



Voltametria de Onda Quadrada na Análise de Compostos Fenólicos com Eléttodos Compósitos de Grafite: 4-clorofenol, fenol e 4-nitrofenol

Guilherme Gobbi Teixeira

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau em Mestre em Tecnologia Ambiental no âmbito da dupla diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Orientado por

Professor Dr. Luís Avelino Guimarães Dias
Professora Dra. Flávia Vieira da Silva Medeiros

Bragança
2018



Voltametria de Onda Quadrada na Análise de Compostos Fenólicos com Elétrodos Compósitos de Grafite: 4-clorofenol, fenol e 4-nitrofenol

Guilherme Gobbi Teixeira

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau em Mestre em Tecnologia Ambiental no âmbito da dupla diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Orientado por

Professor Dr. Luís Avelino Guimarães Dias

Professora Dra. Flávia Vieira da Silva Medeiros

Bragança

2018

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, Humberto e Dionara, por todo o apoio e força nesse que foi um dos maiores desafios de minha vida. Sem eles a realização deste trabalho seria impossível. Agradeço, também, à minha irmã Larissa pelas boas energias e por sempre estar ao meu lado. Ao meu irmão Gabriel, pelos risos e pela parceria. A todos eles, minha família, pelas conversas, preocupações, conselhos e pelo suporte que foram essenciais para que esse sonho fosse concretizado.

Gratidão ao meu orientador Luís pelos conhecimentos prestados e por toda paciência em assegurar-se do meu entendimento acerca do tema. Também à minha orientadora no Brasil e amiga do peito, Flávia, por todos os anos trabalhados juntos, pela dedicação e apoio. Aos meus professores, tanto da UTFPR quanto do IPB pelos entendimentos transmitidos.

Também agradeço aos meus amigos e companheiros de casa Camila, Matheus e Polyana que foram a minha família em Bragança e que sempre serão lembrados. Por todas as conversas tidas, conselhos dados, preocupações, passeios, enfim, todos os momentos com eles colaboraram para completar essa fase. Um obrigado especial ao Mikel por participar e ajudar-me desde o princípio, sempre com muita paciência e carinho, e à Maria Eduarda, amiga de muitos anos, que conhece essa trajetória acadêmica melhor que ninguém.

Aos meus amigos os quais a UTFPR proporcionou (Ana Flávia, Larissa e Heloise), agradeço pela amizade e companheirismo, pelos anos convividos e por todos os risos. Com certeza fizeram a diferença em cada momento e em cada passo dado. Ainda, ao Ricardo, ao Rodrigo, ao Igor e, em especial, ao meu grande amigo Guilherme que sempre me acompanhou e torceu para o sucesso desta etapa. Enfim, um grande obrigado a todos aqueles envolvidos proporcionados por essa fase.

RESUMO

Os compostos fenólicos estão entre os químicos a que os humanos mais estão expostos. Atividades domésticas, industriais, naturais e a agricultura facilitam a entrada dos compostos fenólicos no ambiente aquático. Métodos como a cromatografia gasosa com detectores de captura eletrônica, ionização de chama e espectroscopia de massa são utilizados para identificação e quantificação de alguns compostos fenólicos em amostras ambientais e biológicas. Embora essas técnicas apresentem alta precisão e exatidão, requerem aparatos onerosos, exigem técnicos especializados, consomem muito tempo de preparação da amostra, além de exigirem constante manutenção. Neste âmbito, as técnicas de voltametria cíclica e de onda quadrada são adequadas para desenvolver metodologias rápidas, por aplicação de elétrodos que permitam a quantificação destas substâncias, tendo como base reações de oxidação-redução. Por isso, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o desempenho de elétrodos compósitos de carbono (com base em resina epoxídica e grafite) construídos com ou sem aditivos (Al_2O_3 ou Ag), na análise de 4-clorofenol, fenol e 4-nitrofenol e comparar as suas capacidades analíticas com um eletrodo comercial de carbono vítreo.

Verificou-se por voltametria cíclica que todos os elétrodos compósitos e o de carbono vítreo funcionam corretamente, na análise de uma solução redox reversível, tendo-se obtido razão entre intensidades de pico catódica e anódica próximas da unidade para todos os elétrodos.

De forma geral, os elétrodos permitiram medir concentrações inferiores a 1×10^{-5} mol/L para o 4-clorofenol e 4-nitrofenol e de 2×10^{-4} mol/L para o fenol, confirmadas através de calibrações individuais, cujos modelos de calibração apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0,99 para todos os elétrodos testados. Para alguns dos elétrodos foi possível a medição de concentrações de 4-clorofenol ou 4-nitrofenol com níveis inferiores ou iguais a 5×10^{-8} mol/L.

Nos ensaios efetuados com soluções de mistura dos três compostos fenólicos, verificou-se que os elétrodos testados permitiram a análise de concentração total dos compostos fenólicos e de 2 compostos fenólicos (4-clorofenol e fenol), obtendo-se relações lineares entre as concentrações previstas para o modelo e as experimentais com declives próximos da unidade (com valores de ordenada na origem não

significativos) e coeficientes de determinação superiores a 0,991. Também se obtiveram modelos de previsão aceitáveis para a quantificação de cada composto fenólico isolado, predominando os dos compostos 4-clorofenol e 4-nitrofenol, mas não para todos elétrodos usados.

