforme descrito na equação (4), considerou-se que o eletrodo tivesse uma perda de massa correspondente ao átomo de hidrogênio perdido no decorrer da reação, porém em ensaios na prática foi observado um ganho de massa que poderia ser explicado pela combinação com os cátions dos eletrólitos, como pode ser descrito na equação (5) ^[54].

A existência de outras fases para o hidróxido de níquel já foi proposta e discutida em diversos trabalhos. Em 2015, Debela *et al.* apontaram a presença de uma fase β -Ni(OH)₂ “mal cristalizada”, que pode ser distinguida da fase “normal” analisando a deformação dos cristais do hidróxido, o que acaba possibilitando pequenas imperfeições na acomodação das lamelas e alterando, portanto, suas propriedades eletroquímicas ^[55]. No estudo publicado em 1996 por Bernard *et al.*, foi demonstrado como o grau de cristalização influencia na reatividade do material, onde quanto maior for o nível de desarranjo, maior será a reatividade do hidróxido ^[56].

As propriedades excepcionalmente versáteis apresentadas pelo hidróxido de níquel, principalmente em sua forma oxidada, fazem com que ele seja empregado nas mais diversas aplicações. O Ni (III) contém orbitais d semipreenchidos que são aptos a promover a oxidação de compostos orgânicos como por exemplo carboidratos ^[52], álcoois ^[52,57] e aldeídos ^[58]; habilitando o emprego do hidróxido de níquel em células a combustível e na síntese orgânica ^[59,60]. Porém, sua aplicação em conjunto com outras espécies químicas de níquel (exemplo: complexos de níquel) como agente modificador em sensores eletroquímicos vem igualmente conquistando relevância na comunidade científica.

1.6. Análise do Etanol por Técnicas Eletroanalíticas

De acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC) e o Instituto Adolfo Lutz (IAL), os métodos mais utilizados para avaliar o teor alcoólico de bebidas alcoólicas envolvem uma etapa prévia de destilação seguido da determinação do etanol por picnometria, densimetria e refratometria [61-63]. Além destas, também são utilizados, embora com menor frequência, outros métodos para determinar o teor alcoólico de bebidas como por exemplo a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) e cromatografia gasosa (GC) [24,64-66].

Embora as análises do teor alcoólico sejam feitas pelos métodos citados anteriormente, existem algumas desvantagens na aplicação destes métodos como por exemplo, as limitações nos procedimentos de pré-tratamento das amostras a serem analisadas, o longo tempo de análise e o uso de insumos (reagentes e instrumentação) de alto valor agregado. Desta forma, tem sido encorajado o uso de novas técnicas analíticas para a avaliação do teor alcoólico de bebidas alcoólicas, em especial as técnicas eletroquímicas, devido à sua facilidade de aplicação e o baixo custo na aquisição dos insumos necessários, habilitando laboratórios e empresas com menor estrutura física e orçamento aptos a realizarem estes ensaios.

Existem diversos estudos na literatura envolvendo o uso de técnicas eletroquímicas para a detecção e quantificação de álcoois em diversas matrizes por meio de diversos tipos de eletrodos, sendo que as técnicas mais usadas são a voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e amperometria [52,57,67-88].

Os primeiros estudos eletroquímicos publicados envolvendo a oxidação de compostos orgânicos ocorreram em 1971, quando Fleischmann *et al.* [57] publicaram um trabalho utilizando um eletrodo de níquel em KOH 1 mol L⁻¹ para investigar o mecanismo que favorecia a eletro-oxidação de diversos compostos orgânicos, dentre eles o etanol. No decurso do processo de oxidação do Ni(OH)₂ em meio alcalino, ocorre a geração contínua de NiOOH na superfície eletródica, o que por sua vez oxida o analito (composto orgânico), regressando a sua forma inicial de Ni(II), tornando-o capaz de ser reoxidado e causando um aumento no sinal de corrente elétrica que pode ser empregado para fins analíticos [57].

No trabalho publicado por Barbosa *et al.* [67] é proposto um mecanismo para a reação de eletro-oxidação do etanol em meio alcalino por um eletrodo de níquel sob condições controladas. Conforme descrito na Figura 12, o Ni(III) obtido eletroquimicamente a partir da eletro-oxidação do Ni(OH)₂ em meio alcalino (cinética rápida) oxida o etanol em acetaldeído (cinética lenta) sendo por sua vez igualmente oxidado pelo Ni (III) em acetato [67].

Figura 12. Mecanismo simplificado proposto para a reação de eletro-oxidação do etanol catalisada pelo NiOOH em meio alcalino.

Fonte: Baseado em [67].

Chen *et al.* [68] publicaram em 1997 um estudo eletroquímico envolvendo um eletrodo de fio de níquel oxidado acoplado em um sistema de injeção em fluxo (FIA) com detecção amperométrica, obtendo um potencial de detecção do etanol em +0,6 V (vs Ag/AgCl) em solução carreadora de NaOH 0,1 mol L⁻¹, com faixa linear de 10⁻⁵ até 10⁻³ mol L⁻¹ e limite de detecção de 10⁻⁶ mol L⁻¹ [68].

Em 2002, Paixão *et al.* [69] utilizaram um eletrodo rotativo de cobre em meio alcalino acoplado em um sistema de injeção em fluxo (FIA) com o etanol sendo extraído em fluxo através de uma membrana PTFE, cujo potencial aplicado para a detecção do etanol foi de +0,5 V (vs Ag/AgCl) em solução carreadora de NaOH 1,0 mol L⁻¹ e com limite de detecção do etanol igual a 0,4 % v/v [69].

Uma forma de promover um aumento na atividade eletrocatalítica na superfície eletródica é por meio da modificação química, melhorando a performance analítica dos eletrodos. Já foram usados diversos tipos de modificadores para promover um aumento na atividade eletrocatalítica para a oxidação dos álcoois sendo os mais empregados para este fim materiais biológicos, nanofios metálicos, complexos, óxidos e etc. [52,70-88].

Inicialmente, foram desenvolvidos biosensores amperométricos para a detecção de etanol em bebidas alcoólicas por meio de eletrodos modificados com enzimas e leveduras, obtendo ótimas performances analíticas [70-74].

Mais recentemente, foram publicados trabalhos envolvendo o uso de eletrodos

modificados com nanofios metálicos, nanotubos de carbono, complexos de níquel e óxidos de cromo, níquel e grafeno reduzido que mostraram excelente atividade eletrocatalítica na oxidação de álcoois obtendo baixos limites de detecção e quantificação [52,75-88].

Em estudos realizados por Roslonek e Taraszewska [89] e Bae *et al.* [90] para a análise da atividade eletrocatalítica promovida pelo complexo de níquel-tetraazamacrocíclico em relação às oxidações dos álcoois e do ácido *L*-ascórbico respectivamente, foi identificado um melhor desempenho do complexo estudado em comparação com o NiOOH, devido ao fato do complexo ter apresentado um sobrepotencial menor (0,1 V) e uma corrente de oxidação aproximadamente cinco vezes maior que os evidenciados pelo NiOOH. Outros estudos reportados também envolvendo o uso de outros complexos de níquel como modificadores em eletrodos que favoreceram a eletro-oxidação de álcoois foram realizados por Golabi e Nozad [91], Ciszewski e Milczarek [92], Golikand *et al.* [75], Golikand *et al.* [93], Cardoso *et al.* [76] e Mousavi *et al.* [82].

Apesar da existência de inúmeros estudos na literatura para a oxidação do etanol empregando diversos tipos de eletrodos (com e sem modificação) e métodos eletroquímicos, ainda não foram observados estudos utilizando especificamente o complexo [Ni(cis-salcn)] como modificador químico na superfície de eletrodos de pasta de carbono para a quantificação deste analito, o que justifica sua avaliação como um possível sensor eletroquímico devido a estabilidade do complexo na superfície eletródica, além da possibilidade de fabricação com custo baixo e precisão suficientes para a quantificação do teor alcoólico em bebidas, sendo este o objetivo principal deste trabalho.

2. OBJETIVOS

Este estudo consiste no desenvolvimento de um eletrodo de pasta de carbono modificado com um complexo metálico de base de Schiff ($[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$) para analisar via técnicas eletroquímicas (voltametria cíclica e amperometria) o teor alcoólico em amostras de uísque vendidas comercialmente.

2.1. Objetivos específicos

- Avaliar a estabilidade térmica do complexo de base de Schiff usado como modificador químico na pasta de carbono e estudar a morfologia da superfície do eletrodo de trabalho;
- Otimizar os parâmetros das técnicas eletroquímicas (voltametria cíclica e amperometria) para a detecção e quantificação do álcool etílico, utilizando como eletrólito suporte solução aquosa de hidróxido de sódio;
- Estudar a possível interação de outras substâncias normalmente presentes em amostras de uísque nas análises eletroquímicas;
- Avaliar o desempenho dos métodos eletroquímicos utilizados e a quantificação do teor alcoólico em amostras de uísque vendidas comercialmente na região de Ribeirão Preto comparando os resultados obtidos pelos métodos eletroquímicos propostos com o método picnométrico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Materiais, Reagentes e Amostras

O hexacianoferrato (III) de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$ - Carlo Erba) com concentração de 5 mmol L^{-1} foi utilizado no preparo de solução aquosa de cloreto de potássio (KCl - Synth) $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Esta solução foi utilizada como eletrólito suporte para o cálculo da área eletroativa do eletrodo de pasta de carbono sem modificação. O cloreto de sódio (NaCl - Vetec), ácido clorídrico (HCl - Vetec) e o hidróxido de sódio (NaOH - Synth) foram dissolvidos em água deionizada para serem usados como solução do eletrólito suporte nas análises eletroquímicas envolvendo a oxidação do etanol. O álcool etílico absoluto 99,5% grau HPLC (CH_3CH_2OH - Honeywell) foi utilizado como padrão analítico na construção das curvas analíticas deste estudo.

No estudo de verificação da atuação de possíveis interferentes nos ensaios eletroquímicos, foram usados a glicose ($C_6H_{12}O_6$ - Vetec) e o sulfito de sódio (Na_2SO_3 - Chemco).

No processo de confecção da pasta de carbono foram utilizados o pó de grafite (Synth), parafina sólida (Sigma Aldrich) e como modificador o complexo $[Ni(cis-salcn)]$.

O complexo $[Ni(cis-salcn)]$ foi sintetizado e purificado pelo aluno de doutorado Lucas dos Santos Mello e gentilmente cedido pelo grupo de pesquisa coordenado pelo Prof. Dr. Edward Dockal do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (DQ/UFSCar). O complexo foi sintetizado por meio da adição de 10 mL de solução aquosa de acetato de níquel (500 mmol L^{-1}) à temperatura ambiente em 50 mL de solução metanólica aquecida contendo o ligante base de Schiff cis-salcn (100 mmol L^{-1}). Após a formação do precipitado (complexo), a mistura permaneceu em refluxo por 4 horas, seguido por resfriamento, filtração e lavagem com água deionizada e metanol. Por fim, o complexo foi purificado por extração de Soxhlet com solvente apropriado e armazenado em um dessecador à vácuo contendo sílica gel azul ^[94].

Todos os reagentes utilizados neste estudo são de grau analítico.

Para a aplicação dos métodos eletroquímicos propostos neste estudo foram adquiridas no comércio local duas amostras de marcas diferentes (Bell's® e Red Label®) de uísque para realizar a quantificação do teor alcoólico presente.

3.2. Instrumentação

O potenciostato μ AutoLab III[®] (Echo Chimie, Utrecht, Holanda) interfaceado a um microcomputador contendo o software NOVA[®] (Metrohm Autolab B.V; versão 1.11.2) foram utilizados para as medidas eletroquímicas. O agitador magnético com aquecimento (Corning PC-420) e a balança analítica (Mettler Toledo AB204) foram usados no preparo das pastas de carbono e nas soluções de eletrólito suporte.

