UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS - IQSC
GRUPO DE MATERIAIS ELETROQUÍMICOS E MÉTODOS
ELETROANALÍTICOS - GMEME

***DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ELETRODOS COM
BASE NO NÍQUEL PARA A DETERMINAÇÃO DE ETANOL***

MICHELE ODNICKI DA SILVA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Ciências (Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado

**SÃO CARLOS
Maio 2007**

Dedico este trabalho,

À Deus,

Aos meus pais, Lúcia e Otávio

*Por todo incentivo, compreensão e amor, sem os quais eu não
poderia jamais ter chegado até aqui*

Aos meus irmãos, Daniela e Alex

Por estarem sempre do meu lado em todos os momentos...

Ao meu namorado, Felipe

Por todo amor, paciência e apoio ao longo desses anos...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Sérgio Antonio Spínola Machado, pela orientação, amizade, paciência e atenção sempre demonstrada.

Ao Prof. Dr. Luís Alberto Avaca por ter me aceito no grupo de materiais eletroquímicos e métodos eletroanalíticos - GMEME.

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Mazo pelo conhecimento acerca dos métodos eletroanalíticos.

Ao Sr. João Tiengo e Marcelo Calegaro por toda a ajuda e dedicação.

Ao meu amigo Murilo Cabral pelo apoio e ajuda durante todo o trabalho.

À amiga Sonia Tonimoto por toda paciência nos ensinamentos de AFM.

À amiga Cláudia pelo companheirismo, pelos nossos artigos e pela amizade.

Aos amigos e colegas de trabalho: Andressa, Alexandra, Josiane, Inês, Cláudia, Eliana, Juliana, Katlin, Andréa, Milena, Djenaïne, Renata, Raquel, Rita, Jordana, Gustavo, Rafael, Fabiano, Giancarlo, Fernando, Robison, Álvaro e Fábio por estarem sempre comigo, me ajudando e proporcionando bons momentos de descontração e alegria.

À Sílvia e Andréia da secretaria da pós-graduação pelo bom atendimento.

Ao Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos do IQSC/USP, pela infra-estrutura e oportunidade concedidas.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

“Não se pode ensinar tudo a alguém, pode-se apenas ajudá-lo a encontrar por si mesmo.”

Galileu Galilei

RESUMO

No presente trabalho foi proposta a construção de eletrodos de níquel e algumas ligas (Sn, Ru), assim como de materiais nanoestruturados, para a determinação de etanol em amostras de bebidas e medicamentos. Para isto, foram utilizadas técnicas como a voltametria cíclica, a cronoamperometria, a espectroscopia de impedância eletroquímica, a microscopia de força atômica e a microscopia de transmissão.

O eletrodo da liga Ni-Sn foi preparado por eletrodeposição, utilizando um banho de Watts contendo 6,25 g de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 0,5 g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 25 mL de solução aquosa. Os depósitos foram modificados com RuO_2 , utilizando uma solução RuCl_3 0,1 M. O eletrodo da liga foi deixado na solução em banho de ultrassom e posteriormente aquecido a 400°C em forno em presença de oxigênio, para a decomposição térmica. O Ni nanoestruturado foi preparado a partir de uma solução contendo 1,8 g $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissolvido em 30 mL etanol, adicionando uma mistura de 3,5 g de Zn em pó e 10 mL de aminoetanol, em agitação. A separação do pó preto foi feita com uma placa magnética. Para a confecção do eletrodo foi adicionada uma alíquota 10 μL da solução contendo o pó, náfon e etanol, na superfície do eletrodo de grafite pirolítico.

Os perfis voltamétricos foram analisados em meio de hidróxido de sódio 0,5 M, podendo-se assim observar as reações de oxi-redução característica do Ni, da liga Ni-Sn, da liga modificada com RuO_2 e da nanoestrutura. Foi utilizado intervalo de potencial de 100 a 700 mV com velocidade de 50 mVs^{-1} .

As medidas de impedância eletroquímica foram realizadas em sistemas com etanol com o intuito único de demonstrar a presença de um loop indutivo, que pode ser associado à transformação óxido superior/óxido inferior na superfície do eletrodo.

Este loop foi observado para os eletrodos de Ni e liga, não sendo muito evidente para o eletrodo modificado com RuO₂.

Foram realizadas medidas de AFM para a caracterização topográfica dos eletrodos, mostrando a diferença entre as superfícies, indicando que o Ni liso foi modificado com o eletrodepósito da liga Ni-Sn e que esta também foi modificada pela deposição do RuO₂. A morfologia da nanoestrutura foi observada por microscopia eletrônica de transmissão, podendo observar que se obtiveram estruturas de níquel em escala nanométrica.

Os eletrodos foram utilizados na determinação de etanol em meio de NaOH 0,5 mol L⁻², com a construção de curvas analíticas pelo método da adição consecutiva de alíquotas de etanol, a partir de uma solução estoque. Após a curva analítica ser levantada, foram feitos os tratamentos estatísticos obtendo-se os valores para os limites de detecção e quantificação.

Com o eletrodo Ni nanoestruturado obteve-se o melhor resultado sendo este empregado na determinação de etanol nas amostras de conhaque, cachaça e enxaguante bucal, utilizando a técnica de cronoamperometria. A excelente porcentagem de recuperação obtida mostrou que o efeito da matriz, nestas determinações, é praticamente desprezível, o que está de acordo com o mecanismo da reação de oxidação do etanol sobre Ni, fortemente catalisado pela superfície dos eletrodos em estudo.

ABSTRACT

This objective of this work is related to the development of nickel and some nickel-alloys electrodes, as well as some nanostructured nickel surfaces, for ethanol determinations in drinks and in pharmacological formulations. For this, some experimental techniques were employed, as cyclic voltammetry, chronoamperometry, electrochemical impedance spectroscopy, atomic force microscopy and transmission microscopy.

The Ni-Sn alloy electrode was prepared by electrodeposition from a Watts bath containing 6,25 g $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and 0,5 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and water in order to produce 25 mL of aqueous solution. The electrodeposits were further modified with RuO_2 obtained from a 0.1 mol L^{-1} RuCl_3 solution. The Ni-Sn alloy electrode were allowed in the ruthenium solution in ultrasonic bath and further heated to 400°C in the presence of oxygen, in order to promote the thermal decomposition of ruthenium chloride. The nanostructured Ni surface was obtained from a chemical deposition in a solution composed by 1.8 g $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissolved in 30 mL ethanol and adding 3.5 g of powdered Zn and 10 mL of aminoethanolic solution, under mechanical stirring. The black powder precipitated was separated by a magnetic rod. In order to prepare the electrode, with such powder, a $10 \mu\text{L}$ aliquot of solution containing the Ni powder, Nafion[®] and ethanol were dipped in a pirolitic graphite surface and allowed to dry.

The voltammetric profiles were analyzed in order to evaluate the oxidation-reduction characteristics of Ni surfaces, as well as the Ni-Sn alloy and the RuO_2 modified surfaces and the nanostructured one. A potential window between 100 and 700 mV was scanned at 50 mV s^{-1} , in 0.5 mol L^{-1} NaOH electrolyte.

The electrochemical impedance spectroscopy measurements were performed in electrolytes containing ethanol, in order to observe the presence of an

inductive loop, which has been associated to the low/high valences Ni oxides formed during ethanol oxidation on such surfaces. This loop was quite evident in Ni surfaces but not on the surfaces modified with RuO₂.

AFM measurements were performed in order to obtain the topological characteristics of the surfaces, indicating the eventual alterations associated with the RuO₂ modifications. The nanostructures morphology was investigated by transmission microscopy where the nanometric dimensions of Ni phases were evident.

The developed electrodes were applied in ethanol determinations in 0.5 mol L⁻¹ NaOH solutions, prepared with Milli-Q water. The successive standard additions were used to obtain an analytical plot. After the analytical plot has been obtained, statistical analyses were performed, in order to determine the detection and quantification limits, as well as the errors involved in such determinations.

As the Ni nanostructured electrodes yielded the best results, it was used in the determination of ethanol in samples of cognac, “aguardente” (sugar cane distilled drink) and mouthwash liquids, using chronoamperometry. The excellent recoveries percentages obtained showed that the matrix effect, in such determinations, was almost depreciable. This is related with the high catalytic power of Ni surfaces towards the ethanol oxidation reaction.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MECANISMO DE OXIDAÇÃO DO ETANOL EM ELETRODO DE NÍQUEL EM MEIO ALCALINO.....	22
FIGURA 2: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA OXIDAÇÃO DE ETANOL EM ELETRODO ÓXIDO DE RUTÊNIO EM SOLUÇÃO DE KOH.....	24
FIGURA 3: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CÉLULA ELETROQUÍMICA E ELETRODOS, SENDO (1) O ELETRODO DE TRABALHO, (2) O ELETRODO DE REFERÊNCIA, (3) O ELETRODO AUXILIAR, (4) ENTRADA DE N ₂ E (5) SAÍDA DE N ₂	32
FIGURA 4: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DOS ELETRODOS A (—), B (—) E C (—) EM MEIO DE NaOH 0,5 M; $v=50 \text{ mV s}^{-1}$	43
FIGURA 5: MEDIDA DE IMPEDÂNCIA REALIZADA COM ELETRODO A (—) E B (—) EM SOLUÇÃO AQUOSA COM 0,5 M NaOH + 0,02 M ETANOL A 0,50 V, E FREQUÊNCIA DE 40 KHz A 100 MHz.....	45
FIGURA 6: MEDIDA DE IMPEDÂNCIA REALIZADA COM O ELETRODO C EM SOLUÇÃO AQUOSA COM 0,5 M NaOH + 0,02 M ETANOL A 0,55 V, E FREQUÊNCIA DE 40 KHz A 50 MHz. .	46
FIGURA 7: IMAGENS DE AFM EM TRÊS DIMENSÕES DOS ELETRODOS A E B, RESPECTIVAMENTE. DIMENSÃO DA VARREDURA 50 x 50 mm ²	47
FIGURA 8: IMAGEM DE AFM EM TRÊS DIMENSÕES PARA O ELETRODO C. DIMENSÃO DE VARREDURA 50 x 50 mm ²	48
FIGURA 9: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS PARA O ETANOL SOBRE ELETRODO A EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES ($v= 50 \text{ mV s}^{-1}$). CONCENTRAÇÕES: 0 (—); 0,02 (—); 0,04 (—); 0,06 (—); 0,08 (—); 0,10 (—); 0,12 (—) mol L ⁻¹	49
FIGURA 10: DEPENDÊNCIA LINEAR ENTRE A CORRENTE DE PICO E A CONCENTRAÇÃO DE ETANOL, SOBRE O ELETRODO A.....	50

FIGURA 11: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS PARA O ETANOL SOBRE ELETRODO B EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). CONCENTRAÇÕES: 0 (—); 0,02 (—); 0,04 (—); 0,06 (—); 0,08 (—); 0,10 (—); 0,12 (—) mol L^{-1}	52
FIGURA 12: DEPENDÊNCIA LINEAR ENTRE A CORRENTE DE PICO E A CONCENTRAÇÃO DE ETANOL, SOBRE O ELETRODO B.....	53
FIGURA 13: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS PARA O ETANOL SOBRE ELETRODO C EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). CONCENTRAÇÕES: 0 (—); 0,01 (—); 0,02 (—); 0,03 (—); 0,04 (—); 0,05 (—); 0,06 (—) mol L^{-1}	55
FIGURA 14: DEPENDÊNCIA LINEAR ENTRE A CORRENTE DE PICO E A CONCENTRAÇÃO DE ETANOL, SOBRE O ELETRODO C.	56
FIGURA 15: IMAGEM DE MICROSCOPIA DE TRANSMISSÃO ELETRÔNICA DO Ni NANOESTRUTURADO.	58
FIGURA 16: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DE ESTADO ESTACIONÁRIO PARA OS ELETRODOS D (—) E E (—) EM MEIO DE NaOH 0,5 M; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	59
FIGURA 17: RESPOSTA AMPEROMÉTRICA DO ELETRODO D PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ETANOL. ADIÇÃO DE ALÍQUOTAS DE 12,5 mL ETANOL A CADA 100 S.	60
FIGURA 18: DEPENDÊNCIA LINEAR ENTRE A CORRENTE E A CONCENTRAÇÃO DE ETANOL SOBRE O ELETRODO D.	61
FIGURA 19: RESPOSTA AMPEROMÉTRICA PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ETANOL. ADIÇÃO DE 12,5 mL DE AMOSTRA DE CACHAÇA E SUCESSIVAS ADIÇÕES DE 12,5 mL ETANOL. $E = 540 \text{ mV}$, $T = 800 \text{ s}$	64
FIGURA 20: CURVA DE RECUPERAÇÃO PARA AMOSTRA DE CACHAÇA. COM $R = 0,9998$	65

FIGURA 21: RESPOSTA AMPEROMÉTRICA PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ETANOL.