Considerando o objetivo de aplicar estes elétrodos na análise de águas naturais, verificou-se que a matriz de água de furo e rio não alterava de forma acentuada o sinal voltamétrico quando comparado com o voltamograma obtido para a solução branco, com exceção da água do mar. Os resultados obtidos mostraram que o elétrodo com melhor comportamento analítico para a análise voltamétrica das diferentes águas naturais é o elétrodo compósito C, considerando as sensibilidades em relação aos compostos fenólicos testados.

Palavras-chave: Voltametria de onda quadrada; Elétrodos de trabalho; Análise de compostos fenólicos; Águas naturais.

ABSTRACT

Phenolic compounds are among the chemicals that most humans are exposed to. Domestic, industrial, natural and agricultural activities facilitate the entry of phenolic compounds into the aquatic environment. Methods such as gas chromatography with electron capture, flame ionization and mass spectroscopy detectors are used to identify and quantify some phenolic compounds in environmental and biological samples. Although these techniques are highly accurate, they require expensive apparatus, specialized technicians, consume a lot of sample preparation time, and require constant maintenance. In this context, the techniques of cyclic voltammetry and square wave voltammetry are adequate to develop fast methodologies, by the application of electrodes that allow the quantification of these substances, based on oxidation-reduction reactions. Hence, the objective of this work was to evaluate the performance of carbon composite electrodes (based on epoxy resin and graphite) constructed with or without additives (Al_2O_3 or Ag), in the analysis of 4-chlorophenol, phenol and 4-nitrophenol and compare their analytical capabilities with a commercial carbon glass electrode.

It was verified, by cyclic voltammetry, that all the composite and vitreous carbon electrodes work correctly, in the analysis of a reversible redox solution, obtaining a ratio between cathodic and anode peak intensities close to the unit for all the electrodes.

In general, the electrodes were able to measure concentrations lower than 1×10^{-5} mol/L for 4-chlorophenol and 4-nitrophenol and 2×10^{-4} mol/L for phenol, confirmed by individual calibrations, whose calibration models presented correlation coefficients higher than 0.99 for all electrodes tested. For some of the electrodes it was possible to measure 4-chlorophenol or 4-nitrophenol with concentrations levels lower than or equal to 5×10^{-8} mol/L.

In the tests carried out with solutions of three phenolic compounds mixed, it was verified that the tested electrodes allowed the analysis of total concentration of the phenolic compounds and of 2 phenolic compounds (4-chlorophenol and phenol), obtaining linear relations between the predicted concentrations for the model and the experimental ones with slopes close to the unit (with non-significant intercepts values) and determination coefficients higher than 0.991. Also, acceptable prediction models were obtained for the quantification of each phenolic compound isolated,

predominating those of the 4-chlorophenol or 4-nitrophenol compounds, but not for all electrodes used.

Considering the objective of applying these electrodes in the analysis of natural waters, it was verified that the matrix of potable water and river water did not change markedly the voltammetric signal compared to the voltammogram obtained for the blanc solution, except for sea water. The results showed that the electrode with the best analytical behavior for the voltammetric analysis of the different natural waters is the carbon composite electrode, considering the sensitivities in relation to the phenolic compounds tested.

Key-words: Square-wave voltammetry; Working electrodes; Analysis of phenolic compounds; Natural waters.

ÍNDICE

RESUMO.....	I
ÍNDICE DE TABELAS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	X
PREÂMBULO	XI
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
1.1 COMPOSTOS FENÓLICOS EM ÁGUAS	1
1.1.1 Fenóis	1
1.1.2 Monitorização <i>in situ</i>	3
1.1.3 Métodos de análise.....	4
1.2 VOLTAMETRIA.....	6
1.2.1 Voltametria cíclica.....	7
1.2.2 Voltametria de onda quadrada.....	9
1.3 ELÉTRODOS	11
1.3.1 Platina.....	12
1.3.2 Carbono	12
1.3.2.1 Grafite.....	13
1.3.2.2 Carbono vítreo.....	15
1.3.2.3 Pasta de carbono	15
1.3.2.4 Compósitos com grafite.....	16
1.4 ESTATÍSTICAS.....	17
1.4.1 Método dos mínimos quadrados parciais	17
1.4.2 Pré-tratamentos dos voltamogramas	17
1.4.3 Validação do método	19
2 MATERIAL E MÉTODOS	21
2.1 ELÉTRODOS COMPÓSITOS	21
2.2 EQUIPAMENTOS PARA ANÁLISE VOLTAMÉTRICA	21
2.3 ANÁLISE VOLTAMÉTRICA	22
2.3.1 Voltametria cíclica numa solução redox reversível	22
2.3.2 Voltametria de onda quadrada de compostos fenólicos	22