Micropipetas (HTL) de 0,5 a 10,0 μ L e de 10 a 100 μ L e pipeta graduada de 5 mL com pêra de sucção foram utilizadas na adição do etanol padrão e de eletrólito suporte à célula eletroquímica, respectivamente.

As medidas eletroquímicas foram obtidas usando um sistema convencional de três eletrodos com o eletrodo de trabalho sendo de pasta de carbono com diâmetro de 3 mm e área superficial geométrica de 0,071 cm² com corpo de vidro e contato de prata; o eletrodo auxiliar de fio de platina em espiral e o eletrodo de referência de Ag/AgCl com KCl saturado.

Para as medidas picnométricas das amostras de uísque, foram utilizados um picnômetro de vidro borossilicato com volume estimado de 25 mL e um termômetro de mercúrio.

Para investigar a estabilidade térmica do complexo utilizado como agente modificador na confecção da pasta de carbono, foi realizada uma análise termogravimétrica com calorimetria exploratória diferencial (TGA-DSC) por meio do aparelho TA Instruments (modelo SDT Q600 V20.9 Build 20).

Finalmente, foi realizada a caracterização topográfica e composicional da superfície do eletrodo por meio da técnica por microscopia eletrônica de varredura acoplada a espectrometria de raios-X por energia dispersiva (SEM-EDX) com um sistema composto por um microscópio eletrônico de varredura Carl Zeiss (modelo EVO[®] 50) acoplado a um espectrômetro de raios-X por dispersão de energia IRXF Systems (modelo 500 Digital Processing).

3.3. Procedimento Experimental

3.3.1. Confecção da Pasta de Carbono

A confecção da pasta de carbono modificada foi realizada com a adição do pó de grafite, o modificador ([Ni(cis-salcn)]) e a parafina sólida em um cadinho de porcelana, de acordo com a proporção desejada (em massa) de cada componente.

Após a adição dos reagentes, o cadinho foi aquecido em uma temperatura de

aproximadamente 60°C até a fusão completa da parafina, de maneira a obter uma mistura homogênea através de mistura e maceração por 10 minutos.

Com a pasta de carbono modificada produzida, introduziu-se a mesma na ponta inferior do corpo de vidro aquecido do eletrodo de trabalho, a fim de tornar a pasta o mais rígida possível dentro do eletrodo, evitando a formação de espaços vazios e imperfeições. Após a introdução da pasta, o corpo de vidro já preenchido foi esfriado em temperatura ambiente até a solidificação da pasta e introduziu-se o contato elétrico, compactando a pasta o máximo possível e tornando assim o eletrodo pronto para uso, conforme é demonstrado na Figura 13.

Figura 13. Representação ilustrativa da confecção de um eletrodo de pasta de carbono.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Por fim, a superfície do eletrodo de trabalho foi polida em uma folha sulfite A4 lisa, por meio de movimentos circulares, limpando o grafite excedente na lateral do eletrodo e tornando a superfície homogênea antes das análises eletroquímicas. Este procedimento de renovação e polimento da superfície eletródica foi realizado antes de cada medida.

3.3.2. Caracterização do complexo e do eletrodo de trabalho

3.3.2.1. TGA-DSC

No estudo da estabilidade térmica do complexo $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$ utilizado na confecção da pasta de carbono, realizou-se uma análise termogravimétrica com calorimetria exploratória diferencial (TGA-DSC) com a finalidade de acompanhar a variação (perda e/ou ganho) de massa do complexo e definir seu ponto de fusão. Uma alíquota com massa aproximada 1,6 mg do complexo foi inserida no instrumento SDT Q600 V20.9 Build 20 em atmosfera inerte (fluxo de gás N_2 100 mL min^{-1}) com rampa de aquecimento variando da temperatura ambiente a 1200

°C (velocidade de aquecimento = $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$). Com os dados experimentais, foram os obtidos os valores de perda total de massa e a temperatura de degradação do complexo.

3.3.2.2. SEM-EDS

Para o estudo da caracterização morfológica e composicional da pasta de carbono modificada confeccionada neste trabalho, uma amostra em pó (pasta de carbono modificada) foi fixada sobre stub de alumínio com o auxílio de adesivo dupla-face condutor. A mesma foi analisada quanto à sua topografia (modo SE) e composição (modo BSD) em um microscópio eletrônico de varredura Carl Zeiss EVO® 50 sob vácuo de 10^{-5} Torr e voltagem de aceleração do feixe eletrônico de 20 kV. As informações qualitativas e semiquantitativas dos elementos químicos presentes foram obtidas usando-se um espectrômetro de raios-X por dispersão de energia IXRF Systems 500 Digital Processing.

3.3.3. Análises Eletroquímicas

Nas medidas eletroquímicas, foi utilizado um sistema convencional de três eletrodos com o eletrodo de trabalho pasta de carbono (modificado e não modificado com o complexo $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$), com o eletrodo auxiliar fio em espiral de platina e o eletrodo de referência Ag/AgCl (com KCl saturado). O volume total de solução aquosa do eletrólito suporte adicionado a célula eletroquímica foi de 4,00 mL, em todos os experimentos.

Antes de cada medida eletroquímica, o eletrólito suporte foi desareado por 10 minutos por meio da injeção de fluxo contínuo de gás N_2 (inerte), com a finalidade de eliminar a presença de oxigênio dissolvido na solução aquosa. Essa etapa se faz necessária em decorrência das correntes de fundo que possam mascarar a corrente elétrica produzida pela espécie eletroativa.

Após a análise realizada com apenas o eletrólito suporte (branco), foi adicionado o analito (etanol) na célula eletroquímica por meio da micropipeta, até atingir a concentração desejada.

As análises foram efetuadas por meio das técnicas de voltametria cíclica e amperometria com agitação constante de forma a favorecer o transporte de massa da espécie eletroativa.

3.3.3.1. Voltametria Cíclica

As análises para a determinação da presença de etanol em amostras de bebidas alcoólicas foram inicialmente realizadas aplicando voltametria cíclica tendo como eletrodo de trabalho pasta de carbono (90% em massa de grafite e 10% em massa de parafina). As voltametrias foram efetuadas inicialmente em uma solução aquosa contendo apenas o eletrólito suporte (NaOH 1,0 mol L⁻¹) e em seguida em uma solução aquosa contendo o eletrólito suporte e o analito de interesse (etanol). Em seguida, substituiu-se o eletrodo de pasta de carbono por um eletrodo de pasta de carbono modificado com o complexo [Ni(cis-salcn)] confeccionado conforme descrito no item 3.3.1. Novamente, as voltametrias foram realizadas em solução aquosa contendo apenas o eletrólito suporte e em seguida com a presença do eletrólito suporte e do analito. Após a determinação da presença do analito pelo eletrodo de pasta de carbono modificado, foram investigados e otimizados os seguintes parâmetros analíticos: teor de agente modificador na pasta de carbono, área ativa do eletrodo de trabalho, faixa útil de varredura de potencial, pH do eletrólito suporte, número de ciclos a serem aplicados na ativação eletroquímica, velocidade de varredura de potencial, potencial de pré-concentração e tempo de pré-concentração.

3.3.3.2. Amperometria

Após a otimização dos parâmetros analíticos para a voltametria cíclica, foi efetuada a otimização da técnica amperométrica, tendo como o parâmetro mais relevante a ser otimizado o potencial aplicado durante os ensaios. Para tal, foram construídas curvas analíticas (em triplicata) com concentrações de etanol variando de 5,0 a 250 mmol L⁻¹, aplicando-se potenciais de 450 a 700 mV. Os resultados obtidos foram demonstrados em um gráfico de sensibilidade amperométrica em função do potencial aplicado, com o potencial elétrico aplicado otimizado aquele com a maior sensibilidade amperométrica e melhor razão sinal-ruído obtidos. Em seguida, foram realizados ensaios de cronoamperometria de pulso único com tempo de aplicação de 30 segundos variando a concentração de etanol em meio alcalino, a fim de determinar o coeficiente de difusão do etanol.

3.3.3.3. Figuras de mérito

3.3.3.3.1. Linearidade e Limiares Analíticos

Após a investigação e otimização dos parâmetros experimentais para ambos os métodos eletroquímicos utilizados neste trabalho, foram avaliados a linearidade da faixa de trabalho e os limites de detecção (LoD) e de quantificação (LoQ) através da construção de curva analítica para cada uma das técnicas eletroquímicas.

As equações (6) e (7) descritas a seguir indicam como são obtidos os limites de detecção e quantificação respectivamente [95].

$$LoD = \frac{3 sb}{Sensibilidade} \quad (6)$$

$$LoQ = \frac{10 sb}{Sensibilidade} \quad (7)$$

em que sb é o desvio padrão do intercepto e a sensibilidade corresponde ao coeficiente angular (inclinação) da curva analítica.

Para a avaliação da linearidade da faixa de trabalho, foram construídas curvas analíticas observando a corrente elétrica produzida em função da concentração do analito, onde a concentração do etanol foi variada de 25 a 1000 mmol L⁻¹ e de 5,0 a 250 mmol L⁻¹ para as técnicas de voltametria cíclica e amperometria, respectivamente, onde foi examinado a partir de qual concentração a curva analítica perdia sua linearidade.

3.3.3.3.2. Estudo de Interferentes

A técnica amperométrica foi a escolhida para investigar a ação de possíveis interferentes na determinação do teor alcoólico em bebidas alcoólicas, por possuir melhores limites de detecção e quantificação. Nesta etapa, foram utilizados como possíveis interferentes a glicose e o sulfito de sódio, adicionando alíquotas destas substâncias durante a aquisição dos amperogramas na presença do etanol. Estas substâncias citadas são frequentemente utilizadas como aditivos no processo de fabricação de bebidas alcoólicas, favorecendo a conservação e a qualidade do produto. O sulfito de sódio foi examinado adicionando uma alíquota de solução aquosa com a concentração máxima permitida em bebidas alcoólicas conforme determinado

pela ANVISA (200 mg L^{-1}) [96] e em seguida, uma alíquota de solução aquosa de glicose com concentração igual a etanol (100 mmol L^{-1}) foi adicionada, embora não esteja especificado na legislação brasileira um limite máximo para a adição de glicose em bebidas alcoólicas.

3.3.3.3. Ensaios de Recuperação

A recuperação dos ensaios adotados para a quantificação das amostras foi analisada pelo método de adição de padrão. As concentrações de etanol das duas amostras de uísque foram obtidas por meio das técnicas eletroquímicas e em seguida, uma alíquota de concentração conhecida de etanol absoluto foi adicionada em ambas as amostras de uísque, de forma que as novas concentrações de etanol das amostras enriquecidas sejam obtidas e comparadas com o valor teórico calculado.

3.3.3.4. Quantificação do Etanol nas Amostras

Duas amostras de uísque de marcas diferentes foram escolhidas e adquiridas no comércio local (Ribeirão Preto – São Paulo) para avaliar a aplicabilidade dos métodos eletroquímicos propostos neste estudo. Em ambas as técnicas eletroquímicas, a quantificação foi realizada por meio da adição de padrão. Na técnica por voltametria cíclica, $20 \text{ }\mu\text{L}$ da amostra original foram adicionados a uma cela eletroquímica contendo previamente 4 mL de $\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e obteve-se a intensidade da corrente elétrica gerada. Na sequência, 4 adições sucessivas de $5 \text{ }\mu\text{L}$ de etanol absoluto foram efetuadas na cela eletroquímica e as respectivas correntes elétricas derivadas da oxidação do etanol foram adquiridas. Com os valores obtidos de corrente elétrica, foi construída uma curva de adição de padrão e desta forma pode-se determinar o teor alcoólico da amostra estudada. Na técnica por amperometria, o procedimento adotado para a construção da curva de adição de padrão foi semelhante ao procedimento realizado pela voltametria cíclica, porém foram adicionados na cela eletroquímica $10 \text{ }\mu\text{L}$ da amostra original e 4 adições de $2 \text{ }\mu\text{L}$ de etanol absoluto.

Para cada amostra e técnica eletroquímica usadas neste estudo, os procedimentos adotados foram realizados em triplicata.