ADIÇÃO DE 12,5 mL DE AMOSTRA DE ENXAGUANTE BUCAL E SUCESSIVAS ADIÇÕES DE
12,5 mL ETANOL. $E = 540 \text{ mV}$, $T = 800 \text{ s}$66

FIGURA 22: CURVA DE RECUPERAÇÃO PARA AMOSTRA DE ENXAGUANTE BUCAL. COM $R =$

0,9968.67

FIGURA 23: RESPOSTA AMPEROMÉTRICA PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ETANOL.

ADIÇÃO DE 12,5 mL DE AMOSTRA DE CONHAQUE E SUCESSIVAS ADIÇÕES DE 12,5 mL
ETANOL. $E = 540 \text{ mV}$, $T = 800 \text{ s}$68

FIGURA 24: CURVA DE RECUPERAÇÃO PARA AMOSTRA DE CONHAQUE. COM $R = 0,9991$. ..68

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: LISTA DE NOMENCLATURA DOS ELETRODOS DE TRABALHO.	33
TABELA 2: PARÂMETROS ESTATÍSTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE ETANOL SOBRE O ELETRODO A.	51
TABELA 3: PARÂMETROS ESTATÍSTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE ETANOL SOBRE O ELETRODO B.	54
TABELA 4: PARÂMETROS ESTATÍSTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE ETANOL SOBRE O ELETRODO C.	56
TABELA 5: PARÂMETROS ESTATÍSTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE ETANOL SOBRE O ELETRODO D.	62
TABELA 6: COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS ESTATÍSTICOS DOS ELETRODOS.	63
TABELA 7: RESULTADOS DA CURVA DE RECUPERAÇÃO DE ETANOL PARA AMOSTRA DE CACHAÇA.	65
TABELA 8: RESULTADOS DA CURVA DE RECUPERAÇÃO DE ETANOL PARA A AMOSTRA DE ENXAGUANTE BUCAL.	67
TABELA 9: RESULTADOS DA CURVA DE RECUPERAÇÃO DE ETANOL PARA A AMOSTRA DE CONHAQUE.	69

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1 INTRODUÇÃO..... 14

1.1 O etanol..... 14

1.1.1 Álcool Combustível 15

1.1.2 Indústria de alimento 17

1.3 Indústria farmacêutica 18

1.1.4 Medicina forense 19

1.2 Considerações Gerais..... 21

2 ESTADO DA ARTE..... 25

3 OBJETIVOS..... 31

4 PARTE EXPERIMENTAL 32

4.1 Célula Eletroquímica 32

4.2 Eletrodos 32

4.3 Soluções 33

4.3.1 Solução do Banho de Watts Modificado 34

4.3.2 Solução da Síntese da Nanoestrutura de Ni..... 34

4.4 Equipamentos 34

4.5 Metodologia..... 35

4.5.1 Preparação da liga Ni-Sn..... 35

4.5.2 Modificação com RuO ₂	35
4.5.3 Preparação da Nanoestrutura de Níquel	36
4.5.4 Caracterização.....	36
4.5.5 Determinação de Etanol	37
4.5.6 Estatística	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Obtenção e Caracterização dos Eletrodos	42
5.1.1 Caracterização Voltamétrica.....	42
5.1.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica	44
5.1.3 Microscopia de Força Atômica.....	46
5.2 Aplicações.....	48
5.3 Nanoestrutura	57
5.3.1 Caracterização.....	57
5.3.1.1 Microscopia de transmissão eletrônica	58
5.3.1.2 Voltametria cíclica	58
5.3.2 Aplicação	60
5.3.2.1 Determinação da curva analítica	60
5.3.2.2 Análise de amostras	63
5.3.2.2.1 Análise de amostra de cachaça	64
5.3.2.2.2 Análise de amostra de enxaguante bucal	66
5.3.2.2.3 Análise de amostra de conhaque	67
6 CONCLUSÕES.....	70
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 O etanol

Conhecido desde a antiguidade como componente da cerveja dos egípcios ou do vinho dos povos da Mesopotâmia e da Grécia, o álcool etílico ocupou lugar de destaque em diferentes culturas.¹ Resultado da fermentação do arroz, na China, e do milho, no Império Inca, no Peru, os procedimentos para sua fabricação eram guardados a sete chaves, para preservar a produção de bebidas e de remédios e resguardar os segredos da conservação de plantas medicinais.

O etanol ampliou suas utilidades tradicionais e saiu dos laboratórios para as ruas no final do século XIX, com o advento dos automóveis, especialmente dos equipados com o motor de combustão interna do ciclo-Otto.¹ Ao proporcionar o aumento da renda agrícola, o etanol combustível teve apoio decisivo de Henry Ford, Alexander Graham Bell e Thomas Edson, entre outros. O famoso modelo T, da Ford, era provido de carburador ajustável e de outros equipamentos que permitiam o uso do etanol.¹ No início do século XX, o combustível começou a ser utilizado na iluminação pública e na indústria química.

Após a água, o álcool é o solvente mais comum, além de representar a matéria-prima de maior uso no laboratório e na indústria química. Na biossíntese do etanol é empregado linhagens selecionadas de *Saccharomyces cerevisiae*, que realizam a fermentação alcoólica, a partir de um carboidrato fermentável.²

A transformação bioquímica realizada pela *S. cerevisiae* é a seguinte:

O etanol pode ser produzido a partir de qualquer carboidrato fermentável pela levedura: sacarose, sucos de frutas, milho, melaço, beterrabas, batatas, malte, cevada, aveia, centeio, arroz, sorgo, etc. (é necessário hidrolisar os carboidratos complexos em açúcares simples fermentáveis, pelo uso de enzimas da cevada ou fúngicas, ou ainda pelo tratamento térmico do material acidificado). Material celulósico, como madeira e resíduos da fabricação da pasta de papel podem ser utilizados. Por causa da grande quantidade de resíduos de material celulósico disponível, a fermentação direta desses materiais quando hidrolisados por enzimas celulolíticas pode ser de grande importância econômica.^{1,2}

A produção do álcool etílico envolve três etapas principais: preparação da solução nutriente, fermentação e destilação. O etanol é produzido por meio da fermentação dos açúcares, os quais são obtidos da cana-de-açúcar. O etanol é encontrado em todas as bebidas alcoólicas, assim como no álcool combustível e na gasolina como aditivo. Além disso, é também muito empregado nas indústrias, principalmente nas farmacêuticas onde é usado na produção de perfumes, loções, anti-sépticos e como solvente químico.

1.1.1 Álcool Combustível

Desde a primeira crise do petróleo em meio a década de 70, um número de países têm adotado políticas de procura para outra fonte de energia mais econômica.³ Pioneiro na utilização em larga escala do etanol o Brasil é reconhecido por suas respostas às crises de escassez ou de preços do petróleo. Em 1975, visando autonomia energética, o Brasil desenvolveu o Programa Nacional do Álcool (Proálcool).¹ A solução operacional foi criar procedimentos, incentivos e facilidades

que permitissem, num primeiro momento, misturar etanol à gasolina consumida no país e posteriormente contar, quase que exclusivamente, com esse combustível para abastecer a frota de veículos leves nacionais. O Proálcool é o maior programa comercial para o uso de biomassa para a produção de energia no mundo.³ É a iniciativa mais bem sucedida no mundo para substituição de derivados do petróleo, no setor automotivo, por etanol hidratado como único combustível.⁴

Em 1979 surgiu o carro a álcool brasileiro e com ele as raízes de um parque produtor com capacidade anual instalada de 18 bilhões de litros de etanol combustível, equivalentes a 100 milhões de barris por ano. O desenvolvimento de tecnologia específica conquistou os brasileiros e a frota nacional chegou a ser formada por 85% de veículos leves movidos a etanol, no final dos anos 80. Ainda hoje, aproximadamente 4 milhões de veículos no Brasil, o qual representa 4% da frota nacional, usa etanol combustível exclusivamente.^{1,4}

O Brasil produz álcool etílico ou etanol combustível de dois tipos: hidratado e anidro. O hidratado (com 4% de água) é utilizado para mover veículos a álcool e “flex fuel”.^{1,5} O anidro, absoluto, sem água serve de oxigenante da gasolina em diversos países, como alternativa a aditivos altamente poluentes como chumbo tetraetila e o MTBE – metil-tércio-butil-éter, originário do petróleo.⁵ A mistura do etanol anidro à gasolina, hoje utilizado na proporção de 25%, eliminou totalmente os aditivos ambientais venenosos da matriz de combustíveis brasileira e contribui significativamente na redução de poluentes como o ozônio nos grandes centros urbanos brasileiros, em especial na cidade de São Paulo.^{6,7}

O etanol hidratado brasileiro, que move no país uma frota de 2,4 milhões de veículos e que também alimenta os novos carros “flex fuel”, é uma contribuição testada para reduzir a poluição local, considerando seus motores potencialmente

20% menos poluentes do que similares com semelhante eficiência tecnológica movidos a gasolina.⁷ De acordo com dados do Ministério da Agricultura, a produção de etanol no Brasil para o biênio 2005/2006 foi de 15,8 milhões de m³. E para cada milhão de toneladas adicionais de cana produzida e processada, criam-se 2,2 mil empregos diretos.⁵

Devido a grande importância do álcool combustível, e do grande crescimento desse setor, é cada vez maior a necessidade de desenvolver métodos rápidos e precisos para a análise rotineira de etanol.

1.1.2 Indústria de alimento

A produção de bebidas alcoólicas, como cervejas, vinhos, bebidas fermentadas e solução alcoólica compõem uma significativa parte da atual indústria de alimento. A análise química de amostras complexas como bebidas alcoólicas é convenientemente importante para a realização de adequada qualidade na produção, para assegurar uniformidade e evitar falsificação.⁸

A determinação de etanol em bebidas alcoólicas é uma tarefa muito importante, devido às implicações sociais e econômicas, particularmente em relação ao imposto em diferentes países para seu uso.^{8,9} Esse tipo de análise é feita em muitos laboratórios, não apenas por produtores, mas também em laboratórios do governo e alfândega.

Bebidas alcoólicas podem ser definidas como aquelas que contêm menos que 60% (v/v) de etanol; e podem ser classificadas em dois tipos: em bebidas alcoólicas fermentadas e destiladas.^{9,10} Os métodos oficiais para determinação do teor alcoólico são baseados em medidas físicas efetuadas depois de uma destilação

prévia da amostra, para separar o álcool e também por uma simples titulação volumétrica redox.⁹

O método mais usado para a determinação de etanol em bebidas está baseado na separação do composto por meio da destilação para medida adicional de uma propriedade física como a gravidade específica. Entretanto, todos esses procedimentos são tediosos e consomem tempo. Assim, algumas tentativas têm sido feitas para simplificar os métodos para determinar etanol, e para desenvolver novas estratégias que podem ser usadas com baixo custo de instrumentação e sem pré-tratamento complexo da amostra.^{9,10}

O monitoramento do álcool etílico é crucial em indústrias de bebidas alcoólicas desde que ele seja o principal produto da fermentação alcoólica, e para preparação de alguns alimentos quando ele é adicionado como conservante pela sua propriedade antibacteriana e habilidade para limitar a deterioração.¹¹

O desenvolvimento da produção e a alta qualidade requerida na indústria de alimento nos últimos anos têm causado um aumento no interesse na invenção de sensores capazes de medidas rápidas e baixo custo de análise. Neste contexto a determinação de etanol é uma importante tarefa para a sua presença em muitos campos da indústria alimentícia.¹¹

1.3 Indústria farmacêutica

Comprar para as crianças fortificantes que estimulam o apetite antes das refeições pode tornar-se um ato ilegal. Um projeto de lei que proíbe a venda em São Paulo de produtos como Biotônico Fontoura® foi aprovado pela Assembléia Legislativa.¹² Os fortificantes fazem com que os menores se tornem alcoólatras,

caso tenham predisposição à doença. O Biotônico Fontoura[®], por exemplo, tem o mesmo teor alcoólico do vinho branco, isto é, 9,5% de etanol em sua composição, concentração maior que a de uma lata de cerveja, que apresenta 5% de álcool, em média. Segundo o Conselho Regional de Farmácia do Distrito Federal (CRF-DF), o excesso de álcool no produto pode levar crianças à dependência.¹²

Muitos produtos farmacêuticos apresentam álcool etílico em sua composição, como loções, perfumes, protetores solares, xaropes, enxaguantes bucais, e entre outros. Assim é importante a quantificação desse álcool na indústria farmacêutica para o controle de qualidade desses produtos. Como no caso dos enxaguantes bucais, em que a alta concentração de etanol pode produzir uma sensação ardente nas bochechas, dentes e gengivas, ou pode causar intoxicação se engolir ou usar excessivamente.¹³ Para crianças, até mesmo doses pequenas destes podem ser potencialmente letal.