334. Análise Picnométrica

Após a aquisição completa dos dados eletroquímicos, foi realizada uma análise picnométrica das bebidas alcoólicas, a fim de comparar a exatidão dos resultados obtidos da técnica picnométrica com as técnicas eletroquímicas. De forma preliminar, foi realizada a calibração do picnômetro com água deionizada, onde foi obtido o volume preciso do picnômetro por meio da medida precisa da massa e temperatura de água deionizada utilizada no preenchimento completo do picnômetro.

Em seguida, com o picnômetro já calibrado, limpo e seco, foi realizado em triplicata as análises de densidade das amostras de uísque medindo com precisão na balança analítica a massa do picnômetro antes e após o preenchimento completo com uma alíquota da bebida alcoólica. Com os valores de densidade e temperatura obtidos para as amostras, utilizou-se uma tabela alcoolimétrica ^[62] para realizar a conversão dos resultados obtidos para concentração do teor alcoólico em % v/v.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização do complexo e do eletrodo de trabalho modificado

4.1.1. Análise Termogravimétrica (TGA-DSC)

Conforme descrito na etapa de confecção do eletrodo de pasta de carbono modificado quimicamente com o complexo $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$, o próprio foi aquecido à uma temperatura de aproximadamente 60°C para a aglutinação com o pó de carbono e a parafina. Desta forma torna-se indispensável avaliar sua estabilidade térmica, a fim de aferir a possibilidade de perda de massa do complexo usado como modificador químico durante o preparo da pasta de carbono e sua temperatura de combustão associada.

A Figura 14 exibe a curva TG do complexo $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$ que indica uma perda de massa total de 89,60% (1,4658 mg) notada em duas etapas: uma perda de massa de 70,60% (1,155 mg) em temperatura aproximada de 350°C que pode provavelmente ser relacionada à degradação do ligante cis-salcn utilizado na síntese do complexo e uma segunda perda de massa de 19,00% (0,3108 mg) em temperatura aproximada de 850°C que pode ser relacionada a deterioração do complexo até a formação de óxido de níquel (NiO).

Figura 14. TGA e DSC do complexo $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Além disso, pela análise da curva DSC (também exibida na Figura 14), nota-se a existência de dois picos endotérmicos: um primeiro pico que pode ser possivelmente associado a desidratação da água no ligante cis-salcn usado na síntese do complexo em 350°C (com fluxo de calor de -2 W/g) e um segundo pico endotérmico em 950°C (com fluxo de calor de -70 W/g) que pode ser possivelmente relacionado a determinadas etapas de decomposição, redução e transição de fases do complexo degradado.

Como a degradação do complexo utilizado neste estudo ocorre em temperaturas acima de 350°C, pode-se deduzir que a temperatura utilizada na etapa de aglutinação (60°C) para a confecção da pasta de carbono não resulta em perda de massa ou deterioração na estrutura do complexo [Ni(cis-salcn)].

No entanto, após avaliar a estabilidade térmica do complexo usado como modificador químico, torna-se ainda necessário confirmar a distribuição homogênea do complexo na superfície do eletrodo de pasta de carbono modificado.

4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM-EDS)

Ao realizar uma modificação química em um eletrodo de trabalho, é indispensável averiguar se o modificador está distribuído de forma homogênea na superfície do eletrodo para garantir reprodutibilidade na atividade eletroquímica. A análise topográfica do eletrodo estudado é uma das possibilidades de investigação para esta questão.

Analizando a topografia do eletrodo de pasta de carbono modificado com o complexo [Ni(cis-salcn)] pela micrografia obtida pela técnica de SEM-EDS apresentada na Figura 15, foi observada uma distribuição homogênea do complexo na superfície do eletrodo de trabalho, indicando que seja qual for a atividade eletroquímica motivada pela presença do complexo ocorrerá de forma integral na superfície do eletrodo.

Na Figura 15c) é exibida uma análise semi-quantitativa da composição da superfície do eletrodo de trabalho por meio do espectro de energia, onde é possível identificar a presença de 58,62% (m/m) de carbono (intensidade 1338,34 c/s), 14,07% (m/m) de oxigênio (intensidade 232,22 c/s) e 24,95% (m/m) de níquel (intensidade 805,33 c/s) referente aos átomos que compõem o pó de grafite e o complexo usados na confecção do eletrodo modificado.

Figura 15. a) Micrografias do CPE@[Ni(cis-salcn)], b) Micrografia de contraste de número atômico onde em destaque em amarelo são os átomos de níquel e c) espectro de energia (em keV).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Com a distribuição homogênea do complexo na superfície eletródica comprovada pelos dados acima, é possível garantir que o eletrodo produzido atende os requisitos mínimos para a sua utilização nas análises eletroquímicas para a oxidação do etanol em meio alcalino.

4.2. Análises eletroquímicas

4.2.1. Voltametria Cíclica

4.2.1.1. Área ativa do eletrodo de trabalho

O valor da área ativa do eletrodo é um parâmetro importante a ser analisado no início dos ensaios eletroquímicos, já que normalmente o valor da área ativa é diferente da área geométrica, devido ao preenchimento parcial da superfície do eletrodo com regiões eletroativas que atuam na transferência eletrônica. Em geral, o processo de modificação na superfície eletródica promove a formação de rugosidades na superfície com uma maior quantidade de regiões eletroativas, contribuindo para o aumento na transferência eletrônica que ocorre na interface eletrodo/solução e, portanto, aumentando a área ativa do eletrodo [97].

Para o cálculo da área ativa do eletrodo de pasta de carbono, foi empregado o método clássico pela aplicação da equação de Randles-Sevick para processos reversíveis, assumindo que o sistema eletroquímico demonstre comportamento nernstiano ideal sob condições de controle difusional das espécies eletroativas próximas à superfície eletródica, cuja equação é descrita a seguir [26]:

$$i_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} a C D^{1/2} v^{1/2} \quad (8)$$

em que i_p é a corrente de pico (A), a é a área ativa do eletrodo (cm^2), D é o coeficiente de

difusão do analito ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), C é a concentração do analito (mol cm^{-3}) e v é a velocidade de varredura (V s^{-1}) [26].

Para este estudo, foi utilizada uma solução aquosa contendo hexacianoferrato (III) de potássio 5 mmol L^{-1} em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e foi determinada a área ativa do eletrodo por meio da variação da velocidade de varredura de potencial, onde a 25°C e na concentração usada de hexacianoferrato (III) de potássio, o coeficiente de difusão (D) em meio aquoso contendo KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ é aproximadamente igual a $7,2 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ [98].

A Figura 16 exhibe os voltamogramas obtidos em solução aquosa contendo hexacianoferrato (III) de potássio 5 mmol L^{-1} em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para as velocidades de varredura entre 5 mV s^{-1} e 150 mV s^{-1} .

Figura 16. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono variando a velocidade de varredura, obtidas a partir de solução aquosa contendo hexacianoferrato (III) de potássio 5 mmol L^{-1} em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. b) Gráfico de i_{pc} do par redox ferro/ferri em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($n=3$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Com o valor do coeficiente de difusão do hexacianoferrato (III) obtido na literatura [98], calculou-se a área ativa do eletrodo de trabalho, substituindo o valor em módulo do coeficiente angular da curva i_{pc} vs $v^{1/2}$ ($1,97742 \cdot 10^{-4} \text{ A V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$) obtido experimentalmente (em triplicata) na equação de Randles-Sevcik. Após a substituição dos parâmetros obtidos experimentalmente na equação (8), o valor calculado para a área ativa do eletrodo foi de aproximadamente $0,064 \text{ cm}^2$, valor ligeiramente menor que o calculado para a área geométrica do eletrodo ($0,071 \text{ cm}^2$), indicando uma diminuição na eficiência eletroativa na superfície do eletrodo conforme esperado.

4.2.1.2. Otimização do eletrólito suporte

Como estudo preliminar para a detecção do etanol por voltametria cíclica, foram testados três eletrólitos suportes diferentes para a pasta de carbono modificada com o complexo [Ni(cis-salcn)]. As soluções utilizadas como eletrólito suporte nesta etapa preliminar foram o cloreto de potássio, o ácido clorídrico e o hidróxido de sódio, todas com concentração de 0,1 mol. L⁻¹, a fim de estudar o comportamento eletroquímico do etanol em diferentes faixas de pH (ácido, básico e neutro). De acordo com os voltamogramas obtidos na Figura 17, para a solução de cloreto de potássio (Figura 17 a)) não houve alteração significativa no comportamento eletroquímico após a adição de etanol no eletrólito. Na solução de ácido clorídrico (Figura 17 b)), após a adição do etanol ocorre a formação de pico anódico em aproximadamente -0,2 V (vs. Ag/AgCl), indicando a oxidação do etanol em meio ácido nesta faixa de potencial. Com a solução de hidróxido de sódio (Figura 17 c)), após a adição de etanol ocorre a formação de um pico anódico em aproximadamente +0,6 V (vs. Ag/AgCl), indicando a oxidação do etanol em meio básico.

Figura 17. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com o complexo [Ni(cis-salcn)], obtidas a 100 mV s⁻¹ a partir de solução contendo antes e depois da adição de 11% (v/v) de Etanol na presença de: a) KCl 0,1 mol L⁻¹, b) HCl 0,1 mol L⁻¹, c) NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Após o estudo com os diferentes eletrólitos, optou-se por trabalhar com a solução de hidróxido de sódio, pois foi nesta solução em que foram obtidos os sinais eletroquímicos mais estáveis e reprodutíveis para o processo oxidativo do etanol utilizando o eletrodo de pasta de carbono modificado.

4.2.1.3. Teor de modificador na pasta de carbono

O teor de modificador usado na construção do eletrodo de pasta de carbono é o primeiro parâmetro a ser avaliado, pois ele afeta o desempenho analítico do sensor, viabilizando ou não a detecção do analito em questão.

Nesta etapa do estudo, foram confeccionados eletrodos de pasta de carbono com concentrações diferentes de modificador (de 0 a 40% m/m do complexo $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$), fixando o teor de parafina na pasta de carbono em 10% m/m e foi avaliada a intensidade do sinal eletroquímico em análises por voltametria cíclica com solução aquosa de NaOH 1,0 mol L^{-1} a $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, conforme exibido na Figura 18.

Figura 18. a) Análises voltamétricas (50º ciclo) do eletrodo de pasta de carbono com e sem modificação do complexo $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$, obtidas a partir da solução contendo NaOH 1,0 mol L^{-1} a 50 mV s^{-1} . b) Avaliação da intensidade do pico anódico em função do teor de modificador na pasta de carbono.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando a Figura 18, o aumento no teor de modificador na pasta de carbono provoca uma elevação na intensidade da corrente de pico anódica até atingir o valor de 30% m/m. A redução subsequente na intensidade da corrente elétrica para um teor de 40% m/m pode ser explicada pela diminuição no teor de pó de carbono presente na pasta, pois este atua como condutor elétrico. Desta forma, optou-se por utilizar a pasta de carbono contendo 30% (m/m)

de [Ni(cis-salcn)], a qual foi mantida para as medidas posteriores deste trabalho.

4.2.1.4. Otimização dos parâmetros voltamétricos

Após as otimizações preliminares, foram investigados e otimizados os parâmetros voltamétricos necessários para a oxidação do etanol em meio alcalino.

O primeiro parâmetro a ser avaliado é a faixa de varredura de potencial a ser aplicada para a identificação dos processos de oxidação e redução envolvidos. É possível observar na Figura 19 que para as varreduras com o potencial inicial mais positivo que -0,25 V (vs. Ag/AgCl) ocorrem a formação de um pico anódico em aproximadamente +0,60 V (vs. Ag/AgCl) proveniente da oxidação do etanol catalisada pela presença de íons níquel III na superfície do eletrodo e um pico catódico em aproximadamente +0,30 V (vs. Ag/AgCl) pode ser explicado pela redução do níquel III obtido na varredura anódica em íons de níquel II. Analisando o sinal eletroquímico advindo da oxidação do etanol, é possível notar que o pico anódico não sofre alteração significativa na intensidade da corrente ao variar o potencial inicial de varredura para potenciais mais positivos, o que justifica a escolha do potencial inicial de varredura para +0,00 V (vs. Ag/AgCl), com o intuito de tornar a varredura de potencial mais rápida sem perder a qualidade do sinal eletroquímico.

Figura 19. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando o potencial inicial de varredura. a) -0,25 V, -0,20 V e -0,15 V; b) -0,10 V, -0,05 V e 0,00 V (vs. Ag/AgCl). Obtidas a partir de solução aquosa contendo etanol 0,5 mol L⁻¹ em NaOH 1,0 mol L⁻¹ a 50 mV s⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor.

De forma análoga a otimização do potencial inicial de varredura, foi realizada a

determinação do potencial final de varredura, conforme exibido na Figura 20. É possível observar que o pico de oxidação do etanol passa a existir quando a varredura de potencial finaliza em +0,60 V (vs. Ag/AgCl), com o aparecimento bem definido do pico anódico quando a varredura de potencial finaliza em +0,80 V (vs. Ag/AgCl). Além disso, é possível observar um pequeno incremento na intensidade do pico catódico em +0,30 V (vs. Ag/AgCl) conforme aumenta a faixa de varredura de potencial em direção a potenciais mais positivos, indicando um possível vínculo comportamental entre os picos anódico e catódico.

Figura 20. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando o potencial final de varredura. a) +0,50 V, +0,55 V e +0,60 V; b) +0,65 V, +0,70 V, +0,75 V e +0,80 V (vs. Ag/AgCl). Obtidas a partir de solução aquosa contendo etanol 0,5 mol L⁻¹ em NaOH 1,0 mol L⁻¹ a 50 mV s⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Desta forma, a faixa útil de varredura de potencial para a detecção do processo de oxidação de etanol em meio alcalino foi definida com o potencial inicial em 0,00 V (vs. Ag/AgCl) e o potencial final em +0,80 V (vs. Ag/AgCl).

O segundo parâmetro voltamétrico a ser investigado é o efeito do pH do eletrólito suporte por meio da alteração na concentração de OH⁻. Com o eletrodo de pasta de carbono modificado, foram registrados voltamogramas cíclicos em soluções aquosas de NaOH nas concentrações de 1. 10⁻⁴, 1. 10⁻³, 1.10⁻², 0,1 e 1,0 mol L⁻¹. Nas soluções com concentração de OH⁻ inferior a 0,1 mol L⁻¹, adicionou-se NaCl de forma que a concentração total do eletrólito na solução seja mantida em 0,1 mol L⁻¹ [76]. A Figura 21 exibe os voltamogramas cíclicos obtidos e na Figura 22 são expostos os gráficos que evidenciam a influência do pH do eletrólito suporte nas intensidades das correntes de pico anódica (i_{pa}) e catódica (i_{pc}) e nos potenciais de meia-onda (E_{1/2}).

Figura 21. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando a concentração de NaOH no eletrólito suporte a 50 mV s^{-1} , onde em: a) Vista geral e b) Vista ampliada.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 22. Intensidade das correntes de pico (i_{pa} e i_{pc}) e potenciais de meia-onda ($E_{1/2}$) do processo redox do complexo [Ni(cis-salcn)] presente no eletrodo de pasta de carbono em função do pH da solução em $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme apresentado, pode-se deduzir que o aumento no pH do eletrólito suporte promove um incremento na intensidade das correntes de pico, além de gerar um deslocamento do potencial de meia-onda para potenciais mais negativos. Uma relação linear entre o potencial de meia-onda e o pH foi obtida, com coeficiente angular igual a $92,4 \text{ mV / pH}$, o que aponta para um processo redox com 1,5 prótons por transferência eletrônica. Desta forma, com base nos resultados obtidos nesta etapa e também em resultados já descritos na literatura [76], pode-

se descrever a reação redox ocorrida durante a varredura de potencial como sendo (equação 9):

A oxidação de complexos de níquel presentes na superfície do eletrodo de trabalho em meio alcalino têm sido explicada na literatura por meio da reação do óxido de níquel II (NiO) com o grupo hidroxila (OH^-) gerando como produto o oxi-hidróxido de níquel III (NiOOH)^[75]. Contudo, a justificativa dada por estes estudos anteriores não contempla o tipo de ligante presente no complexo e sua participação na reação de oxidação, causando o engano de que estes compostos estejam dissociados em meio alcalino. O $[\text{Ni(cis-salcn)}]$ possui baixa solubilidade em solução aquosa e sua dissociação ocorre apenas em altas temperaturas (a partir de 350°C), conforme demonstrado anteriormente neste trabalho.

Em seguida, foi avaliada a quantidade de ciclos sucessivos a serem aplicados no eletrodo de trabalho em meio alcalino sem renovação de superfície, de forma a proporcionar um perfil voltamétrico estável por meio da ativação eletroquímica adquirida pela conversão dos íons Ni^{2+} oriundos do complexo $[\text{Ni(cis-salcn)}]$ presente na superfície eletródica a Ni^{3+} .

Neste estudo, foram aplicados 100 ciclos sucessivos sem renovação de superfície no eletrodo de trabalho, onde foram anotados os valores de corrente dos picos anódicos do par redox $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$. Visto que o objetivo é analisar o número mínimo de ciclos para a estabilização do processo de oxidação do níquel na superfície do eletrodo de trabalho, foi realizada uma normalização da intensidade da corrente elétrica em função da intensidade da corrente máxima obtida, de acordo com o gráfico ilustrado na Figura 23 com os resultados obtidos neste estudo.

Figura 23. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% (m/m) de [Ni(cis-salcn)], obtidas a partir da solução contendo NaOH 1,0 mol L⁻¹ a 50 mV s⁻¹. b) Gráfico do pico de corrente anódica normalizado em função do número de ciclos voltamétricos (em triplicata).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Com os dados obtidos, é possível observar no 1º ciclo aplicado a formação dos picos anódico e catódico em aproximadamente +0,61 e +0,29 V (vs. Ag/AgCl) respectivamente, sendo atribuídos ao par redox Ni^{2+}/Ni^{3+} . Com o passar da aplicação dos ciclos voltamétricos, ocorre um deslocamento dos potenciais dos picos anódico e catódico em sentido para potenciais menos positivos, estabilizando-se em aproximadamente +0,45 e +0,25 V (vs. Ag/AgCl), respectivamente. Estes resultados demonstram a modificação na composição ativa do complexo [Ni(cis-salcn)] como resposta ao processo de varreduras cíclicas consecutivas, que pode ser conferido ao enriquecimento progressivo da espécie $[(cis-salcn)(H_2O)Ni(III)ONi(III)(OH)(cis-salcn)]^-$ produzida a partir do [Ni(cis-salcn)] presente na superfície do eletrodo. O sinal voltamétrico adquirido é análogo às respostas previamente citadas na literatura para a oxidação eletroquímica de complexos de níquel em meio alcalino [75,78,82].

Além disso, nota-se um rápido aumento na intensidade da corrente anódica durante a aplicação dos primeiros ciclos, e gradualmente, o aumento na intensidade da corrente torna-se cada vez menos expressivo. Por volta do 60º ciclo aplicado foi atingido um valor aproximadamente constante na intensidade da corrente anódica, com a conversão do Ni (II) presente na superfície eletródica em Ni (III) sendo, portanto, este número de ciclos aplicado na superfície eletródica escolhido e mantido para as análises posteriores.

O estudo da cinética eletroquímica do sistema a ser examinado é de fundamental importância para a compreensão deste trabalho, pois ele identifica a reversibilidade ou não do

sistema e os mecanismos e cinética envolvidos na reação de oxirredução durante a etapa de transferência eletrônica na interface eletrodo/solução. Para este estudo da cinética do sistema eletroquímico contendo o par redox $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$, variou-se a velocidade de varredura de 5 a 500 mV s^{-1} conforme exibido no voltamograma presente na Figura 24a). Por meio das informações obtidas nas Figuras 24b) e 24c) e na Tabela 3, pode-se concluir que o sistema é quase-reversível devido a separação dos potenciais de pico ser maior que 60 mV/n e possui o controle misto (adsorção e difusão), pois os coeficientes angulares (α) da relação linear entre o $\log v$ com o $\log i_p$ ficaram entre 0,5 (difusão) e 1,0 (adsorção). Além disso, por meio das informações fornecidas na Figura 24d), pode-se inferir que a reação ocorre pelo mecanismo EC (uma etapa eletroquímica seguida por uma etapa química), pois a relação de E_p com o $\log v$ torna-se linear conforme o potencial dos picos deslocam-se para potenciais mais positivos (pico anódico) e mais negativos (pico catódico).

Figura 24. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando a velocidade de varredura obtidas a partir de solução contendo NaOH 1,0 mol L^{-1} . b) Gráfico da corrente de pico em função de $v^{1/2}$. c) Gráfico do $\log i_p$ em função do $\log v$. d) Gráfico de E_p em função do $\log v$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 3. Dados obtidos para as correntes de pico anódicas e catódicas, razão entre i_{pa}/i_{pc} , potenciais de pico anódicos e catódicos e valores de ΔE_p e $E_{1/2}$, para o eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] em solução aquosa de NaOH 1,0 mol L⁻¹.

$v / V s^{-1}$	$i_{pa} / \mu A$	$i_{pc} / \mu A$	i_{pa}/i_{pc}	E_{pa} / V	E_{pc} / V	$\Delta E_p / mV$	$E_{1/2} / V$
0,005	29,91	21,68	1,380	0,433	0,352	81	0,393
0,01	63,73	60,94	1,046	0,433	0,342	91	0,388
0,025	153,87	166,64	0,923	0,443	0,332	111	0,388
0,05	275,34	297,27	0,926	0,453	0,317	136	0,385
0,075	384,15	388,00	0,990	0,468	0,307	161	0,388
0,1	455,59	446,13	1,021	0,473	0,302	171	0,388
0,25	786,61	645,62	1,218	0,509	0,272	237	0,390
0,5	1158,47	819,89	1,413	0,549	0,247	302	0,398

Fonte: Elaborado pelo autor.

De forma análoga, também foi realizado o estudo da cinética do sistema eletroquímico, porém na presença do analito (Etanol 0,5 mol L⁻¹), conforme exibido no voltamograma presente na Figura 25a), onde nele é observado o deslocamento do potencial de pico anódico para valores próximos de +0,60 V (vs. Ag/AgCl), indicando uma correspondência entre o comportamento do pico anódico com a presença do analito. De acordo com as informações adquiridas nas Figuras 25b) e 25c), pode-se deduzir que na presença do analito com esta concentração, o sistema eletroquímico comporta-se como do tipo irreversível com o controle por difusão do etanol, pois os coeficientes angulares (α) da relação linear entre o log v com o log i_p dos picos anódico e catódico ficaram menores ou próximos de 0,5 (difusão). Além disso, por meio das informações fornecidas na Figura 25d), pode-se inferir que na presença do analito, a reação também ocorre pelo mecanismo EC, pois a relação de E_{pa} com o log v torna-se linear conforme o potencial de pico anódico desloca-se para potenciais mais positivos e o mesmo vale para a relação de E_{pc} com o log v enquanto o potencial de pico catódico desloca-se para potenciais mais negativos.

Figura 25. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando a velocidade de varredura obtidas a partir de solução contendo NaOH 1,0 mol L⁻¹ e Etanol 0,5 mol L⁻¹. b) Gráfico da corrente de pico em função de $v^{1/2}$. c) Gráfico do $\log i_p$ em função do $\log v$. d) Gráfico de E_p em função do $\log v$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após os ensaios variando a velocidade de varredura de potencial com a presença ou não do analito (etanol) no sistema eletroquímico, foi definida a velocidade de varredura sendo igual a 50 mV s⁻¹, pois é a velocidade que exhibe o pico anódico mais definido para a detecção do etanol em meio alcalino.