O controle do etanol utilizado nas indústrias farmacêuticas é feito principalmente por técnicas cromatográficas e espectométricas.¹³ Porém para análise rotineira é necessário o uso de análises rápidas e de baixo custo, sendo assim interessante o desenvolvimento de novas metodologias para determinação de etanol.

1.1.4 Medicina forense

Medida precisa e rápida de etanol é muito importante em análise clínica e forense para análise de fluídos do corpo humano, por exemplo, sangue, soro, saliva, urina, e sua respiração, entre outros.¹⁴

O excesso do consumo de bebidas alcoólicas e a embriaguez têm sempre provocado a maior parte de acidentes fatais, traumas, afogamentos, suicídio, e muitos crimes de violência como evidenciado por relatórios policiais e pelo registro do departamento de emergência e acidentes.^{14,15} Além disso, o aumento no consumo de bebidas e a diminuição da capacidade induzida por álcool são fatores comuns nas batidas nas estradas, assim como em acidentes no trabalho e em casa. A análise e interpretação da concentração de álcool no sangue em autópsia de espécimes representa uma grande parte do trabalho da medicina forense e laboratórios de toxicologia.¹⁵

A determinação com confiabilidade metrológica de etanol em matriz aquosa é de grande importância, uma vez que em diferentes países os órgãos reguladores de trânsito determinam o teor máximo permitido de etanol no sangue e no ar expirado dos condutores de veículos.¹⁶ Os limites de álcool estipulados por legislação para motoristas no Brasil são 630 ppm em sangue e 0.3 ppm em respiração, correspondendo a relação 2100:1 sangue/respiração.¹⁷ Mundialmente, não há uma uniformidade quanto ao nível máximo de etanol que indica se um condutor de veículo está legalmente habilitado ou não para conduzi-lo, pois de acordo com o país, ou até mesmo o estado, a legislação varia.

No entanto, há a necessidade global de que as medições tenham confiabilidade e rastreabilidade, sendo estas pautadas na utilização de materiais de referência certificados e equipamentos, cujos modelos tenham sido aprovados e que sejam submetidos periodicamente a um controle metrológico. Em todo o mundo, seguindo determinações da Organização Internacional de Metrologia Legal (OIML), o controle do consumo de álcool pelos condutores de veículos é realizado através de testes com etilômetros.¹⁶

1.2 Considerações Gerais

Desta forma, a quantificação de etanol é importante para a medicina, fabricação de bebidas, fermentação e controle de consumo de bebidas alcoólicas nas estradas. A análise de etanol é também necessária para o controle da qualidade do álcool produzido nas indústrias. Métodos instrumentais têm sido relatados para a determinação da concentração de etanol incluindo: cromatografia gasosa e líquida; refratometria; colorimetria; espectrometria e espectroscopia de infravermelho.¹⁸ Embora estes métodos possam determinar a concentração de etanol precisamente, eles não são adotados para análise fora de laboratórios devido ao uso de instrumentos complicados e delicados, e operações complexas. Portanto, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos de etanol vem sendo alvo de várias pesquisas na área tecnológica devido a suas vantagens, simplicidade e precisão.

Os sensores eletroquímicos de etanol são baseados na detecção da resposta da corrente resultada da oxidação de etanol.¹⁸ Eletrodos com base de níquel são muito utilizados nesta função. Esses eletrodos apresentam excelentes respostas frente à reação de oxidação de etanol, devido à particularidade desta reação ser intermediada pelos óxidos superiores de níquel formados na mesma região de potenciais da reação.¹⁹ A Figura 1 apresenta o mecanismo de oxidação de etanol em eletrodo de níquel, proposto por Manandhar e Pletcher.²⁰

Figura 1: Representação esquemática do mecanismo de oxidação do etanol em eletrodo de níquel em meio alcalino.

O sensor tendo níquel como eletrodo de trabalho reduz o custo do material e proporciona melhor estabilidade por um período mais longo.^{18,21}

Assim eletrodos de níquel, e também eletrodos que utilizam substrato de níquel recoberto com uma liga de níquel modificada, têm uma importante aplicação na área de eletrocatalise. A utilização das ligas de níquel esta relacionada, principalmente, com a produção de oxigênio e hidrogênio por eletrólise da água. Neste caso, eletrodos de níquel de alta área são utilizados como cátodos ou ânodos em virtude da alta estabilidade deste metal em meio cáustico em condições de circuito aberto e também por razões econômicas.²²

O método mais simples de preparação deste tipo de cátodo é por meio da eletrodeposição de níquel, a partir de banhos de Watts a altas densidades de corrente (200 mA/cm²), sobre eletrodos de aço-carbono. Outro modo de preparação consiste na codeposição de níquel com um metal como Al, Zn ou Sn em excesso. Esses metais são posteriormente removidos por ataque químico com hidróxido à quente. Esta técnica permite obter eletrodos com área real até 8000 vezes maior que a sua área geométrica.^{22,23}

Ligas metálicas têm despertado grande interesse tecnológico e comercial devido ao fato desses materiais apresentarem propriedades magnéticas ou elétricas que não são encontradas em seus componentes isolados, uma vez que podem

acentuar certas propriedades individuais dos seus elementos constituintes.²⁴ Em geral, a presença de níquel em ligas proporciona ou melhora características como: resistência à corrosão, resistência em altas temperaturas, propriedades magnéticas e expansão térmica.

As ligas nanoestruturadas podem apresentar uma melhor sensibilidade devido a maior área superficial ativada. Os materiais considerados nanoestruturados são todos aqueles que se apresentam, pelo menos em uma dimensão, com tamanho na ordem de nanômetros (10^{-9} m). As propriedades físicas e químicas de materiais em escala nanométrica (normalmente definida no intervalo de 1 a 100 nm) são de imenso interesse e crescente importância para futuras aplicações tecnológicas.^{25,26}

Materiais nanoestruturados geralmente exibem propriedades diferenciadas com relação aos demais materiais. Pode-se encontrar na literatura vários exemplos de como propriedades do tipo magnéticas, óptica, ponto de fusão, calor específico e reatividade da superfície, podem ser afetadas pelo tamanho da partícula.²⁶

Desta forma, a utilização de ligas metálicas nanoestruturadas pode trazer um avanço significativo para o desenvolvimento de novos materiais com aplicações tecnológicas importantes como, por exemplo, os nano-sensores.²⁷

Neste sentido, devido à oxidação do etanol exibir um alto sobrepotencial em eletrodos de carbono e de vários metais convencionais, como o níquel, a decomposição da água interfere na corrente anódica do etanol. Muitas tentativas têm sido feitas para modificar eletrodos, resultando em uma diminuição do sobrepotencial da corrente anódica do etanol. Um método comum para a eletroanálise de etanol emprega eletrodos modificados com enzimas.²⁸ Os métodos enzimáticos que usam a álcool oxidase ou a álcool desidrogenase foram em grande

parte usados no desenvolvimento de biosensores para a determinação de etanol, com a vantagem de ter a seletividade aumentada. Entretanto, o tempo de vida dos biosensores é curto e, usualmente, esse eletrodo deve ser armazenado em baixas temperaturas, além de ser limitado a amostras alcoólicas relativamente diluídas por causa da saturação das enzimas.

Dos trabalhos realizados para modificar eletrodos, o óxido de rutênio (RuO_2) também foi relatado para catálise da eletro-oxidação do etanol.^{21,29} Durante a oxidação do etanol, o par redox $\text{Ru(VI)}/\text{Ru(VII)}$ (rutanato/perrutanato) é observado na superfície do eletrodo de RuO_2 . Para o processo de eletrossíntese orgânica, o eletrodo de níquel modificado com RuO_2 foi aplicado para oxidação catalítica do etanol para ácido acético. As vantagens deste eletrodo foram de acentuar a eficiência para oxidação do etanol e operar em potenciais menores que dos eletrodos convencionais. A Figura 2 mostra o esquema da reação para a oxidação catalítica do etanol a acetaldeído e subsequente conversão a aldol.²⁹

Figura 2: Representação esquemática da oxidação de etanol em eletrodo óxido de rutênio em solução de KOH.

Assim, há um grande interesse na procura de novos materiais que possuam atividade eletrocatalítica para a oxidação de etanol.

2 ESTADO DA ARTE

Esta revisão tem o objetivo de fornecer uma visão geral dos vários trabalhos que têm sido relatados para a determinação de etanol em várias áreas, utilizando diferentes métodos. Dentre esses podemos citar a cromatografia gasosa e líquida, a espectroscopia e a gravidade específica.

Como exemplo tem o trabalho de Zilly *et al.*³⁰ que desenvolveram um método de cromatografia gasosa muito sensível e específica para determinação de etanol em amostras de urina humana. O método foi realizado sem pré-tratamento e usando uma coluna capilar Stabilwax, 30m x 0,53mm x 10µm de espessura do filme. Foi usado gás hélio e detector de ionização de chama. Foi relatado uma separação cromatográfica limpa do etanol de metanol, acetona, 1-propanol e 2-propanol.

Rodriguez *et al.*³¹ propuseram um método de injeção por fluxo por evaporação para a determinação de etanol em diferentes bebidas usando medidas de densidades. O método é baseado na separação do etanol da amostra usando o módulo por evaporação; o analito é coletado em água como aceptor líquido. A densidade dessa mistura água-álcool é medida no detector. O método proposto apresentou alta precisão e medida rápida e fácil.

No trabalho de Souza *et al.*¹⁶, desenvolvido na Divisão de Metrologia Química do Inmetro, analisou-se a concentração de etanol em soluções aquosas, utilizando um cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama. Foram analisadas amostras de soluções de etanol em água em quatro concentrações diferentes. A preparação dos padrões de calibração, assim como a manipulação das amostras de análise, foram realizadas através do método gravimétrico. Os resultados obtidos foram considerados satisfatórios, permitindo inclusive a validação

de toda a metodologia do processo. A determinação com confiabilidade metrológica e rastreabilidade ao Sistema Internacional de Unidades da medida de etanol em matrizes aquosas é de suma importância, devido a sua utilização na área forense.

Niven *et al.*³² descreveram um método pelo monitoramento simultâneo de quatro ácidos de cadeia curta (ácido láctico, acético, propiônico e butírico), dois monossacarídeos (frutose e glicose) e etanol em alimentos líquidos para porcos e alimento líquido fermentado com bactérias ácidas lácticas. O método envolve uma técnica de extração simples, com recuperações comuns entre 83 a 98%. A determinação e quantificação de cada combinação foram alcançadas por meio da cromatografia isocrática de exclusão de íons, à temperatura ambiente. A análise cromatográfica é rápida e não requer derivatização complicada ou eluentes caros.

No trabalho de Armenta *et al.*¹³, um novo múltiplo de fase a vapor junto com espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi desenvolvido para a determinação de etanol em líquidos para limpeza bucal. Foram adicionados 2 μ L de amostra, sem qualquer pré-tratamento, em um reator aquecido à 70°C, com a fase vapor sendo transportada para o espectrômetro de FTIR. O método proposto é simples e rápido, com tempo de análise total de 2 min.

O trabalho de Fernandes e Rohwedder³³ teve como objetivo o uso da espectroscopia NIR na determinação simultânea de etanol e metanol (adulterante) em gasolina. Para isso, foram preparadas 120 misturas de gasolina, variando a concentração de etanol e metanol de 0 a 30 % (v/v). Foram feitos estudos de interferentes e verificou-se que a presença de o-xileno e tolueno interferem na determinação de etanol, enquanto que óleo diesel, iso-octano, tiner, o-xileno, m-xileno e p-xileno interferem na determinação de metanol. O método proposto permitiu determinar etanol e metanol simultaneamente.