Com base nos dados obtidos e também com o entendimento dos resultados encontrados na literatura, é possível propor o mecanismo para a eletro-oxidação do etanol pelo complexo [Ni(cis-salcn)] presente na superfície eletródica, sendo este explicado pelas equações 10 a 14 e exibido pela Figura 26 [75-76,93]:

Figura 26. Mecanismo proposto para a eletro-oxidação do etanol em meio alcalino por um eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com o complexo $[\text{Ni}(\text{cis-salcn})]$.

Em resumo, o complexo $[\text{Ni}(\text{II})(\text{cis-salcn})]$ obtido na última etapa do mecanismo (equação 14) é novamente oxidado a $[(\text{cis-salcn})(\text{H}_2\text{O})\text{Ni}(\text{III})\text{ONi}(\text{III})(\text{OH})(\text{cis-salcn})]^-$ de acordo com o proposto na etapa inicial do mecanismo (equação 10) e desta forma conservando a ciclicidade da reação catalítica que promove a oxidação do etanol. Neste mecanismo, o número total de elétrons envolvidos é igual a 4, resultando como produto final da oxidação, o CH_3COO^- (ânion acetato).

Para finalizar os estudos dos parâmetros voltamétricos, investigou-se a variação na aplicação de potencial e tempo de pré-concentração, conforme exibido nas Figuras 27 e 28, respectivamente. Observa-se que para a aplicação de potenciais positivos não há alteração na intensidade da corrente de ambos os picos e com o aumento no tempo de aplicação do potencial também não houve alteração significativa na intensidade da corrente dos picos. Devido à estas

condições notadas, foi determinado pela não aplicação do potencial para a pré-concentração do analito e permanecer com o tempo de espera em 5 segundos.

Figura 27. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando-se o potencial de pré-concentração, obtidas a partir da solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de Etanol e NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, a 50 mV s^{-1} e 10 s para a pré-concentração.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 28. Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] variando-se o tempo de pré-concentração, obtidas a partir da solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de Etanol e NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, a 50 mV s^{-1} e potencial para a pré concentração de +0,6 V (vs. Ag/AgCl).

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 4 resume os parâmetros otimizados obtidos nos estudos para a detecção do etanol em meio alcalino por voltametria cíclica.

Tabela 4. Parâmetros otimizados para a detecção do etanol em meio alcalino por voltametria cíclica.

Parâmetros voltamétricos	Valor otimizado
Faixa útil de varredura	0,0 a +0,8 V (vs. Ag/AgCl)
Eletrólito suporte	NaOH 1,0 mol L ⁻¹
Número de ciclos aplicados na ativação eletroquímica	60 ciclos
Velocidade de varredura de potencial	50 mV s ⁻¹
Tempo de espera	5 s
Tempo de pré-concentração	Não se aplica
Potencial de pré-concentração	Não se aplica

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.2. Amperometria

4.2.2.1. Otimização do potencial de detecção para os ensaios amperométricos

Após a otimização dos parâmetros voltamétricos, foi investigado o potencial de detecção a ser aplicado durante os ensaios amperométricos. Caso o potencial de detecção seja muito baixo, não haverá a oxidação do Ni(II) e consequentemente não existirá resposta positiva para a presença do analito. Por outro lado, com a aplicação de um potencial mais elevado, próximo ao potencial de descarga do hidrogênio ^[26], ocorre a produção de bolhas de gás na superfície eletrodica durante os ensaios amperométricos, gerando ruído no sinal eletroquímico obtido na análise e causando degradação na superfície do eletrodo com a remoção do níquel. Assim sendo, investigou-se o potencial a ser empregado nos ensaios, analisando a sensibilidade amperométrica média por meio da construção de curvas analíticas em triplicata, cujos resultados são exibidos na Figura 29.

Figura 29. Sensibilidade amperométrica em função do potencial aplicado para detecção do etanol em solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ no eletrodo de pasta de carbono modificado com 30% m/m de [Ni(cis-salcn)] (n=3).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando as sensibilidades amperométricas obtidas na Figura 29, foi notado uma sensibilidade amperométrica pequena para potenciais aplicados menores que +0,45 V (vs. Ag/AgCl), devido a uma menor variação na corrente elétrica dentro da faixa de concentração de etanol investigada. Entretanto, com o aumento do valor do potencial a ser aplicado, também ocorre um aumento na sensibilidade amperométrica, atingindo um valor máximo de sensibilidade em +0,60 V (vs. Ag/AgCl). Com a aplicação de potenciais maiores que +0,60 V (vs. Ag/AgCl), a sensibilidade amperométrica é bastante reduzida devido a produção de bolhas de gás hidrogênio na superfície do eletrodo, gerando como efeito secundário um aumento na razão sinal-ruído nos amperogramas obtidos. Observando que não existe diferença estatística significativa na sensibilidade amperométrica entre os potenciais de +0,55 e +0,60 V (vs. Ag/AgCl) e de maneira que ocorra a melhor razão sinal-ruído nas análises, foi selecionado o potencial aplicado de +0,55 V (vs. Ag/AgCl) para a detecção do etanol em meio alcalino.

4.2.3. Figuras de Mérito

4.2.3.1. Linearidade e Limiares Analíticos

Após a otimização dos parâmetros das técnicas por voltametria cíclica e amperometria, realizou-se a construção de curvas analíticas (em triplicata) do etanol em ambas as técnicas, por

meio da adição de padrão do analito na solução do eletrólito suporte ($\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$) para o eletrodo de pasta de carbono modificado e foram investigados a linearidade da faixa de trabalho, o limite de detecção (LoD) e o limite de quantificação (LoQ) para cada uma das técnicas eletroquímicas.

Para a técnica por voltametria cíclica, a concentração do etanol presente na solução do eletrólito suporte foi variada de 25 a 1000 mmol L^{-1} , conforme exibido na Figura 30a) onde foi observado um aumento na intensidade da corrente de pico anódico e o deslocamento do potencial de pico anódico para valores mais positivos com o aumento na concentração do analito em solução.

O deslocamento no potencial de pico anódico relatado ocorre principalmente devido ao mecanismo EC da reação de oxidação do etanol em meio alcalino, conforme explicado por Barbosa *et al* [67]. Além disso, analisando a curva analítica (Figura 30b)), é possível inferir que o processo de difusão desempenha um papel importante em concentrações de etanol abaixo de 400 mmol L^{-1} pois nesta faixa de concentração a curva apresenta um comportamento linear, enquanto que para concentrações de etanol acima deste valor, pelo fato da curva analítica apresentar um ponto de inflexão é possível indicar uma saturação dos sítios de Ni^{3+} presentes na superfície eletródica com moléculas de etanol adsorvidas e consequentemente modificando o mecanismo da reação (transferência de massa para transferência de carga), o que vai de acordo com o previsto por Barbosa *et al* [67].

Figura 30. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado variando a concentração de etanol, obtidas a partir da solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L⁻¹ a 50 mV s⁻¹. b) Curva analítica do etanol (n=3).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para os ensaios amperométricos (Figura 31), a concentração do etanol presente na solução do eletrólito suporte foi variada de 5,0 a 250 mmol L⁻¹, conforme exibido na Figura 31a) onde observou-se um aumento linear na intensidade da corrente de pico para esta faixa de concentração do analito examinada, de acordo com a curva analítica realizada em triplicata (Figura 31b)).

Figura 31. a) Amperograma normalizado do eletrodo de pasta de carbono modificado variando a concentração de etanol, obtidas a partir da solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L⁻¹ a E = +0,55 V (vs. Ag/AgCl). b) Curva analítica do etanol (n=3).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Seguem abaixo na Tabela 5, os dados referentes aos parâmetros analíticos das figuras de mérito obtidos por meio da análise das curvas analíticas feitas em triplicata para a quantificação do etanol.

Tabela 5. Comparação dos parâmetros analíticos (figuras de mérito) obtidos pela construção das curvas analíticas (n=3) para as técnicas de voltametria cíclica e amperometria.

	Voltametria Cíclica	Amperometria
Equação da reta*	$y = (1,58 \pm 0,22) x - (15,25 \pm 13,09)$	$y = (1,33 \pm 0,02) x - (2,50 \pm 0,33)$
r²	0,928	0,998
Faixa linear (mmol L⁻¹)	25 a 400	5,0 a 250
SD (μA)	13,09	0,33
LoD (mmol L⁻¹)	24,81	0,75
LoQ (mmol L⁻¹)	82,69	2,50

*y = i / μA, x = [EtOH] / mmol L⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor.

Pelos resultados apresentados acima, pode-se concluir que dentre as técnicas eletroanalíticas utilizadas, a amperometria apresentou melhor desempenho analítico, especialmente com baixos limites de detecção e quantificação e maior coeficiente de determinação. Em comparação à trabalhos já publicados na literatura, especialmente os realizados por Tettamanti *et al* ^[86] e Nahirny *et al.* ^[88], o limite de detecção obtido com a técnica amperométrica (750 μmol L⁻¹) mostrou-se superior aos dos trabalhos citados com limites de detecção de 0,31 e 15 μmol L⁻¹, respectivamente. No entanto, o limite de detecção obtido neste trabalho ainda é suficientemente baixo, tornando este eletrodo modificado apto para realizar a quantificação do teor alcoólico em bebidas.

4.2.3.2. Estudos dos Interferentes

Duas substâncias que são frequentemente adicionadas em bebidas alcoólicas são a glicose e o sulfito de sódio, para efeitos de correção de densidade e conservação das mesmas.

Desta forma, para investigar a possibilidade da atuação destas substâncias como interferentes nas análises das amostras, realizou-se ensaios amperométricos para relacionar os seus efeitos na corrente elétrica lida durante as análises com o eletrodo de pasta de carbono modificado.

Figura 32. Amperograma do eletrodo de pasta de carbono modificado obtido após adições de etanol, sulfito de sódio e glicose em solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L⁻¹ a E = +0,55 V (vs. Ag/AgCl).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando o amperograma exibido na Figura 32, ao acrescentar o sulfito na concentração máxima permitida pela legislação vigente ^[91], não ocorre incremento na corrente. Pode-se deduzir que mesmo com a inserção deste aditivo, o etanol pode ser quantificado sem maiores dificuldades. Porém, ao acrescentar a glicose em concentração igual ao etanol, ocorreu um aumento aproximado em 5 vezes na intensidade da corrente em relação a adição do analito original. Com este cenário estudado, o eletrodo deve ser utilizado apenas para a quantificação de bebidas alcoólicas destiladas, livre de açúcares (glicose, sacarose e frutose).

4.2.3.3. Ensaios de Recuperação

Com o intuito de investigar possíveis efeitos de matriz na quantificação do etanol, foram executados ensaios de adição e recuperação nas amostras de bebidas alcoólicas para ambas as técnicas eletroquímicas. Estes ensaios foram realizados analisando somente um nível de concentração do etanol, levando em conta que as amostras de bebidas já se apresentam com uma alta concentração de etanol, havendo a necessidade de adequar a diluição do analito se for o caso. Os resultados obtidos são apresentados nas Tabelas 6 e 7 para a voltametria cíclica e amperometria, respectivamente.

Tabela 6. Resultados obtidos para a adição e recuperação do etanol em amostras de uísque por voltametria cíclica utilizando o eletrodo de pasta de carbono modificado com 30 % m/m de [Ni(cis-salcn)] em solução aquosa de NaOH 1,0 mol L⁻¹ (n=3).

Uísque	[EtOH] amostra % v/v	[EtOH] encontrado* % v/v	Recuperação %
Bell's®	43,8 ± 3,1	54,2 ± 3,8	96
Red Label®	45,6 ± 6,1	53,7 ± 1,4	86

* Adição de 12% v/v de etanol na amostra original.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 7. Resultados obtidos para a adição e recuperação do etanol em amostras de uísque por amperometria utilizando o eletrodo de pasta de carbono modificado com 30 % m/m de [Ni(cis-salcn)] em solução aquosa de NaOH 1,0 mol L⁻¹ (n=3).

Uísque	[EtOH] amostra % v/v	[EtOH] encontrado* % v/v	Recuperação %
Bell's®	41,1 ± 0,9	49,6 ± 0,4	84
Red Label®	46,1 ± 2,0	54,8 ± 1,7	90

* Adição de 12% v/v de etanol na amostra original.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Com o emprego dos procedimentos de adição e recuperação, foi adquirida uma exatidão satisfatória na recuperação com desvios de no máximo 16% do valor previsto, sinalizando que a matriz não interfere consideravelmente na quantificação do etanol nas amostras de uísque

para ambas as técnicas eletroquímicas.

4.3. Quantificação do teor alcoólico nas amostras

Após o desenvolvimento e otimização dos parâmetros experimentais para os dois métodos eletroquímicos utilizados neste estudo, foi realizada a quantificação do teor alcoólico de duas amostras de uísque de fabricantes diferentes, obtidas no comércio local (Ribeirão Preto, SP), aplicando o método de adição de padrão para cada técnica eletroquímica conforme exemplificados nas Figuras 33 e 34. Os resultados obtidos para as amostras (em triplicata) estão demonstrados na Tabela 8.

Figura 33. a) Análises voltamétricas do eletrodo de pasta de carbono modificado obtido após adição da amostra de Red Label® seguida da adição de etanol padrão em solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L⁻¹ a $v = 50$ mV s⁻¹. b) Curva analítica do método de adição de padrão.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 34. a) Amperograma normalizado do eletrodo de pasta de carbono modificado obtido após adição da amostra de Red Label® seguida da adição de etanol padrão em solução contendo inicialmente NaOH 1,0 mol L⁻¹ a E = +0,55 V (vs. Ag/AgCl). b) Curva analítica do método de adição de padrão.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 8. Resultados obtidos pelos métodos voltamétrico (índice V) e amperométrico (índice A) para a determinação do teor alcoólico em amostras de uísque, intervalo de confiança e os valores indicados no rótulo pelos fabricantes (n=3).

Uísque	[EtOH] _V % v/v	[EtOH] _A % v/v	Rótulo % v/v
Bell's®	43,8 ± 3,1	41,1 ± 0,9	40,0
Red Label®	45,6 ± 6,1	46,1 ± 2,0	40,0

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4. Análise picnométrica

A análise picnométrica das duas amostras de uísque foi realizada por meio da utilização de um picnômetro de vidro borossilicato (Figura 35) com volume estimado de 25 mL previamente calibrado com água deionizada à temperatura ambiente (25°C). Esta análise foi realizada com a finalidade de comparar a precisão e exatidão nos resultados obtidos por meio das técnicas eletroquímicas (voltametria cíclica e amperometria) com a técnica picnométrica.

Figura 35. Materiais usados na análise picnométrica – picnômetro, béquer, termômetro de mercúrio, bebidas alcoólicas e água deionizada.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Como etapa prévia, o picnômetro foi limpo e seco com papel macio e em seguida calibrado por meio do preenchimento completo com água deionizada à temperatura ambiente (25°C) para a determinação do volume exato do picnômetro, a fim de realizar as medidas posteriores de densidade relativa da amostra.

Em seguida, após etapa de calibração, o picnômetro foi preenchido totalmente com as amostras a serem analisadas e com os valores do volume do picnômetro obtido anteriormente e a diferença de massa do picnômetro antes e depois do preenchimento da amostra, foi obtido o valor da densidade relativa da amostra estudada.

Finalmente, com os valores obtidos em triplicata das densidades relativas das amostras e considerando que as bebidas obtidas no comércio local não possuam adulteração, foi realizada a conversão da densidade relativa pelo teor alcoólico em volume através da tabela alcoolimétrica que consta nas normas de métodos físico-químicos para análises de alimentos produzida pelo Instituto Adolfo Lutz ^[62], com os resultados obtidos nesta etapa do estudo demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados obtidos pelo método picnométrico (índice P) para a determinação do teor alcoólico em amostras de uísque (n=3).

Uísque	[EtOH] _{P1} % v/v	[EtOH] _{P2} % v/v	[EtOH] _{P3} % v/v	[EtOH] _P % v/v
Bell's®	39,3	39,0	39,2	39,2 ± 0,2
Red Label®	39,2	39,3	39,2	39,2 ± 0,1

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Tabela 10, seguem compilados os resultados (em triplicata) do teor alcoólico das duas amostras de uísque obtidos por meio do uso do picnômetro calibrado à temperatura ambiente em conjunto com os dados obtidos por meio das técnicas eletroquímicas e com os valores descritos nos rótulos pelas fabricantes.

Tabela 10. Resultados obtidos pelo método picnométrico (índice P) comparado com os resultados obtidos pelos métodos voltamétrico (índice V) e amperométrico (índice A) para a determinação do teor alcoólico em amostras de uísque, intervalo de confiança e os valores indicados pelos fabricantes (n=3).

Uísque	[EtOH] _P % v/v	[EtOH] _V % v/v	[EtOH] _A % v/v	Rótulo % v/v
Bell's®	39,2 ± 0,2	43,8 ± 3,1	41,1 ± 0,9	40,0
Red Label®	39,2 ± 0,1	45,6 ± 6,1	46,1 ± 2,0	40,0

Fonte: Elaborado pelo autor.

Por meio de análises estatísticas com o teste-f e o teste-t, foi observado que os resultados obtidos pelos procedimentos eletroquímicos realizados nos ensaios com as amostras de uísque foram satisfatórios em comparação com os resultados obtidos pelo procedimento da densidade para um intervalo de confiança de 95% (bicaudal). Além disso, analisando os resultados obtidos tanto nas análises eletroquímicas quanto nas análises picnométricas, foi notado que das três técnicas utilizadas neste estudo, as técnicas de amperometria e picnometria apresentaram resultados mais precisos e mais próximos com os valores indicados nos rótulos pelas fabricantes. Portanto, pode-se concluir que embora o procedimento utilizando o picnômetro seja de fácil manuseio em comparação com as técnicas eletroquímicas, as principais vantagens no uso do eletrodo modificado como sensor amperométrico para a detecção e quantificação do etanol sejam a maior seletividade frente à presença de possíveis interferentes e a monitoração

online do teor alcoólico nas linhas de produção, garantindo assim maior controle de qualidade na produção de bebidas destiladas.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Com os resultados obtidos neste estudo, pode-se inicialmente concluir que o eletrodo de pasta de carbono modificado quimicamente com o complexo [Ni(cis-salcn)] pode ser confeccionado e empregado de forma simples e ágil em técnicas eletroquímicas (voltametria cíclica e amperometria) para a determinação do teor alcoólico em bebidas, e, portanto, cumprindo com as expectativas no que se refere aos objetivos gerais e específicos do estudo. Além disso, com os resultados obtidos espera-se que o uso de outras formas de carbono como substrato (exemplo: grafeno, nanotubos de carbono, carbono vítreo e grafite pirolítico) e modificados com este ou outros complexos de níquel tenham comportamento semelhante quando usados como eletrodo de trabalho.

As vantagens no uso do eletrodo de pasta de carbono modificado são a alta seletividade dos resultados obtidos e um vindouro monitoramento on-line para outras bebidas destiladas na linha de produção das indústrias, onde o sensor realizaria a determinação do teor alcoólico de forma ininterrupta, possibilitando maior controle de qualidade na fabricação, não apenas de uísque, mas também de outras bebidas destiladas, como por exemplo vodca, rum, cachaça e etc.

Com a aplicação destes três métodos (voltamétrico, amperométrico e picnométrico), a aprimoração na quantidade de reagente e soluções foi satisfatória, garantindo a realização das análises com boa exatidão e precisão e com menor custo em relação a outras técnicas analíticas, como por exemplo a cromatografia gasosa.

Apesar dos limites de detecção e quantificação obtidos para ambas as técnicas eletroquímicas serem maiores dos que os já obtidos na literatura, eles ainda são suficientemente baixos para os valores encontrados em amostras de uísque, permitindo a aplicação destes métodos para a quantificação do teor alcoólico em bebidas alcoólicas destiladas, sobretudo o uísque.

A presença de substâncias concomitantemente presentes nas bebidas alcoólicas destiladas, especialmente o sulfito de sódio, não interferiram de forma significativa na quantificação do teor alcoólico, como pode ser demonstrado com altos valores de recuperação obtidos nos ensaios com amostras de bebidas alcoólicas destiladas fortificadas.

Os resultados obtidos pelos três métodos estão em conformidade entre si e com os valores descritos nos rótulos das bebidas analisadas neste trabalho. Desta forma, os resultados obtidos neste estudo incentivam a otimização tanto do sensor com o uso de novos tipos de eletrodos modificados (impressos ou de papel) quanto na resposta do sinal eletroanalítico

obtido, tornando o procedimento ainda mais vantajoso com a portabilidade e uma maior diminuição dos custos de fabricação e operação, porém mantendo ou elevando a qualidade do resultado analítico obtido.

REFERÊNCIAS

- [1] VIEIRA, J. M. F. **Metabolismo do Etanol**. Dissertação de Mestrado. Faculdade Ciências da Saúde – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.
- [2] REVISTA SUPER. **Dez mil anos de pileque – a história da bebida**. Disponível em: <<https://super.abril.com.br/saude/dez-mil-anos-de-pileque-a-historia-da-bebida>>. Acesso em: mar. 2021.
- [3] REVISTA GALILEU. **Movidos a álcool**. Disponível em: <<https://revistagalileu.globo.com/Revista/Common/0,,EMI117663-17579-1,00-MOVIDOS+A+ALCOOL.html>>. Acesso em: mar. 2021.
- [4] ANDRADE, A. G. (org.). **Álcool e a Saúde dos Brasileiros: Panorama 2020**. 1a ed., São Paulo: Centro de Informações sobre Saúde e Álcool - CISA, 2020.
- [5] NOVA CANA. **Propriedades Físico-Químicas do etanol**. Disponível: <<https://www.novacana.com/etanol/propriedades-fisico-quimicas>>. Acesso em: fev. 2021.
- [6] MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; DE ANDRADE, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p. 1248-1255, 2013.
- [7] SIGMA ALDRICH. **Ethyl alcohol, Pure**. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/ethylalcoholpure46076417511?lang=pt®ion=BR>>. Acesso em: fev. 2021.
- [8] FFCLRP. **Ficha de informação de produtos químicos – Etanol**. Disponível em: <<http://sites.ffclrp.usp.br/cipa/fispq/Etanol.pdf>>. Acesso em: fev. 2021.
- [9] TECHIESCIENTIST. **Is Ethanol (C₂H₅OH) Polar or Nonpolar?**. Disponível em: <<https://techiescientist.com/is-ethanol-polar-or-nonpolar>>. Acesso em: fev. 2021.
- [10] MELLO, M. L. M.; BARRIAS, J. C.; BREDÁ, J. J. **Álcool e problemas ligados ao álcool em Portugal**. Lisboa: Direção Geral de Saúde, 2001.
- [11] ZALESKI, M.; MORATO, G. S.; DA SILVA, V. A.; LEMOS, T. Aspectos neurofarmacológicos do uso crônico e da Síndrome de Abstinência do Alcool. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 26, supp. I, p. 40-42, 2004.
- [12] HOFFMAN, M. A. **Whiskey: a fascinating journey through the most famous whiskey and distilleries worldwide**. Bath: Parragon, 2008.
- [13] BRASIL. **Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Diário Oficial da União, seção I, 4 de junho de 2009, p 20**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em: abr. 2021.
- [14] RUSSELL, I; STEWART, G. **Whisky: Technology, Production and Marketing**. 2a ed., Amsterdam: Elsevier, 2014.