Outro método bastante comum utilizado na eletroanálise de etanol implica no uso de eletrodos modificados com enzima a qual incorpora a *álcool desidrogenase* (ADH) ou a *álcool oxidase* (AO). Essas enzimas convertem diretamente ou indiretamente o etanol em produtos eletroativos, assim como NADH^+ , H_2O_2 e O_2 , os quais são determinados eletroquimicamente.

Desta forma, temos como exemplo o trabalho de Rotariu *et al.*³⁴, no qual usaram um eletrodo potenciométrico de oxigênio para produzir um biossensor microbial com aumento da resposta, baseado na imobilização de células de levedura (*Saccharomyces ellipsoideus*). A principal vantagem desse biossensor é a simplicidade de construção e baixo custo. A curva de calibração foi obtida utilizando o etanol nas concentrações entre 0,02 e 50 mM. Testaram a seletividade do biossensor e concluíram que a glicose é um interferente.

Alkyilmaz *et al.*³⁵ desenvolveram um biossensor amperométrico para determinação de etanol baseado na célula da levedura *Candida tropicalis*, a qual contém a enzima *álcool oxidase*, imobilizada em gelatina por glutaraldeído. A determinação de etanol está relacionada com a análise de diferentes atividades de respiração da célula em presença e ausência de etanol. A resposta do biossensor foi linearmente dependente da concentração de etanol entre 0,5 e 7,5 mM. Os resultados mostraram que o biossensor pode ser usado na determinação de etanol.

Outro exemplo é o trabalho de Santos *et al.*³⁶ onde utilizaram o nanotubo de carbono como matriz para construção de um biossensor amperométrico baseado na *álcool desidrogenase*. Esse biossensor foi testado para determinação da concentração de etanol em diferentes amostras: vinho, uísque e aguardente. A resposta amperométrica para o etanol apresentou excelente sensibilidade e estabilidade operacional.

Entretanto esses biossensores apresentam tempo de vida curto, instabilidade e baixa sensibilidade. Desta forma outros sensores têm sido desenvolvidos com o uso de vários metais, ligas e óxidos.

Como descrito no trabalho de Fidelis *et al.*³⁷ no qual estudaram a oxidação de etanol em eletrodos de composição nominal Ti/IrO₂ para verificar a seletividade da eletrossíntese em função do material empregado. Foi verificado que o acetaldeído é o único produto da reação, indicando assim a boa seletividade, uma vez que a oxidação de álcoois primários a aldeídos é um processo bastante difícil de ser realizado em meio homogêneo, tendo em vista a posterior oxidação do aldeído ao ácido carboxílico correspondente.

Paixão *et al.*³⁸ investigaram a oxidação de etanol em superfície de cobre em meio alcalino. A participação de espécies de Cu(III) eletrogerados na eletrocatalise da oxidação de etanol em superfícies de cobre foi investigada por voltametria no eletrodo rotatório de disco-anel e foi proposto um mecanismo envolvendo a participação de radicais. O sensor amperométrico de cobre apresentou um bom desempenho na análise em fluxo de amostras de bebidas contendo etanol.

No trabalho de Oliveira *et al.*³⁹ foi preparada e caracterizada a bicamada Rh/Pt em Pt e aplicada na oxidação de etanol em solução de ácido perclórico. O eletrodo foi caracterizado por microscopia de força atômica e voltametria cíclica. A oxidação do etanol foi estudada sobre a bicamada Pt/Rh/Pt usando as técnicas de voltametria cíclica e cronoamperometria. Neste estudo, obteve-se um aumento de 286% na densidade de corrente para a oxidação de etanol comparado com a Pt. A eletroxidação do etanol na bicamada inicia em potencial menos negativo (100 mV) comparado com o eletrodo de Pt.

Materiais eletródicos com base no níquel também são bastante utilizados no estudo da oxidação de etanol. Assim como no trabalho de Manandhar e Pletcher²⁰ que estudaram a oxidação de etanol sobre eletrodo de Ni de alta área obtido por deposição em banho de Watts com elevada densidade de corrente. Na oxidação de etanol, obtiveram valores de densidade de corrente limite cerca de 15 vezes maiores que para o Ni polido, o que demonstra a elevada atividade alcançada pelo aumento da área efetiva do material.

Um filme de óxido de Co-Ni foi eletrodepositado no trabalho de Hayes *et al.*⁴⁰, para ser aplicado como sensor para a determinação amperométrica de etanol. O eletrodo teve uma resposta linear com concentrações de etanol entre 1,5 e 7,9 mM e limite de detecção de 32 μ M de etanol. Outros álcoois foram testados como possíveis interferentes: 1-propanol, 1-butanol, álcool benzílico e metanol. Os resultados mostraram que estes álcoois interferem nas medidas, e concluíram que o eletrodo não é específico para o etanol.

Pang *et al.*¹⁸ utilizaram um eletrodo de filme de níquel como sensor de etanol em solução alcalina. Os resultados revelaram que o eletrodo preparado resultou em uma relação linear entre a resposta da corrente e a concentração do etanol, numa variação de 0 a 100 ppm de concentração do álcool e tempo de meia-vida de pelo menos três meses.

Weng *et al.*²⁷ desenvolveram um novo filme nanoestruturado para sensor de etanol usando Ni/Pt/Ti em substrato de Al_2O_3 como eletrodo de trabalho em solução alcalina. Os resultados mostraram que a oxidação do etanol foi mais eficiente com o eletrodo Ni/Pt/Ti que o eletrodo convencional de níquel.

Novos materiais modificando a superfície do níquel têm sido desenvolvidos para a aplicação como sensores de etanol. Estes materiais despertam um grande

interesse por apresentarem uma melhor atividade catalítica em relação à oxidação de etanol que para o níquel polido.

Shieh e Hwang⁴¹ investigaram a eletro-oxidação do etanol sobre óxido de rutênio preparado termicamente em solução alcalina usando um eletrodo de disco-rotário (RDE) e técnicas de polarização. A oxidação do etanol foi mediada por perrutanato eletrogerado na superfície do eletrodo. Desta forma foi proposto um mecanismo para a oxidação de etanol em óxido de rutênio.

Kim e Park²⁹ estudaram a oxidação eletroquímica do etanol em solução alcalina em eletrodos de Ni liso, Ti modificado com RuO_2 e Ni modificado com RuO_2 usando voltametria. A oxidação mais eficiente foi observada com eletrodo de Ni modificado com RuO_2 . Quando o níquel foi usado como material suporte, os compostos de Ru-Ni formados podem ter contribuído, melhorando a atividade eletrocatalítica da oxidação de etanol.

Weng e Chou²¹ desenvolveram um novo sensor de etanol baseado em eletrodo de trabalho de Ni modificado com RuO_2 , com o qual foi obtida uma melhor eficiência na oxidação de etanol que em eletrodo de Ni liso.

3 OBJETIVOS

Desta forma, considerando-se a importância do desenvolvimento e caracterização de eletrodos especiais para a determinação de etanol, neste trabalho se propõe a construção de eletrodos de níquel e algumas ligas (Sn, Ru), assim como de materiais nanoestruturados, para a determinação de etanol em amostras de bebidas e medicamentos, por meio da cronoamperometria, em meio alcalino.

Para isto, serão utilizadas técnicas como a voltametria cíclica, a cronoamperometria, a espectroscopia de impedância eletroquímica, a microscopia de força atômica e a microscopia de transmissão.

Com isto, espera-se obter conhecimentos na área da eletrocatalise, eletrodeposição, caracterização superficial e eletroanalítica.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Célula Eletroquímica

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula eletroquímica convencional, conforme representação esquematizada Figura 3. A célula foi confeccionada com vidro Pyrex[®], possuindo capacidade de 30 cm³ e cinco orifícios, sendo dois utilizados para a entrada e saída de N₂ e três para os eletrodos (eletrodos de trabalho, referência e auxiliar).

Figura 3: Representação esquemática da célula eletroquímica e eletrodos, sendo (1) o eletrodo de trabalho, (2) o eletrodo de referência, (3) o eletrodo auxiliar, (4) entrada de N₂ e (5) saída de N₂.

4.2 Eletrodos

Para a preparação e caracterização da liga de Ni-Sn modificada com RuO₂ foi utilizada como substrato uma placa de níquel com 2 cm² de área geométrica. Para a preparação do eletrodo de níquel nanoestruturado foi empregado um eletrodo de grafite pirolítico embutido em vidro com 0,14 cm² de área geométrica. As superfícies dos substratos foram polidas antes de cada medida com uma lixa com granulação decrescente.

O eletrodo de referência utilizado em todos os experimentos foi o de Ag/AgCl com solução de KCl 3,0 M.

O eletrodo auxiliar utilizado nas medidas voltamétricas e de impedância eletroquímica foi uma placa de platina de 2 cm² de área geométrica.

Tabela 1: Lista de nomenclatura dos eletrodos de trabalho.

Eletrodos	Nomenclatura	Área geométrica
Ni liso	A	2 cm ²
Liga Ni-Sn	B	2 cm ²
Ni-Sn modificada com RuO ₂	C	2 cm ²
Nanoestrutura de Ni	D	0,07 cm ²
Ni embutido	E	0,011 cm ²

4.3 Soluções

Para o preparo das soluções eletrolíticas e a lavagem do material utilizou-se água purificada pelo sistema Milli-Q (Millipore, Inc.), com resistência final de 18 MΩ. Todos os reagentes têm padrão analítico.

Foi utilizado nitrogênio puro (99,9% White Martins) para o arraste do oxigênio dissolvido nas soluções. Antes das medidas eletroquímicas o nitrogênio foi borbulhado durante 20 minutos e, durante a realização do experimento este foi continuamente injetado na célula eletroquímica, para evitar que o oxigênio se dissolva na solução.

Como eletrólito para medidas eletroquímicas foi preparado uma solução de hidróxido de sódio (Mallinckroadt) 0,5M e se utilizou padrão de etanol (Synth).

4.3.1 Solução do Banho de Watts Modificado

Foram preparadas soluções aquosas de Ni-Sn, utilizando cloreto de níquel(II) hexahidratado (Rudel-deHäen) e cloreto estanoso bihidratado (Synth) em concentrações variadas. Para ativação foi utilizada uma solução de hidróxido de sódio 28% (Mallinckrodt). E para modificar a superfície do eletrodo com óxido de rutênio foi empregada uma solução de cloreto de rutênio(III) (Aldrich).

4.3.2 Solução da Síntese da Nanoestrutura de Ni

A Solução foi preparada utilizando cloreto de níquel(II) hexahidratado (Rudel-deHäen), zinco (Rudel-deHäen), aminoetanol (Rudel-deHäen) e etanol (Synth). E para lavar o pó obtido foram usadas soluções de hidróxido de sódio 35% e 50% (Mallinckrodt). Na preparação do eletrodo foi usada uma suspensão de Náfon[®] (Aldrich).

4.4 Equipamentos

Os experimentos de voltametria cíclica, cronoamperometria e espectroscopia de impedância eletroquímica foram realizados com o auxílio de um potenciostato/galvanostato PGZ 402 Voltalab acoplado a um computador PC padrão e interfaceado pelo *software* Voltamaster 4.0.

A topografia dos filmes eletrodepositados foi investigada por medidas de microscopia de força atômica no modo contato com uma instrumentação TOPOMETRIX modelo Explorer (GMEME-IQSC-USP).

E as medidas de microscopia de transmissão foram realizadas utilizando um microscópio Philips CM200, operando a 200 KV (IQ – UNESP Araraquara).

Na preparação dos eletrodos foi usado um banho termostático Nova Ética e forno EDGCON 3P da EDG equipamentos.

4.5 Metodologia

4.5.1 Preparação da liga Ni-Sn

Para a eletrodeposição foram preparados banhos de Watts contendo 6,25 g de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 0,5 g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 25 mL de solução aquosa.²³ A eletrodeposição foi conduzida no modo galvanostático, onde foi usada a técnica de cronopotenciometria⁴² com densidade de corrente 27 mA/cm^2 . O tempo de deposição foi de 20 min e temperatura de 65°C . A agitação e aquecimento da solução foram feitos com um agitador magnético e com banho termostático. Os recobrimentos catalíticos foram obtidos sobre substrato de níquel de 2 cm^2 de área.

A ativação do eletrodo foi feita usando uma NaOH 28%, utilizando a técnica de cronopotenciometria com densidade de corrente 30 mA/cm^2 . O tempo de ativação foi de 15 min e temperatura de 70°C . Com a ativação pôde-se obter a dissolução do Sn em excesso.