- [15] JC NE. **Na Internet, o uísque já é mais popular que cerveja e a cachaça entre os brasileiros.** Disponível em: <<https://jc.ne10.uol.com.br/colunas/jc-negocios/2017/06/29/na-internet-o-uisque-ja-e-mais-popular-que-cerveja-e-a-cachaca-entre-os-brasileiros>>. Acesso em: mar. 2021.
- [16] SINGLE MALT BRASIL. **Etapas de produção de um Whisky.** Disponível em: <<http://www.singlemaltbrasil.com.br/whisky/producao---introducao>>. Acesso em: fev. 2021.
- [17] SINGLE MALT BRASIL. **Whiskey Americano.** Disponível em: <<http://www.singlemaltbrasil.com.br/whisky/whiskey-americano>>. Acesso em: fev. 2021.
- [18] SINGLE MALT BRASIL. **Whiskey Irlandês.** Disponível em: <<http://www.singlemaltbrasil.com.br/whisky/whiskey-irlandes>>. Acesso em: fev. 2021.
- [19] SINGLE MALT BRASIL. **Scotch Whisky.** Disponível em: <http://www.singlemaltbrasil.com.br/whisky/scotch_whisky/>. Acesso em: fev. 2021.
- [20] WIŚNIEWSKA, P.; DYMERISKY, T.; WARDENCKI, W.; NAMIEŚNIK, J. Chemical composition analysis and authentication of whisky. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 11, p. 2159-2166, 2015.
- [21] G1 DF. **Vodca e uísque são principais alvos de falsificação, diz especialista; veja como descobrir.** Disponível em: <<https://g1.globo.com/df/distrito-federal/noticia/vodca-e-uisque-sao-principais-alvos-de-falsificacao-diz-especialista-veja-como-descobrir.ghtml>>. Acesso em: jan. 2021.
- [22] ESTADO DE MINAS. **PC prende homem que falsificava e adulterava garrafas de gin, whisky e vodca.** Disponível em: <https://www.em.com.br/app/noticia/gerais/2019/11/21/interna_gerais,1102855/pc-prende-homem-que-falsificava-e-adulterava-garrafas-de-gin-whisky-e.shtml>. Acesso em: jan. 2021.
- [23] FOLHA DE SÃO PAULO. **PM descobre fábrica que falsificava uísque, vodca e gim no interior de SP.** Disponível em: <<https://agora.folha.uol.com.br/sao-paulo/2020/01/pm-estoura-fabrica-que-falsificava-uisque-vodca-e-gin-no-interior-de-sp.shtml>>. Acesso em: jan. 2021.
- [24] NAGATO, L. A. F.; DURAN, M. C.; CARUSO, M. S. F.; BARSOTTI, R. C. F.; BADOLATO, E. S. G. Monitoramento da autenticidade de amostras de bebidas alcoólicas enviadas ao instituto Adolfo Lutz em São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p.39-42, 2001.
- [25] DA VEIGA, M. A. M. S.; TALHAVINI, M. Análise de falsificação de bebidas: o exemplo de uísques. In: BRUNI, A. T.; VELHO, J. A.; DE OLIVEIRA, M. F. (org.). **Fundamentos de Química Forense**. 2a ed., Campinas: Millenium editora, 2019.
- [26] SKOOG, D. A; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica – tradução da 9ª edição americana**. 2a ed., São Paulo: Cengage Learning, 2014.

- [27] SCHOLZ, F. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. **ChemTexts**, vol. 1, n. 17, 2015.
- [28] ELGRISHI, N.; ROUNTREE, K. J.; McCARTHY, B. D.; ROUNTREE, E. S.; EISENHART, T. T.; DEMPSEY, J. L. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 95, n. 2, p. 197-206, 2018.
- [29] BARD, A.F., FAULKNER L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2a ed., New York: Wiley, 2001.
- [30] BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry - Principles, Methods and Applications**. Oxford, 1994.
- [31] COMPTON, R. G.; BANKS, C. E. **Understanding voltammetry**. 2a ed., London: Imperial College Press, 2011.
- [32] HAMANN, C. H.; HAMNETT, A.; VIELSTICH, W. **Electrochemistry**. 2a ed., Wainheim: Wiley, 2007.
- [33] GOSSER JR., D. K. **Cyclic Voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms**. 1a ed., New York: VCH Publishers, Inc. 1994.
- [34] SAWYER, D. T.; SOBKOWIAK, A.; ROBERTS, J. L. **Electrochemistry for chemists**. 2a ed., New York: Wiley, 1995.
- [35] PLAMBECK, J. A. **Electroanalytical chemistry: basic principles and applications**. 1a ed., New York: John Wiley & Sons, 1982.
- [36] QUINTINO, M. S. M. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (BIA) para aplicações analíticas**. Tese de Doutorado. Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- [37] METROHM. **Localizador de eletrodos**. Disponível em: <<https://www.metrohm.com/pt-br/produtos-geral/acessorios/localizador-de-eletrodo/>>. Acesso em: jan. 2020.
- [38] KINOSHITA, K. **Carbon: electrochemical and physicochemical properties**. 1a ed., New York: Wiley, 1988.
- [39] RIBEIRO, M. F. M. **Desenvolvimento de métodos voltamétricos para a quantificação de LSD utilizando-se o eletrodo de pasta de carbono modificado pelo complexo de base de Schiff**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.
- [40] FÁTIMA BRITO SOUZA, M. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: Uma breve abordagem. **Química Nova**, v. 20, n. 2, p. 191-195, 1997.
- [41] CROW, D. R.; STROHNACH, P. J. Voltammetric investigation with the carbon-wax electrode (CWE): part II. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 175, n. 1-2, p. 79-92, 1984.

- [42] ADAMS, R. A. Carbon Paste Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 30, p. 1576, 1958.
- [43] SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; WANG, J. Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50 Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis. **Electroanalysis**, v.21, n. 1, p. 7-28, 2009.
- [44] LINDQUIST, J. A study of seven different carbon paste electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 52, n. 1, p. 37-46, 1974.
- [45] MURRAY, R. W. Chemically modified electrodes. **Accounts of Chemical Research**, v. 13, p. 135-141, 1980.
- [46] FATIBELLO, O.; DOCKAL, E. R.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; TEIXEIRA, M. F. S. Electrochemical modified electrodes based on metal-salen complexes. **Analytical Letters**, v. 40, n. 10, p. 1825-1852, 2007.
- [47] CREAVER, B. S.; DUFF, B.; EGAN, D. A.; KAVANAGH, K.; ROSAIR, G.; THANGELLA, V. R.; WALSH, M. Anticancer and antifungal activity of copper (II) complexes of quinolin-2(1H) -one-derived Schiff bases. **Inorganica Chimica Acta**, v. 363, n.14, p. 4048-4058, 2012.
- [48] DA SILVA, C. M.; DA SILVA, D. L.; MODOLO, L. V.; ALVES, R. B.; DE RESENDE, M. A.; MARTINS, C. V. B.; DE FÁTIMA, A. Schiff bases: a short review of their antimicrobial activities. **Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2011.
- [49] ASADI, Z.; ASADI, M.; FIRUZABADI, F. D.; YOUSEFI, E.; JAMSHIDI, M. Synthesis, characterization, anticancer activity, thermal and electrochemical studies of some novel uranyl Schiff base complexes. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 11, n. 2, p. 423-429, 2014.
- [50] PRAKASH, A.; ADHIKARI, D. Application of Schiff bases and their metal complexes – A Review. **International Journal of ChemTech Research**, v. 3, n. 4, p. 1891-1896, 2011.
- [51] WEHRENS-DIJKSMA, M.; NOTTEN, P. H. L. Electrochemical Quartz Microbalance characterization of Ni(OH)₂-based thin film electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 51, n. 18, p. 3609-3621, 2006.
- [52] HUTTON, L. A.; VIDOTTI, M.; PATEL, A. N.; NEWTON, M. E.; UNWIN, P. R.; MACPHERSON, J. V. Electrodeposition of nickel hydroxide nanoparticles on boron-doped diamond electrodes for oxidative electrocatalysis. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, n. 5, p. 1649-1658, 2011.
- [53] BODE, H.; DEHMELT, K.; WITTE, J. Zur kenntnis der nickelhydroxidelektrode - i. Über das nickel (ii)-hydroxidhydrat. **Electrochimica Acta**, v. 11, p. 1079-1087, 1966.
- [54] CORDOBA-TORRESI, S. I.; HUGOT-LE GOFF, A.; JOIRET, S. Electrochromic Behavior of Nickel Oxide Electrodes. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 138, n. 6, p. 1554, 1991.

- [55] DEBELA, A. M.; ORTIZ, M.; BENI, V.; O'SULLIVAN, C. K. Surface functionalisation of carbon for low cost fabrication of highly stable electrochemical DNA sensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 71, p. 25-29, 2015.
- [56] BERNARD, M. C., CORTES, R., KEDDAM, M., TAKENOUTI, H., BERNARD, P., SENYARICH, S. Structural defects and electrochemical reactivity of $[\beta]\text{-Ni}(\text{OH})_2$. **Journal of Power Sources**, v. 63, p. 247-254, 1996.
- [57] FLEISCHMANN, M.; KORINEK, K.; PLETCHER, D. The oxidation of organic compounds at a nickel anode in alkaline solution. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 31, n. 1, p. 39-49, 1971.
- [58] WANNAPROM, N.; VANALABHPATANA, P. Electro-Oxidation of Aldehydes in Alkaline Solution by Electropolymerized Nickel Salen-Based Film Modified Electrodes. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 161, n. 12, p. G86-G97, 2014.
- [59] LAMY, C.; BELGSIR, E. M.; LÉGER, J-M. Electrocatalytic oxidation of aliphatic alcohols: Application to the direct alcohol fuel cell (DAFC). **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 31, n. 7, p. 799-809, 2001.
- [60] MIAO, Y.; OUYANG, L.; ZHOU, S.; XU, L.; YANG, Z.; XIAO, M.; OUYANG, R. Electrocatalysis and electroanalysis of nickel, its oxides, hydroxides and oxyhydroxides toward small molecules. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 53, p. 428-439, 2014.
- [61] AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association Analytical Chemists**. Gaithersburg, 2005.
- [62] ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA P. (coord.). **Métodos físico-químicos para a análise de alimentos**. 4a. ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- [63] VAZ, E. L. S.; MONTEIRO, M. A. A.; MONTEIRO, I. C. C.; ACCIARI, H. A.; CODARO, E. N. Determinação do teor alcoólico de vodcas: uma abordagem multidisciplinar no ensino da Física, Química e Matemática. **Química Nova na Escola**, v. 35, n. 4, p. 292-296, 2013.
- [64] GALLIGNANI, M.; AYALA, C.; BRUNETTO, M. R.; BURGERA, J. L.; BURGUERA, M. A simple strategy for determining ethanol in all types of alcoholic beverages based on its on-line liquid-liquid extraction with chloroform, using a flow injection system and Fourier transform infrared spectrometric detection in the mid-IR. **Talanta**, v. 68, p. 470-479, 2005.
- [65] VILELA, F. J.; CARDOSO, M. G.; MASSON, J.; DOS ANJOS, J. P. Determinação das composições físico-químicas de cachaças do sul de Minas Gerais de suas misturas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, 2007.
- [66] GOMES, W. P. C.; YOSHINAGA, F.; BORTOLETO, G. G. Determinação de álcoois em bebidas comerciais por cromatografia gasosa e amostragem por headspace. **Bioenergia em revista: diálogos**, v. 10, n. 1, p. 111-124, 2020.