4.5.2 Modificação com RuO_2

Os depósitos foram modificados com RuO_2 , utilizando uma solução RuCl_3 0,1 M.²¹ O eletrodo da liga foi deixado na solução em banho de ultrasson por 30

segundos, depois secado a 100°C por 10 min e posteriormente aquecido a 400°C por 10 min em forno em presença de oxigênio, para a decomposição térmica. Este procedimento foi repetido 10 vezes, até se obter uma camada escura do óxido.

4.5.3 Preparação da Nanoestrutura de Níquel

O Ni nanoestruturado foi preparado a partir de uma solução contendo 1,8 g $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissolvido em 30 mL etanol. A essa solução foi adicionada uma mistura de 3,5 g de Zn em pó e 10 mL de aminoetanol em constante agitação, com auxílio de um agitador magnético. Depois de 20 h adicionou-se 10 mL de aminoetanol e 20 mL de etanol. A solução foi filtrada e tratada com solução NaOH 35% e 50% várias vezes, e por último lavada com água destilada. A separação do pó preto foi feita com uma placa magnética.⁴³

Para confecção do eletrodo foi preparada uma solução com 0,5 mg de pó de nanoestrutura, 50 μL de náfon e 950 μL de etanol. Esta solução ficou em ultrasson por 20 min para formar suspensão. Adicionou-se uma alíquota de 10 μL dessa suspensão na superfície do eletrodo de grafite pirolítico embutido em vidro e deixou-se secar.

4.5.4 Caracterização

A técnica de voltametria cíclica^{44,45} foi utilizada para estudar os processos eletroquímicos das camadas eletrodepositadas, podendo-se assim observar as reações de oxi-redução característica do Ni, da liga Ni-Sn, da liga modificada com RuO_2 e da nanoestrutura.⁴⁴ Além disso, características gerais do sistema, tais como

número de picos de deposição e dissolução pôde fornecer indicações úteis sobre a natureza do recobrimento. Nesses experimentos foi utilizado uma solução de NaOH 0,5 M como eletrólito e intervalo de potencial de 100 a 700 mV com velocidade de 50 mV/s.

Os eletrodos foram submetidos à análise por microscopia de força atômica, no modo contato.⁴⁶ Esta técnica foi de grande importância para os estudos de textura e topografia, uma vez que permite a obtenção de imagens representativas em três dimensões.

A morfologia do eletrodo da nanoestrutura foi observada por microscopia eletrônica de transmissão.⁴⁷

As medidas de impedância eletroquímica⁴⁸ foram realizadas em sistemas com etanol com o intuito único de demonstrar a presença de um *loop* indutivo, que pode ser associado à transformação do óxido superior/ óxido inferior de Ni na superfície do eletrodo. O intervalo de frequência foi de 40 kHz a 50 mHz, e o potencial foi igual a 550 mV para o eletrodo modificado com RuO₂. Para o eletrodo de Ni e da liga o intervalo de frequência foi 40 kHz a 100 mHz e o potencial foi 500 mV, e para a nanoestrutura foi de 40 kHz a 10 mHz e 500 mV. Variou-se a concentração de etanol de 0,04 a 0,12 mol/L.

4.5.5 Determinação de Etanol

Os eletrodos foram empregados na determinação quantitativa de etanol e isto foi feito por meio de técnicas eletroanalíticas como cronoamperometria e voltametria linear⁴², e a obtenção de curvas de calibração por meio da técnica de adição de padrão. A curva de trabalho foi levantada variando-se as concentrações

de etanol de 0,01 a 0,12 mol/L. Com a curva de trabalho estabelecida foram determinados os limites de detecção. Em seguida foi escolhido o melhor eletrodo para a determinação de etanol e esta metodologia foi aplicada em análise de etanol em amostras de cachaça, conhaque e enxaguante bucal. Utilizando a cronoamperometria, foi fixado um potencial de 540 mV e tempo de 800 s, a adição de etanol foi feita a cada 100 s. Foram adicionados 12,5 µL da amostra e posteriores adições de 12,5 µL de etanol para a obtenção da curva e depois determinada a concentração de etanol contida nas amostras.

4.5.6 Estatística

Os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir do procedimento estatístico descrito em Miller e Miller.⁴⁹ Para estimar quão bem os pontos experimentais se ajustam em uma linha reta, foi calculado o coeficiente de correlação produto-momento, r , por:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}} \quad (1)$$

Onde $(\bar{x}, \bar{y})$ é conhecida como centróide de todos os pontos, sendo a média aritmética dos valores de x e a dos valores de y . O coeficiente de correlação pode variar no intervalo entre $-1 \leq r \leq +1$. O valor de $r=1$ descreve uma correlação perfeita, isso é, todos os ponto experimentais caem numa linha reta. A equação algébrica que satisfaz um gráfico linear é dada por:

$$y = a + bx \quad (2)$$

Onde b é a tangente da linha e a o intercepto no eixo y, calculados por:

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (4)$$

Os erros aleatórios nos valores para a tangente e intercepto são importantes e as equações usadas para calculá-los foram consideradas. Inicialmente foi calculada a estatística $S_{y/x}$ que é dada por:

$$S_{y/x} = \left\{ \sum_i \frac{(y_i - \hat{y})^2}{n - 2} \right\}^{1/2} \quad (5)$$

O valor de $\hat{y}$ para um dado x foi facilmente calculado com a equação de regressão. Com um valor $S_{y/x}$ para pôde-se agora calcular S_b e S_a , os desvios padrão para a tangente (b) e o intercepto (a):

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (6)$$

$$S_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (7)$$

Com esses desvios padrão, os limites de confiança puderam ser obtidos para a tangente ($b \pm t_{(n-2)} S_b$) e para o intercepto ($a \pm t_{(n-2)} S_a$), onde t é o parâmetro de Student.

Uma vez que a tangente e o intercepto de uma curva de regressão tenham sido determinados, foi simples calcular um valor de x correspondente a qualquer valor medido de y. A determinação do erro no valor x pôde ser dada por:

$$S_{x_0} = \frac{S_{y/x}}{b} \left\{ 1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{1/2} \quad (8)$$

Onde y_0 é o valor experimental de y, a partir do qual o valor da concentração x_0 pôde ser determinado, S_{x_0} é o desvio padrão estimado de x_0 .

A etapa final foi para determinar o limite de detecção, bem como o limite de quantificação. Onde, a definição é dada como:

$$LOD = y_b + 3S_b \quad (9)$$

Onde y_b é o valor do intercepto e S_b é o desvio padrão. O limite de quantificação foi obtido por:

$$LOQ = y_b + 10S_b \quad (10)$$

A porcentagem de etanol encontrado nas amostras foi calculada usando técnica da adição de padrões com o auxílio da equação:

$$\% R = 100 \frac{[\text{etanol}]_{\text{recuperada}}}{[\text{etanol}]_{\text{adicionada}}} \quad (11)$$

Onde o valor de $[\text{etanol}]_{\text{recuperada}}$ refere-se a concentração obtida pela extrapolação da curva analítica.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos para a determinação de etanol utilizando diferentes eletrodos (nano-estruturados ou não) desenvolvidos e caracterizados durante o desenvolvimento deste projeto.

5.1 Obtenção e Caracterização dos Eletrodos

Diferentes eletrodos serão analisados quanto aos seus efeitos catalíticos para a reação de oxidação de etanol. Estes eletrodos serão denominados A, B, C e D, conforme definidos na secção anterior (Experimental).

5.1.1 Caracterização Voltamétrica

Os perfis voltamétricos dos eletrodos A, B, C e D foram analisados em meio de hidróxido de sódio ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$). Os perfis obtidos para os eletrodos A, B e C foram comparados e estão apresentados na Figura 4.

Os eletrodos A e B apresentaram um pico anódico em $0,45 \text{ V}$ e dois picos catódicos em $0,27$ e $0,33 \text{ V}$. A evolução de oxigênio ocorre em potenciais mais positivos que $0,56 \text{ V}$. O pico anódico, observado na varredura direta, corresponde à oxidação do $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ para $\gamma\text{-NiOOH}$, que é seguido pela reação de desprendimento de hidrogênio e a simultânea oxidação do NiOOH para NiO_2 e estados de oxidação superiores do Ni .²⁷ Na varredura inversa, os picos catódicos em $0,28$ e $0,33 \text{ V}$

correspondem às reduções dos óxidos formados na varredura direta para β -Ni(OH)₂.⁵⁰

Figura 4: Voltamogramas cíclicos dos eletrodos A (—), B (—) e C (—) em meio de NaOH 0,5 M; $v=50 \text{ mV s}^{-1}$.

Para o eletrodo C (liga Ni-Sn modificada com RuO₂) foram observados um pico anódico em 0,50 V e dois picos catódicos em 0,24 e 0,28 V. O pico anódico em 0,50 V é largo, sem um perfil bem definido, o que sugere que podem estar incluídos os picos das reações de oxidação de RuO₂ a perrutanato, Ni(OH)₂ a NiOOH, e provavelmente os compostos de Ru-Ni para outros estados de oxidação maiores.²¹

Vários pares redox como Ru(II)/Ru(III), Ru(III)/Ru(IV), e Ru(VI)/Ru(VII) tem sido relatados por estarem envolvidos na eletro-oxidação na superfície dos eletrodos baseados em rutênio. Eletrodos que usam os pares redox de rutênio têm excelente reversibilidade e estabilidade. O par redox rutanato (Ru(VI))/perrutanato(Ru(VII)) tem sido demonstrado como apropriado para muitas reações eletroquímicas como mediador na transferência de elétrons.²⁹

Os eletrodos D e E são, basicamente, de Ni e, assim, sua resposta voltamétrica é praticamente idêntica às daquelas do eletrodo A.

5.1.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

As medidas de impedância eletroquímica foram realizadas em sistemas com etanol com o intuito único de demonstrar a presença de um loop indutivo, que pode ser associado à transformação óxido superior/óxido inferior na superfície do eletrodo. Como, nas regiões de potenciais estudadas, a superfície do eletrodo de níquel se encontra polarizada em potenciais suficientemente elevados para a formação do NiO_2 (óxido superior), este é formado e, imediatamente, oxida a molécula de etanol, voltando a NiOOH .⁵¹ Esta transformação fora do equilíbrio gera um loop indutivo, conforme observado na Figura 5.

A Figura 5 apresenta um loop indutivo tanto para o eletrodo A como para o eletrodo B, em solução de 0,5 M NaOH contendo 0,02 M etanol, conforme esperado da discussão acima. Isto atesta a participação do óxido superior de níquel (NiO_2) na reação de oxidação de etanol.

A resistência de transferência de carga, dada pela amplitude do semi-círculo obtido, foi quatro vezes menor para a liga Ni-Sn (eletrodo B) do que para o Ni (A), indicando um possível efeito catalítico deste tipo de liga.

Figura 5: Medida de impedância realizada com eletrodo A (—) e B (—) em solução aquosa com 0,5 M NaOH + 0,02 M etanol a 0,50 V, e frequência de 40 kHz a 100 mHz.

Com relação ao eletrodo C, observa-se que o loop indutivo é muito menos evidente, apenas com certa tendência de formação. Isto se deve, provavelmente, ao recobrimento do substrato com o RuO_2 , dificultando a participação dos óxidos superiores de Ni na oxidação do etanol, sobre esta superfície. Estas informações são apresentadas na Figura 6.

Observa-se ainda que o semicírculo obtido é bastante complexo, sugerindo uma possível deconvolução em vários componentes, relacionados com os diferentes processos descritos acima e que ocorrem na superfície deste eletrodo modificado. A resistência de transferência de carga é, em geral, menor que aquela observada para o eletrodo A, entretanto, devido à complexidade do processo superficial global, é difícil associá-la a qualquer reação eletródica individual.

Figura 6: Medida de impedância realizada com o eletrodo C em solução aquosa com 0,5 M NaOH + 0,02 M etanol a 0,55 V, e frequência de 40 kHz a 50 mHz.

5.1.3 Microscopia de Força Atômica

Foram realizadas medidas de AFM para a caracterização topográfica dos eletrodos. A Figura 7 abaixo mostra a diferença entre a superfície do Ni liso e modificado com o eletrodepósito da liga Ni-Sn. Nota-se que o depósito apresenta características não cristalinas (sem padrão geométrico) sendo bastante porosos.

Figura 7: Imagens de AFM em três dimensões dos eletrodos A e B, respectivamente. Dimensão da varredura $50 \times 50 \mu\text{m}^2$.

Após o eletrodo da liga ser modificado com RuO_2 foi estudada a topografia, podendo-se verificar a formação de grãos que se encontram distribuídos por toda a superfície do eletrodo.

Figura 8: Imagem de AFM em três dimensões para o eletrodo C. Dimensão de varredura $50 \times 50 \mu\text{m}^2$.

As diferentes morfologias observadas, características de diversas amostras da superfície dos eletrodos A, B e C, indicam que o substrato de Ni liso foi modificado com sucesso pela deposição da liga Ni-Sn e que esta também foi modificada pela deposição do RuO_2 .

5.2 Aplicações

Após serem caracterizados, os eletrodos A, B e C foram utilizados na determinação de etanol em meio de $\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-2}$, com a construção de curvas analíticas usando as correntes de pico obtidas do segundo ciclo de experimentos de voltametria cíclica. A curva analítica em eletrólito puro foi construída pelo método da adição consecutiva de alíquotas de etanol, a partir de uma solução estoque. Os voltamogramas cíclicos obtidos para cada concentração de etanol utilizando o eletrodo A são apresentados na Figura 9. A linha preta representa a resposta voltamétrica do eletrodo A apenas no eletrólito, sem qualquer acréscimo deliberado

de etanol (branco). Ao se adicionar o analito, observou-se um pico de oxidação em 0,55 V, que se desloca para valores mais positivos com o aumento da concentração. Observou-se ainda, que a corrente de pico aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração.

Figura 9: Voltamogramas cíclicos para o etanol sobre eletrodo A em diferentes concentrações ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). Concentrações: 0 (—); 0,02 (—); 0,04 (—); 0,06 (—); 0,08 (—); 0,10 (—); 0,12 (—) mol L^{-1} .

A curva analítica pode ser observada na Figura 10 e o tratamento estatístico está presente na Tabela 2. A dependência linear entre a corrente de pico e a concentração de etanol foi testada pelo coeficiente de correlação produto-momento descrito pela Equação 1. O valor obtido de $r = 0,9982$, junto com o aspecto visual da Figura 10 é conclusivo sobre a linearidade da curva analítica.⁴⁹

Figura 10: Dependência linear entre a corrente de pico e a concentração de etanol, sobre o eletrodo A.

A próxima etapa foi o uso dos dados da Tabela 2 para calcular a equação linear da reta, seguindo as Equações 3 e 4. Neste caso, $b = 0,00049 \text{ A mol}^{-1}$ e $a = 0,00336 \text{ mA}$. Então, a equação da curva analítica pode ser descrita por $I_p = 0,00336 \times 10^{-3} \text{ A} + 0,00049 \text{ A}(\text{mol L}^{-1})^{-1} [\text{etanol}] \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida os erros associados aos cálculos de a e b foram avaliados. Assim, os valores $\hat{y}$ (valores das correntes de pico calculadas) são calculados a partir da regressão linear e incluídos também na Tabela 2. A partir da Equação 5, o valor do parâmetro estatístico $S_{y/x}$ é obtido como 0,00094. Usando este valor e as Equações 6 e 7, o desvio padrão para a inclinação e o intercepto são calculados como $S_b = 0,00001$ e $S_a = 0,00004$, respectivamente. Agora, o limite de confiança pode ser calculado considerando o grau de liberdade do experimento ($n-2$, isto é, 5) e o parâmetro de Student para o nível de confiança 95%, isto é, 2,57. Assim, o valor para o limite de confiança para a reta é $b = 0,00049 \pm 0,00002 \text{ A}(\text{mol L}^{-1})^{-1}$ e o intercepto é $a = 0,00336 \pm 0,00010 \text{ mA}$.

A curva analítica final é descrita por $I_p = (0,00336 \pm 0,00010) \times 10^{-3} A + (0,00049 \pm 0,00002 A) A(\text{mol L}^{-1})^{-1} [\text{etanol}] \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 2: Parâmetros estatísticos para determinação de etanol sobre o eletrodo A.

	x (mmol L ⁻¹)	y (mA)	x-mx	y-my	(x-mx). (y-my)	(x-mx) ²	(y-my) ²	Y _{calc}	(y-y _{calc}) ²
	0	0,002	-60	-0,031	1,84	3600	0,0009	0,003	1,84E-06
	20	0,013	-40	-0,020	0,79	1600	0,0004	0,013	2,04E-08
	40	0,024	-20	-0,009	0,17	400	0,0001	0,023	1,15E-06
	60	0,034	0	0,001	0,00	0	0,0000	0,033	1,65E-06
	80	0,043	20	0,010	0,21	400	0,0001	0,043	2,50E-07
	100	0,052	40	0,019	0,77	1600	0,0004	0,052	8,16E-08
	120	0,061	60	0,028	1,70	3600	0,0008	0,062	1,15E-06
Σ	420	0,229	0	0,000	5,48	11200	0,0027	0,229	6,14E-06
Média	60	0,033							

$b = 0,00049$; $a = 0,00336$; $S_{y/x} = 0,00094$; $S_b = 0,00001$; $S_a = 0,00004$;

$LOD = 0,2567 \text{ mmol L}^{-1}$; $LOD = 11,8289 \text{ mg L}^{-1}$; $LOQ = 35,4867 \text{ mg L}^{-1}$

O desvio padrão para o intercepto é agora usado para calcular os limites de detecção e quantificação. Para isso, são usadas as Equações 9 e 10. Nessas equações, y_b é a corrente obtida para a concentração de etanol igual a 0 na solução, e S_b é o desvio padrão para a corrente do branco medida. Combinando na Equação 9, esses valores fornecem o sinal do limite de detecção. Usando a equação da reta descrita anteriormente, para a curva analítica, esse sinal é convertido a $LOD = 0,2567 \text{ mol L}^{-1}$. Multiplicando este número por 46,07 (massa molar do etanol) é

encontrado $LOD = 11,8289 \text{ mg L}^{-1}$. Isso corresponde a um limite de quantificação de $35,4867 \text{ mg L}^{-1}$. O erro envolvido nos cálculos do LOD pode ser avaliado pela combinação de erros dos parâmetros da Equação 9. Assim, o desvio padrão associado a essa soma é:

$$S_{LOD} = (S_a^2 + S_b^2)^{1/2} \quad (12)$$

Considerando o S_a e S_b valores dados acima, S_{LOD} é 0,0001. Novamente, o limite para o intervalo de confiança pode ser obtido como $(LOD \pm t_{(n-2)} S_{LOD})$, ou $(11,8289 \pm 0,0001) \text{ mg L}^{-1}$.

Em seguida, foi construída a curva analítica em eletrólito puro sobre o eletrodo B. Os voltamogramas cíclicos para as diferentes concentrações de etanol são apresentados na Figura 11. Pode-se observar um aumento na corrente de pico com o aumento da concentração de etanol.

Figura 11: Voltamogramas cíclicos para o etanol sobre eletrodo B em diferentes concentrações ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). Concentrações: 0 (—); 0,02 (—); 0,04 (—); 0,06 (—); 0,08 (—); 0,10 (—); 0,12 (—) mol L^{-1} .

A curva analítica está apresentada na Figura 12 e o tratamento estatístico na Tabela 3. Foi aplicado o mesmo tratamento estatístico descrito anteriormente para o eletrodo A. O valor obtido de $r = 0,9889$ comprova a linearidade da curva analítica.⁴⁹ A curva analítica pode ser descrita por $I_p = (0,00736 \pm 0,00046) \times 10^{-3} A + (0,00064 \pm 0,00010) A(\text{mol L}^{-1})^{-1} [\text{etanol}] \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Nesse caso o LOD = $(39,02578 \pm 0,00046) \text{ mg L}^{-1}$ e LOQ = $(117,07735 \pm 0,00046) \text{ mg L}^{-1}$.

Figura 12: Dependência linear entre a corrente de pico e a concentração de etanol, sobre o eletrodo B.

Tabela 3: Parâmetros estatísticos para determinação de etanol sobre o eletrodo B.

	x	Y	x-mx	y-my	(x-mx).	(x-mx) ²	(y-my) ²	y _{calc}	(y-y _{cal}) ²
	(mmol L ⁻¹)	(mA)		(y-my)					
	0	0,002	-60	-0,044	2,62	3600	0,00191	0,007	2,9E-05
	20	0,019	-40	-0,027	1,07	1600	0,00071	0,020	1,3E-06
	40	0,037	-20	-0,009	0,17	400	0,00008	0,033	1,7E-05
	60	0,052	0	0,006	0,00	0	0,00004	0,046	4,0E-05
	80	0,06	20	0,014	0,29	400	0,00020	0,059	2,3E-06
	100	0,071	40	0,025	1,01	1600	0,00064	0,071	8,2E-08
	120	0,079	60	0,033	2,00	3600	0,00111	0,084	2,6E-05
Σ	420	0,32	0	0,000	7,16	11200	0,00469	0,320	1,1E-04
Média	60	0,05							
<i>$b = 0,00064; a = 0,00736; S_{y/x} = 0,00404; S_b = 0,00004; S_a = 0,00018$</i>									
<i>$LOD = 0,84710 \text{ mmol L}^{-1}; LOD = 39,02578 \text{ mg L}^{-1}; LOQ = 117,07735 \text{ mg L}^{-1}$</i>									

O mesmo estudo foi aplicado ao eletrodo C e os resultados voltamétricos para as diferentes concentrações de etanol estão apresentados na Figura 13. Pode-se observar que a corrente de pico aumenta com o aumento da concentração de etanol, porém não se observa a formação de picos definidos.

Figura 13: Voltamogramas cíclicos para o etanol sobre eletrodo C em diferentes concentrações ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). Concentrações: 0 (—); 0,01 (—); 0,02 (—); 0,03 (—); 0,04 (—); 0,05 (—); 0,06 (—) mol L^{-1} .

A dependência linear entre a corrente de pico e a concentração de etanol foi testada pelo coeficiente de correlação produto-momento descrito anteriormente. Com o valor $r = 0,9938$ comprova a linearidade da curva analítica apresentada na Figura 14.

O tratamento estatístico aplicado ao eletrodo C está apresentado na Tabela 4. A equação da reta é descrita por $I_p = (0,0038 \pm 0,0010) \times 10^{-3} A + (0,0017 \pm 0,0003) A(\text{mol L}^{-1})^{-1} [\text{etanol}] \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Os limites são dados por $\text{LOD} = (32,3789 \pm 0,0010) \text{ mg L}^{-1}$ e $\text{LOQ} = (97,1366 \pm 0,0010) \text{ mg L}^{-1}$.

5.3 Nanoestrutura

As propriedades físicas das nanopartículas metálicas estão atraindo grande interesse por poderem apresentar diferenças significativas como resultado do efeito do tamanho ou da superfície.^{52,53,54} Entretanto, essas propriedades são altamente dependentes do tamanho das partículas e da presença ou não de interações entre suas superfícies e ligantes, contaminantes ou suporte. Assim, para esse fim se requer a necessidade do controle preciso do tamanho e da distribuição das partículas, assim como do estado de sua superfície. Nesta perspectiva, o uso de precursores organometálicos tem recentemente gerado interesse de diferentes Grupos de Pesquisas, desde que possa conduzir às partículas com uma superfície bem controlada e, em alguns casos, um tamanho ajustável. Por isso, neste trabalho, tentou-se desenvolver um eletrodo de nanotubo de níquel para ser aplicado na oxidação de etanol. A síntese do nanotubo foi reproduzida como descrito no trabalho de Zhu *et al.* (2002).⁴³

Os detalhes experimentais desta síntese estão relatados no item Experimental, acima.

5.3.1 Caracterização

Diferentes técnicas experimentais foram utilizadas para se caracterizar as estruturas obtidas. Elas são detalhadas a seguir.

5.3.1.1 Microscopia de transmissão eletrônica

A morfologia do sólido foi observada por microscopia eletrônica de transmissão, e está apresentada na Figura 15.

Figura 15: Imagem de microscopia de transmissão eletrônica do Ni nanoestruturado.

Através da imagem podemos observar que não se formou os nanotubos de níquel como apresentado no trabalho de Zhu *et al.* (2006) ⁴³, obtendo-se apenas estruturas de níquel em escala nanométrica. Embora não se tenha uma morfologia indicativa dos nanotubos, a superfície obtida ainda pode ser utilizada para a determinação do etanol, pois apresenta uma grande área superficial.