- [67] BARBOSA, A. F. B.; OLIVEIRA, V. L.; VAN DRUNEN, J.; TREMILIOSI-FILHO, G. Ethanol electro-oxidation reaction using a polycrystalline nickel electrode in alkaline media: Temperature influence and reaction mechanism. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 746, p. 31-38, 2015.
- [68] CHEN, Z.; YU, J. J.; HIBBERT, D. B. Flow injection, amperometric determination of ethanol in wines after solid-phase extraction. **Electroanalysis**, v. 9, n. 7, p. 541-543, 1997.
- [69] PAIXAO, T. R. L. C.; CORBO, D.; BERTOTTI, M. Amperometric determination of ethanol in beverages at copper electrodes in alkaline medium. **Analytica Chimica Acta**, v. 472, n. 1-2, p. 123-131, 2002.
- [70] CASTAÑÓN, M. J. L.; ORDIERES, A. J. M.; BLANCO, P. T. Amperometric detection of ethanol with poly-(o-phenylenediamine)- modified enzyme electrodes. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 12, n. 6, p. 511-520, 1997.
- [71] KOYUNCU, D.; ERDEN, P. E.; PEKYARDMCI, S.; KILIC, E. A New Amperometric Carbon Paste Enzyme Electrode for Ethanol Determination. **Analytical Letters**, v. 40, p. 1904-1922, 2007.
- [72] NAKAMURA, H.; TANAKA, R.; SUZUKI, K.; YATAKA, M.; MOGI, Y. A direct determination method for ethanol concentrations in alcoholic beverages employing a eukaryote double-mediator system. **Food Chemistry**, v. 117, n. 3, p. 509-513, 2009.
- [73] CHINNADAYYALA, S. R.; KAKOTI, A.; SANTHOSH, M.; GOSWAMI, P. A novel amperometric alcohol biosensor developed in a 3rd generation bioelectrode platform using peroxidase coupled ferrocene activated alcohol oxidase as biorecognition system. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 55, p. 120-126, 2014.
- [74] BILGI, M.; SAHIN, E. M.; AYRANCI, E. Sensor and biosensor application of a new redox mediator: Rosmarinic acid modified screen-printed carbon electrode for electrochemical determination of NADH and ethanol. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 813, p. 67-74, 2018.
- [75] GOLIKAND, A. N.; ASGARI, M.; MARAGHEH, M. G.; SHAHROKHIAN, S. Methanol electrooxidation on a nickel electrode modified by nickel–dimethylglyoxime complex formed by electrochemical synthesis. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 588, n. 1, p. 155-160, 2006.
- [76] CARDOSO, W. S.; DIAS, V. L.; COSTA, W. M.; RODRIGUES, I. A.; MARQUES, E. P.; SOUSA, A. G.; BOAVENTURA, J.; BEZERRA, C. W. B.; SONG, C.; LIU, H.; ZHANG, J.; MARQUES, A. L. B. Nickel-dimethylglyoxime complex modified graphite and carbon paste electrodes: preparation and catalytic activity towards methanol/ethanol oxidation. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 39, n. 1, p. 55-64, 2009.
- [77] HASSAN, H. B.; HAMID, Z. A. Electrodeposited Ni-Cr₂O₃ nanocomposite anodes for ethanol electrooxidation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 8, p. 5117-5127, 2011.
- [78] CISZEWSKI, A.; STEPNIAK, I. Preparation, characterization and redox reactivity of

glassy carbon electrode modified with organometallic complex of nickel. **Electrochimica Acta**, v. 76, p. 462-467, 2012.

[79] EHSANI, A.; MAHJANI, M. G.; JAFARIAN, M.; NAEEMY, A. Electrosynthesis of polypyrrole composite film and electrocatalytic oxidation of ethanol. **Electrochimica Acta**, v. 71, p. 128-133, 2012.

[80] JIA, L. P.; WANG, H. S. Preparation and application of a highly sensitive non enzymatic ethanol sensor based on nickel nanoparticles/Nafion/graphene composite film. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 177, p. 1035-1042, 2013.

[81] BLANCO, S.; VARGAS, R.; MOSTANY, J.; BORRÁS, C.; SCHARIFKER, B. R. A novel nickel nanowire amperometric sensor: Direct current vs. alternating current strategies for ethanol, acetaldehyde and acetylcholine detection. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 740, p. 61-67, 2015.

[82] MOUSAVI, Z.; BENVIDI, A.; JAHANBANI, S.; MAZLOUM-ARDAKANI, M.; VAFAZADEH, R.; ZARE, H. R. Investigation of Electrochemical Oxidation of Methanol at a Carbon Paste Electrode Modified with Ni(II)-BS Complex and Reduced Graphene Oxide Nano Sheets. **Electroanalysis**, v. 28, n. 12, p. 2985-2992, 2016.

[83] DENG, Z.; YI, Q.; ZHANG, Y.; NIE, H. NiCo/C-N/CNT composite catalysts for electro-catalytic oxidation of methanol and ethanol. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 803, p. 95-103, 2017.

[84] PEREIRA SILVA NEVES, M. M.; GONZÁLEZ-GARCIA, M. B.; BOBES-LIMENES, P.; PÉREZ-JUNQUERA, A.; HERNÁNDEZ-SANTOS, D.; VIDAL-IGLESIAS, F. J.; SOLLA-GULLÓN, J.; FANJUL-BOLADO, P. A non-enzymatic ethanol sensor based on nanostructured catalytic disposable electrode. **Analytical Methods**, v. 9, n. 35, p. 5108-5114, 2017.

[85] ZHOU, Q.; UMAR, A.; SODKI, E. M.; AMINE, A.; XU, L.; GUI, Y.; IBRAHIM, A. A.; KUMAR, R.; BASKOUTAS, S. Fabrication and characterization of highly sensitive and selective sensors based on porous NiO nanodisks. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 259, p. 604-615, 2018.

[86] TETTAMANTI, C. S.; RAMÍREZ, M. L.; GUTIERREZ, F. A.; BERCOFF, P. G.; RIVAS, G. A.; RODRÍGUEZ, M. C. Nickel nanowires-based composite material applied to the highly enhanced non-enzymatic electro-oxidation of ethanol. **Microchemical Journal**, v. 142, p. 159-166, 2018.

[87] BOTT-NETO, J. L.; MARTINS, T. S.; MACHADO, S. A. S.; TICIANELLI, E. A. Electrocatalytic Oxidation of Methanol, Ethanol, and Glycerol on Ni(OH)₂ Nanoparticles Encapsulated with Poly[Ni(salen)] Film. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 11, n. 34, p. 30810-30818, 2019.

[88] NAHIRNY, E. P.; BERGAMINI, M. F.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H. Improvement in the performance of an electrochemical sensor for ethanol determination by chemical treatment of graphite. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 877, p. 114659, 2020.

- [89] ROSLONEK, G.; TARASZEWSKA, J. Electrocatalytic oxidation of alcohols on glassy carbon electrodes electrochemically modified with nickel tetraazamacrocyclic complexes: mechanism of film formation. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 325, n. 1-2, p. 285-300, 1992.
- [90] BAE, Z. U.; PARK, J. H.; LEE, S. H.; CHANG, H. Y. Nickel(II) tetraaza macrocycle modified electrodes for the electrocatalytic determination of L-ascorbic acid by the flow injection method. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 468, n. 1, p. 85-90, 1999.
- [91] GOLABI, S. M.; NOZAD, A. Electrocatalytic Oxidation of Methanol on a Nickel-Porphyrin IX Complex Modified Glassy Carbon Electrode in Alkaline Medium. **Electroanalysis**, v. 16, n. 3, p. 199-209, 2004.
- [92] CISZEWSKI, A.; MILCZAREK, G. Glassy carbon electrode modified by conductive, polymeric nickel(II) porphyrin complex as a 3D homogeneous catalytic system for methanol oxidation in basic media. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 426, n. 1-2, p. 125-130, 1997.
- [93] GOLIKAND, A. N.; SHAHROKHIAN, S.; ASGARI, M.; MARAGHEH, M. G.; IRANNEJAD, L.; KHANCHI, A. Electrocatalytic oxidation of methanol on a nickel electrode modified by nickel dimethylglyoxime complex in alkaline medium; **Journal of Power Sources**, v. 144, n. 1, p. 21-27, 2005.
- [94] CAVALHEIRO, E. T. G.; LEMOS, F. C. D.; SCHPECTOR, J. Z.; DOCKAL, E. R. The thermal behaviour of nickel, copper and zinc complexes with the Schiff bases cis- and trans-N, n'-bis (salicylidene)-1,2-ciclohexadiazine (Salcn). **Thermochimica Acta**, v. 370, p. 129-133, 2001.
- [95] RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L.F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
- [96] BRASIL. **Resolução – RDC nº 05, de 04 de fevereiro de 2013, do Ministério da Saúde; Diário Oficial da União, seção I, 06 de fevereiro de 2013, p 74.** Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0005_04_02_2013.html>. Acesso em: abr. 2021.
- [97] MONTES, R. H. O. **Efeito do tamanho de nanotubos de carbono de paredes múltiplas em sensores eletroquímicos para moléculas de interesse farmacêutico.** Tese de Doutorado. Instituto de Química – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.
- [98] KONOPKA, S. J.; MCDUFFIE, B. Diffusion coefficients of ferri- and ferrocyanide ions in aqueous media, using twin-electrode thin layer electrochemistry. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 14, p. 1741-1746, 1970.

ANEXOS

Tabela 11. Teor alcoólico a 20°C (expresso em % v/v) correspondente à densidade relativa.

D 20°C/20°C	% v/v	D 20°C/20°C	% v/v	D 20°C/20°C	% v/v	D 20°C/20°C	% v/v
0,95288	38,0	0,94728	41,5	0,94124	45,0	0,93472	48,5
0,95272	38,1	0,94711	41,6	0,94106	45,1	0,93453	48,6
0,95257	38,2	0,94695	41,7	0,94088	45,2	0,93434	48,7
0,95241	38,3	0,94678	41,8	0,94070	45,3	0,93414	48,8
0,95226	38,4	0,94662	41,9	0,94052	45,4	0,93395	48,9
0,95210	38,5	0,94645	42,0	0,94034	45,5	0,93376	49,0
0,95194	38,6	0,94628	42,1	0,94015	45,6	0,93357	49,1
0,95179	38,7	0,94611	42,2	0,93997	45,7	0,93337	49,2
0,95163	38,8	0,94594	42,3	0,93979	45,8	0,93318	49,3
0,95148	38,9	0,94577	42,4	0,93961	45,9	0,93298	49,4
0,95132	39,0	0,94560	42,5	0,93943	46,0	0,93279	49,5
0,95116	39,1	0,94543	42,6	0,93924	46,1	0,93260	49,6
0,95100	39,2	0,94526	42,7	0,93906	46,2	0,93240	49,7
0,95084	39,3	0,94509	42,8	0,93887	46,3	0,93221	49,8
0,95068	39,4	0,94492	42,9	0,93869	46,4	0,93201	49,9
0,95052	39,5	0,94475	43,0	0,93850	46,5	0,93182	50,0
0,95037	39,6	0,94458	43,1	0,93831	46,6	0,93162	50,1
0,95021	39,7	0,94440	43,2	0,93813	46,7	0,93142	50,2
0,95005	39,8	0,94423	43,3	0,93794	46,8	0,93122	50,3
0,94989	39,9	0,94405	43,4	0,93776	46,9	0,93102	50,4
0,94973	40,0	0,94388	43,5	0,93757	47,0	0,93082	50,5
0,94957	40,1	0,94371	43,6	0,93738	47,1	0,93063	50,6
0,94941	40,2	0,94353	43,7	0,93719	47,2	0,93043	50,7
0,94924	40,3	0,94336	43,8	0,93701	47,3	0,93023	50,8
0,94908	40,4	0,94318	43,9	0,93682	47,4	0,93003	50,9
0,94892	40,5	0,94301	44,0	0,93663	47,5	0,92983	51,0
0,94876	40,6	0,94283	44,1	0,93644	47,6	0,92963	51,1
0,94860	40,7	0,94266	44,2	0,93625	47,7	0,92943	51,2
0,94843	40,8	0,94248	44,3	0,93606	47,8	0,92922	51,3
0,94827	40,9	0,94230	44,4	0,93587	47,9	0,92902	51,4
0,94811	41,0	0,94213	44,5	0,93568	48,0	0,92882	51,5
0,94794	41,1	0,94195	44,6	0,93549	48,1	0,92862	51,6
0,94778	41,2	0,94177	44,7	0,93530	48,2	0,92842	51,7
0,94761	41,3	0,94159	44,8	0,93510	48,3	0,92821	51,8
0,94745	41,4	0,94142	44,9	0,93491	48,4	0,92801	51,9

Fonte: Adaptado pelo autor e obtido em [62].