5.3.1.2 Voltametria cíclica

O eletrodo preparado com o sólido de nanoestruturas de níquel (denominado eletrodo D) foi caracterizado por voltametria cíclica em meio de NaOH 0,5 M. O perfil

do eletrodo encontra-se na Figura 16, comparado com o perfil obtido para o eletrodo de níquel convencional (eletrodo E).

Figura 16: Voltamogramas cíclicos de estado estacionário para os eletrodos D (—) e E (—) em meio de NaOH 0,5 M; $v=50 \text{ mV s}^{-1}$.

Por meio dos voltamogramas cíclicos pode-se observar que o eletrodo D apresenta um perfil voltamétrico bastante diferenciado, em relação ao do níquel liso. Uma diferença importante está relacionada com o aumento da espessura dos picos voltamétricos, provavelmente associado a uma distribuição energética completamente diferente, obtida na superfície nanométrica, conforme era de se esperar para as nanoestruturas. Além disto, observa-se ainda um grande efeito de área, relacionado com o aumento das densidades de corrente. Assim, este eletrodo nanoestruturado é bastante distinto do eletrodo de Ni liso e deve ser avaliado quanto à sua utilidade para a oxidação do etanol.

5.3.2 Aplicação

5.3.2.1 Determinação da curva analítica

Após ser caracterizado o eletrodo D foi aplicado no estudo de oxidação do etanol, dessa forma, foi feita a determinação da curva analítica utilizando a técnica de cronoamperometria. O potencial aplicado foi de 540 mV e tempo de 800 s, como apresentado na Figura 17. Após a corrente ser estabilizada, foram adicionadas alíquotas de 12,5 μL de etanol a cada 100 s, na célula eletroquímica contendo 20 mL de eletrólito suporte (NaOH 0,5 M). A Figura 17 mostra que a resposta da corrente aumenta nitidamente após a adição de etanol. A curva analítica em eletrólito puro foi construída pelo método da adição de padrão.

Figura 17: Resposta amperométrica do eletrodo D para diferentes concentrações de etanol. Adição de alíquotas de 12,5 μL etanol a cada 100 s.

Os valores estáveis da resposta de corrente foram plotados contra as diferentes concentrações de etanol e resultando em uma reta na faixa de 0 a 0,07 M de concentração de etanol, apresentada na Figura 18.

Figura 18: Dependência linear entre a corrente e a concentração de etanol sobre o eletrodo D.

A equação linear da reta é dada por $I_p = (0,0166 \pm 0,0021) \times 10^{-6} A + (0,0100 \pm 0,0005) A(mol L^{-1})^{-1} [etanol] \times 10^{-3} mol L^{-1}$ e o valor de $r = 0,9991$, comprovando a linearidade da reta. O tratamento estatístico está apresentado na Tabela 5.

Tabela 5: Parâmetros estatísticos para determinação de etanol sobre o eletrodo D.

	X	Y	x-mx	y-my	(x-mx).	(x-mx) ²	(y-my) ²	y _{calc}	(y-y _{calc}) ²
	mmol L ⁻¹	mA			(y-my)				
	0	0,030	-30	-0,287	8,60	900	0,08	0,02	1,72E-04
	10	0,102	-20	-0,214	4,28	400	0,05	0,12	2,09E-04
	20	0,212	-10	-0,104	1,04	100	0,01	0,22	1,90E-05
	30	0,321	0	0,005	0,00	0	0,00	0,32	2,26E-05
	40	0,419	10	0,103	1,03	100	0,01	0,42	8,22E-06
	50	0,507	20	0,191	3,82	400	0,04	0,52	8,14E-05
	60	0,623	30	0,307	9,20	900	0,09	0,62	5,03E-05
Σ	210	2,214	0	0,000	27,97	2800	0,28	2,21	5,63E-04
Média	30	0,316							
<i>b = 0,0100; a = 0,0166; S_{y/x} = 0,0090; S_b = 0,0002; S_a = 0,0008</i>									
<i>LOD = 0,2408 mmol L⁻¹; LOD = 11,0933 mg L⁻¹; LOQ = 33,2800 mg L⁻¹</i>									

Os resultados estatísticos obtidos para os eletrodos foram comparados e estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Comparação dos resultados estatísticos dos eletrodos.

	Ni	NiSn	NiSn-RuO ₂	Ni nano
LOD	11,8289	39,02578	32,3789	11,0933
mgL⁻¹	±0,0002	±0,00046	±0,0010	±0,0021
LOQ	35,4867	117,07735	97,1366	32,2800
mgL⁻¹	±0,0002	±0,00046	±0,0010	±0,0021
A	0,00336	0,00404	0,0338	0,0166
mA	±0,0001	±0,00046	±0,0010	±0,0021
B	0,00049	0,00064	0,0017	0,0100
A/(molL⁻¹)	±0,00002	±0,00010	±0,0003	±0,0005
R	0,9982	0,9889	0,9938	0,9991

O eletrodo de nanoestruturas de Ni foi escolhido por apresentar o menor limite de detecção e assim, as aplicações em matrizes reais foram feitas apenas com este eletrodo.

5.3.2.2 Análise de amostras

Após a obtenção da curva analítica foram realizadas análise de etanol, utilizando o eletrodo nanoestruturado (eletrodo D), em amostras de cachaça, enxaguante bucal e conhaque.

5.3.2.2.1 Análise de amostra de cachaça

Para a análise foi utilizada uma amostra de cachaça comercial da marca Velho Barreiro[®]. Foi adicionada uma alíquota de 12,5 μL da cachaça em 20 mL de eletrólito suporte (NaOH 0,5 M). Em seguida foram feitas adições sucessivas de alíquotas de 12,5 μL de etanol para obtenção da curva de recuperação (método de adição de padrão), utilizando a técnica de cronoamperometria. O potencial aplicado foi de 540 mV e tempo de 800 s. Deve-se salientar que o intervalo de concentrações nos experimentos de recuperação obedeceu àqueles da curva analítica e que as análises foram realizadas em triplicata.

Na Figura 19 está representada a resposta da corrente em função do tempo para a amostra e para as adições de padrão de etanol. E a Figura 20 mostra a curva de recuperação, $r = 0,9998$.

Figura 19: Resposta amperométrica para diferentes concentrações de etanol. Adição de 12,5 μL de amostra de cachaça e sucessivas adições de 12,5 μL etanol. $E = 540 \text{ mV}$, $t = 800 \text{ s}$.

Figura 20: Curva de recuperação para amostra de cachaça. Com $r = 0,9998$.

A concentração de etanol encontrada na amostra de cachaça e a porcentagem de recuperação estão apresentadas na Tabela 7, assim como o valor da porcentagem de etanol apresentada no rótulo da bebida. A porcentagem encontrada para cada experimento foi calculada pela Equação 11 e o erro da concentração recuperada foi calculado pela Equação 8.

Para as análises foram feitos os mesmos cálculos estatísticos descritos anteriormente.

Tabela 7: Resultados da curva de recuperação de etanol para amostra de cachaça.

[adicionada] mol L ⁻¹	[recuperada] mol L ⁻¹	% recuperação	% v/v etanol encontrado	% v/v etanol valor do rótulo
0,01	0,095±0,0002	95	38	40

Os valores relatados indicam a adequação do método proposto para medidas analíticas.

5.3.2.2.2 Análise de amostra de enxaguante bucal

Os líquidos para limpeza bucal comercialmente disponível geralmente contém níveis altos de álcool que varia de 3 a 50 %. Isto pode produzir uma sensação ardente nas bochechas e dentes, ou pode causar intoxicação se ingerir ou usar excessivamente. Isso torna importante o controle da concentração de álcool empregado na fabricação desses produtos.

Para a análise foi utilizada a marca de enxaguante bucal Listerine®. Foi adicionada uma alíquota de 12,5 µL da amostra em 20 mL de eletrólito e sucessivas adições de 12,5 µL de padrão de etanol. A resposta da corrente em função do tempo está apresentada na Figura 21.

Figura 21: Resposta amperométrica para diferentes concentrações de etanol. Adição de 12,5 µL de amostra de enxaguante bucal e sucessivas adições de 12,5 µL etanol. E = 540 mV, t = 800 s.

A curva de recuperação para o enxaguante bucal está representada na Figura 22, com $r = 0,9968$.

Figura 22: Curva de recuperação para amostra de enxaguante bucal. Com $r = 0,9968$.

Na Tabela 8 estão apresentados os valores da concentração encontrada e a porcentagem de recuperação, assim como o valor da porcentagem de álcool mencionada no rótulo do produto.

Tabela 8: Resultados da curva de recuperação de etanol para a amostra de enxaguante bucal.

[adicionada]	[encontrada]	% recuperação	% v/v etanol encontrada	% v/v etanol valor do rótulo
mol L ⁻¹	mol L ⁻¹			
0,01	0,01±0,005	100	26,9	26,9

5.3.2.2.3 Análise de amostra de conhaque

Para análise foi utilizada uma amostra de conhaque comercial Presidente[®]. O experimento foi realizado adicionando uma alíquota de 12,5 L de amostra e sucessivas adições de padrão de etanol, nas mesmas condições das análises anteriores. O resultado da variação da corrente em função do tempo está

apresentado na Figura 23, e a Figura 24 mostra a curva de recuperação para o etanol.

Figura 23: Resposta amperométrica para diferentes concentrações de etanol. Adição de 12,5 μL de amostra de conhaque e sucessivas adições de 12,5 μL etanol. $E = 540 \text{ mV}$, $t = 800 \text{ s}$.

Figura 24: Curva de recuperação para amostra de conhaque. Com $r = 0,9991$.

Os valores da concentração encontrada e a porcentagem de recuperação para o etanol, assim como o valor relatado no rótulo do produto comercial estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados da curva de recuperação de etanol para a amostra de conhaque.

[adicionada]	[encontrada]	% recuperação	% v/v etanol encontrado	% v/v etanol valor do rótulo
mol L ⁻¹	mol L ⁻¹			
0,01	0,01±0,0002	100	38	38

Assim, as diferentes aplicações do eletrodo de Ni para a determinação de etanol em diferentes amostras mostraram a adequabilidade da técnica amperométrica, o que é muito útil para a confecção de sensores para o monitoramento em linhas de produção ou mesmo para a utilização de técnicas eletroquímicas como detecção cromatográfica. A excelente porcentagem de recuperação obtida mostrou que o efeito da matriz, nestas determinações, é praticamente desprezível, o que está de acordo com o mecanismo da reação de oxidação do etanol sobre Ni, discutido no início deste item, fortemente catalisado pela superfície dos eletrodos em estudo.

6 CONCLUSÕES

Os eletrodos de Ni e suas ligas mostraram-se bastante adequados para a quantificação de etanol em diferentes matrizes complexas. A baixa sensibilidade observada para a presença de interferentes nestas matrizes pode ser justificada pelo grande poder catalítico da superfície de níquel para a oxidação de etanol, assim como de outros alcoóis e açúcares.

A reação intermediada pela formação/redução de óxidos de níquel de valências superiores (NiO e Ni₂O₃, por exemplo), gera um sinal eletroquímico (corrente de pico) muito grande, bastante superior àqueles observados para reações não catalíticas. Assim, estas superfícies, quando utilizadas como sensores eletroquímicos, apresentam uma sensibilidade muito elevada.

Dos materiais analisados neste trabalho, a superfície nanoestruturada de níquel foi a que mostrou maior sensibilidade (ou menor tangente da curva analítica). Isto provavelmente devido à maior área ativa disponível neste tipo de eletrodo, o que foi devidamente comprovado por técnicas microscópicas. Já o recobrimento da superfície com RuO₂ inibiu a formação dos óxidos superiores do Ni e diminuiu a sensibilidade do eletrodo.

Para estas aplicações, a grande vantagem de técnicas eletroquímicas está relacionada com a possibilidade de se miniaturizar os dispositivos e desenvolver aparelhos portáteis de controle de níveis de etanol que sirvam tanto para o controle de qualidade de indústrias de alimentos, combustíveis, medicamentos, etc., como para os agentes de fiscalização na aferição de quantidades permitidas de misturas. Nesta área, o controle pode ser feito em tempo real, no próprio local de utilização do etanol, assim como no ar ou em águas em eventuais contaminações.

Obviamente, outros tipos de alcoóis e alguns açúcares interferem nestas determinações e, assim, cada caso de aplicação demanda um estudo prévio de aplicabilidade do sensor eletroquímico.

Neste trabalho mostrou-se que, em escala de laboratório, a determinação de álcool em aguardentes, conhaque e em uma formulação de enxaguante bucal pode perfeitamente ser conduzida com a técnica da cronoamperometria, extremamente simples, em eletrodos de níquel, nanoestruturados ou não.

Em futuros trabalhos, eletrodos de alta área superficial e com nanoestruturas mais bem definidas deverão ser testados para diminuir os limites de detecção da técnica, tornando as análises mais precisas.

Finalmente, um ponto de grande contribuição deste trabalho foi o emprego da estatística no tratamento dos dados experimentais, o que possibilitou a avaliação dos erros envolvidos nos dados experimentais, assim como no cálculo de limites de detecção e de sensibilidades. Evitou-se o emprego de métodos de determinação de limites de detecção que são muito mais sensíveis ao sinal do “branco” do que ao do analito.

Desta forma, as propostas relacionadas nos objetivos do presente trabalho foram alcançadas de maneira satisfatória, mostrando assim um método alternativo para a avaliação de etanol em diferentes aplicações.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BIODIESEL BR. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/proalcool/proalcool.htm>>. Acesso em: 12 ago. 2006.

2. BIOLOGIA Viva. Disponível em: <<http://www.biologiaviva.htp.ig.br/etanol.html>>. Acesso em: 10 set. 2006.

3. SILVA, J. E.; SILVA, F. A.; PIMENTEL, M. F.; HONORATO, R. S.; SILVA, V. L.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M.; ARAÚJO, A. N. A flow-bath internal standard procedure for iron determination in hydrated ethanol fuel by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 70, p. 522-526, 2006.

4. AVELAR, H. M.; BARBEIRA, P. J. S. Conductometric determination of total acidity and chloride content in automotive fuel ethanol. **Fuel**, v. 86, p. 299-302, 2007.

5. AÇÚCAR guarani. Disponível em: <<http://www.acucarguarani.com.br>>. Acesso em: 20 ago. 2006.

6. PAIXÃO, T. R. L. C.; CARDOSO, J. L.; BERTOTTI, M. The use of a copper microelectrode to measure the ethanol content in gasohol samples. **Fuel**, v. 86, p. 1185-1191, 2007.

7. TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L.; PADILHA, P. M.; STRADIOTTO, N. R. A solid paraffin-based carbon paste electrode modified with 2-aminothiazole organofunctionalized silica for differential pulse adsorptive stripping analysis of nickel in ethanol fuel. **Analytica Chimica Acta**, v. 584, n. 2, p. 295-301, 2007.

8. LVOVA, L.; PAOLESSE, R.; NATALE, C. D.; D'AMICO, A. Detection of alcohols in beverages: An application of porphyrin-based electronic tongue. **Sensors and Actuators B**, v. 118, p. 439-447, 2006.

9. GALLIGNANI, M.; AYALA, C.; BRUNETTO, M. R.; BURGUERA, 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.

10. IÑÓN, F. A.; GARRIGUES, S.; LA GUARDIA, M. Combination of mid- and near-infrared spectroscopy for the determination of the quality properties of beers. **Analytica Chimica Acta**, v. 571, p. 167-174, 2006.

11. ROCCHIA, M.; ROSSI, A. M.; ZEPPA, G. Determination of ethanol content in wine through a porous silicon oxide microcavity. **Sensors and Actuators B**, v. 123, n. 1, p. 89-93, 2007.
12. BOA Saúde. Disponível em: <<http://www.boasaude.com>>. Acesso em: 1 jan. 2007.
13. ARMENTA, S.; TURRILLAS, F. A. E.; QUINTÁS, G.; GARRIGUES, S.; PASTOR, A.; LA GUARDIA, M. Development of a simple and low cost device for vapour phase Fourier Transform Infrared spectrometry determination of ethanol in mouthwashes. **Analytica Chimica Acta**, v. 569, p. 238-243, 2006.
14. AZEVEDO, A. M.; PRAZERES, D. M. F.; CABRAL, J. M. S.; FONSECA, L. P. Ethanol biosensors based on alcohol oxidase. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 21, p. 235-247, 2005.
15. KUGELBERG, F. C.; JONES, A. W. Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature. **Forensic Science International**, v. 165, p. 10-29, 2007.
16. SOUZA, V.; RODRIGUES, J. M.; SILVA, R. A. L.; PEREIRA, L. J. P.; COUTO, P. R. G. Participação do INMETRO em intercomparação do SIM: análise de etanol em água. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE METROLOGIA, 4., 2004, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Rede Paranaense de Metrologia e Ensaios, 2004.
17. PAIXÃO, T. R. L. C.; BERTOTTI, M. Development of breath alcohol sensor using a copper electrode in an alkaline medium. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 571, p. 101-109, 2004.
18. PANG, C.; CHIN, M.; LIN, T.; CHOU, T. Ethanol sensor by using the nickel foil electrode. **Electroanalysis**, v. 13, p. 499-503, 2001.
19. KAULEN, J.; SCHÄFER, H. J. Oxidation of alcohols by electrochemically regenerated nickel oxide hydroxide. **Tetrahedron**, v. 38, p. 3299-3308, 1982.
20. MANANDHAR, K.; PLETCHER, D. The preparation of high surface area nickel oxide electrodes for synthesis. **Journal Applied Electrochemical**, v. 9, p. 707, 1979.

21. WENG, Y.; CHOU, T. Ethanol sensors by using RuO₂-modified Ni electrode. **Sensors and Actuators B**, v. 85, p. 246-255, 2002.
22. CERNE, José Luiz. **Desenvolvimento de nova metodologia para a ampliação de escala na eletrodeposição de Ni de alta área**. 1994. 63f. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 1994.
23. SILVA, José Carlos Pereira. **Estudo das reações de desprendimento de hidrogênio e oxigênio sobre eletro-depósitos de Ni-Sn**. 1990. 88f. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) – Instituto de Física e Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 1990.
24. MANZOLI, Alexandra. **Análise eletrogravimétrica de deposição e da dissolução da Liga Cu:Ni**. 2003. 145f. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Departamento de Química – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.
25. HE, G.; LÖSER, W.; ECKERT, J. In situ formed Ti-Cu-Ni-Sn-Ta nanostructure-dendrite composite with large plasticity. **Acta Materialia**, v. 51, p. 5223, 2003.
26. MACIEL, A. P.; LONGO, E.; LEITE, E. R. Dióxido de estanho nanoestruturado: síntese e crescimento de nanocristais e nanofitas. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 855, 2003.
27. WENG, Y.; RICK, J. F.; CHOU, T. A sputtered thin film of nanostructured Ni/Pt/Ti on Al₂O₃ substrate for ethanol sensing. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 20, p. 41-51, 2004.
28. BOUJTITA, M.; CHAPLEAU, M.; MURR, N. E. Biosensors for analysis of ethanol in food: effect of the pasting liquid. **Analytica Chimica Acta**, v. 319, p. 91-96, 1996.
29. KIM, J.; PARK, S. Electrochemical oxidation of ethanol at thermally prepared RuO₂- modified electrodes in alkaline media. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 146, p. 1075-1080, 1999.
30. ZILLY, M.; LANGMANN, P.; LENKER, U.; SATZINGER, V.; SHIRMER, D.; KLINKER, H. Highly sensitive gas chromatographic determination of ethanol in human urine samples. **Journal of Chromatography B**, v. 798, p. 179-186, 2003.

31. RODRIGUEZ, J. G.; JUAN, P. P.; CASTRO, M. D. L. Determination of ethanol in beverages by flow injection, pervaporation and density measurements. **Talanta**, v. 59, p. 691-696, 2003.
32. NIVEN, S. J.; BEAL, J. D.; BROOKS, P. H. The simultaneous determination of short chain fatty acid, monosaccharides and ethanol in fermented liquid pig diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 117, p. 339-345, 2004.
33. FERNANDES, H. L.; ROHWEDDER, J. J. R. Determinação de etanol e metanol em gasolina utilizando espectroscopia no infravermelho próximo. In: CONGRESSO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNICAMP, 12., 2004, Campinas. **Livro de Resumos...** Campinas: UNICAMP, 2004. E359.
34. ROTARIU, L.; BALA, C.; MAGEARU, V. New potentiometric microbial biosensor for ethanol determination in alcoholic beverages. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, p. 119-123, 2004.
35. AKYILMIZ, E.; DINÇKAYA, E. An amperometric microbial biosensor development based on *Candida tropicalis* yeast cells for sensitive determination of ethanol. **Biosensor and Bioelectronics**, v. 20, p. 1263-1269, 2005.
36. SANTOS, A. S.; PEREIRA, A. C.; DURÁN, N.; KUBOTA, L. T. Amperometric biosensor for ethanol based on co-immobilization of alcohol dehydrogenase and Meldola's Blue on multi-wall carbon nanotube. **Electrochimica Acta**, v. 52, n. 1, p. 215-220, 2006.
37. FIDELIS, C. H. V.; DONATE, P. M.; ANDRADE, A. R. Eletroxidação do etanol em eletrodos de Ti/IrO₂. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 43-46, 2001.
38. PAIXÃO, 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, p. 123-131, 2002.
39. OLIVEIRA, R. T. S.; SANTOS, M. C.; MARCUSSI, B. G.; TANIMOTO, S. T.; BULHÕES, L. O. S.; PEREIRA, E. C. Ethanol oxidation using a metallic bilayer Rh/Pt deposited over Pt as electrocatalytic. **Journal of Power Sources**, v. 157, n.1, p. 212-216, 2006.
40. HAYES, E. T.; BELLINGHAM, B. K.; MARK Jr., H. B.; GALAL, A. An amperometric aqueous ethanol sensor based on the electrocatalytic oxidation at a cobalt-nickel oxide electrode. **Electrochimica Acta**, v. 41, n. 2, p. 337-344, 1996.

41. SHIEH, D. T.; HWANG, B. J. kinetics for electro-oxidation of ethanol on thermally prepared ruthenium oxide in alkaline solution. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 142, p. 816-822, 1995.
42. BARD, A. F.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. New York: Wiley, 1980. p. 249.
43. ZHU, Y.; YANG, Q.; ZHENG, H.; GAO, L.; YANG, Z.; QIAN, Y. Zn-doped Ni nanotubes prepared by the chemical reduction method in ethanol solution. **Materials Chemistry and Physics**, v. 96, p. 506-510, 2006.
44. CORREIA, A. N. **Estudo dos estágios iniciais da eletrodeposição de níquel, cobalto e suas ligas sobre substrato de carbono vítreo**. 238f. 1998. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.
45. MABBOTT, G. A. An introduction to cyclic voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, n. 9, p. 697-701, 1983.
46. RODRIGUES, C. A. **Aplicações de processamento e análise avançada de imagens para a caracterização de imagens de microscopia de força atômica**. 139f. 2003. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
47. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 257-271.
48. DAMOS, F. S.; MENDES, R. K.; KUBOTA, L. T. Aplicações de QCM, EIS e SPR na investigação de superfícies e interfaces para o desenvolvimento de (bio)sensores. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 970-979, 2004.
49. MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Statistic for analytical chemistry**. New York: Ellis Horwood, 1993. p. 58.
50. HAHN, F.; BEDEN, B.; CROISSANT, M. J.; LAMY, C. In situ UV visible reflectance spectroscopic investigation of the nickel electrode-alkaline solution interface. **Electrochimica Acta**, v. 31, n. 3, p. 335-342, 1986.

51. MOTHEO, A. J.; MACHADO, S. A. S.; RABELO, F. J. B.; SANTOS Jr., J. R. Electrochemical study of ethanol oxidation on nickel in alkaline media. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 5, n. 3, p. 161-165, 1994.

52. ELY, T. O.; AMIENS, C.; CHAUDRET, B. Synthesis of nickel nanoparticles. Influence of aggregation induced by modification of poly(vinylpyrrolidone) chain length on their magnetic properties. **Chemical Material**, v. 11, n. 3, p. 526-529, 1999.

53. CORDENTE, N.; RESPAUD, M.; SENOCQ, F.; CASANOVE, M-J.; AMIENS, C.; CHAUDRET, B. Synthesis and magnetic properties of nickel nanorods. **Nano Letters**, v. 1, n. 10, p. 565-568, 2001.

54. DEO, R. P.; LAWRENCE, N. S.; WANG, J. Electrochemical detection of amino acids at carbon nanotube and nickel-carbon nanotube modified electrodes. **The Analyst**, v. 129, p. 1076-1081, 2004.