2.3.3 Voltametria de onda quadrada em soluções mistura de compostos fenólicos	23
2.3.4 Análise Voltamétrica em Águas Naturais	25
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.1 ELÉTRODOS COMPÓSITOS	26
3.2 ANÁLISE VOLTAMÉTRICA	26
3.2.1 Voltametria cíclica numa solução redox reversível	26
3.2.2 Voltametria de onda quadrada na solução branco	28
3.2.3 Voltametria de onda quadrada de compostos fenólicos	30
3.2.4 Voltametria de onda quadrada em soluções mistura de compostos fenólicos	38
3.2.5 Análise voltamétrica em águas naturais	45
4 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS.....	53

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos fenólicos classificados como poluentes de interesse prioritário pela USEPA.	1
Tabela 2 - Concentrações típicas de fenóis encontradas em águas contaminadas. ...	3
Tabela 3 - Características levadas em consideração na classificação de uma solução redox como sendo reversível.	9
Tabela 4 - Intervalos de desempenho e limites de detecção de fenóis para alguns elétrodos.....	16
Tabela 5 - Composição dos elétrodos construídos.	21
Tabela 6 - Condições definidas no <i>software</i> para o potenciostato na análise do desempenho dos elétrodos por voltametria cíclica.....	22
Tabela 7 - Níveis do desenho experimental ortogonal utilizado na mistura dos três compostos fenólicos.....	24
Tabela 8 - Condições definidas no <i>software</i> para o potenciostato para SWV.	24
Tabela 9 – Valores obtidos dos parâmetros para avaliação de uma reação reversível por voltametria cíclica para os elétrodos.	27
Tabela 10 - Calibração com medição de intensidade do pico e regressão linear simples sem subtração do branco.	31
Tabela 11 - Calibração com medição de intensidade do pico e regressão linear simples com subtração do branco.	31
Tabela 12 - Tratamentos estatísticos realizados para os 5 grupos de quantificação com o Elétrodo C.....	40
Tabela 13 - Tratamentos estatísticos realizados para os 5 grupos de quantificação com o Elétrodo C+Ag.	40
Tabela 14 - Tratamentos estatísticos realizados para os 5 grupos de quantificação com o Elétrodo C+Al ₂ O ₃	41
Tabela 15 - Tratamentos estatísticos realizados para os 5 grupos de quantificação com o Elétrodo CVIT.	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química do fenol.	1
Figura 2 – Reações de formação de clorofenóis a partir do fenol na água clorada....	3
Figura 3 - Esquema de uma célula eletroquímica com 3 elétrodos.	7
Figura 4 - Esquema dos parâmetros definidos para análise de voltametria cíclica (A) e Voltamograma cíclico típico (B).....	8
Figura 5 - Esquema dos parâmetros definidos para análise voltamétrica de onda quadrada.	10
Figura 6 - Voltamograma de onda quadrada típico.	10
Figura 7 – Estrutura do grafite.	13
Figura 8 - Voltamogramas obtidos com elétrodo compósito de grafite construído e usado neste trabalho: A) Originais; B) pré-tratamento SNV; C) pré-tratamento 1DER+SNV, D) pré-tratamento 2DER+SNV.	19
Figura 9 - Elétrodos de trabalho usados neste trabalho.	26
Figura 10 - Voltamogramas cíclicos (3º ciclo) obtidos para os elétrodos em estudo com o par redox ferrocianeto/ferricianeto.	27
Figura 11 - Voltamogramas de onda quadrada em duplicata para a solução branco (solução tampão de acetato) para cada um dos elétrodos testados.	29
Figura 12 - Curvas de calibração resultantes das intensidades de pico obtidas com o elétrodo C+Al ₂ O ₃ para o 4-CF com e sem subtração do branco.	32
Figura 13 - Voltamogramas de Onda Quadrada dos intervalos dinâmicos do elétrodo C para o 4-CF, F e 4-NF, com e sem subtração do branco. Linhas com código c-n; c = concentração; n = log [composto].	33
Figura 14 - Voltamogramas de onda quadrada dos intervalos dinâmicos do elétrodo C+Ag para o 4-CF, F e 4-NF, com e sem subtração do branco. Linhas com código c-n; c = concentração; n = log [composto].	34
Figura 15 - Voltamogramas de onda quadrada dos intervalos dinâmicos do elétrodo C+Al ₂ O ₃ para o 4-CF, F e 4-NF, com e sem subtração do branco. Linhas com código c-n; c = concentração; n = log [composto].	35
Figura 16 - Voltamogramas de onda quadrada dos intervalos dinâmicos do elétrodo CVIT para o 4-CF, F e 4-NF, com e sem subtração do branco. Linhas com código c-n; c = concentração; n = log [composto].	36

Figura 17 – Avaliação e validação da previsão do modelo PLS (6 PCs) na análise da concentração total dos compostos fenólicos usando voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV obtidos pelo eletrodo C.	44
Figura 18 - Voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV do eletrodo C para: 1) água da torneira (furo – ESA); 2) água do rio Ferverça; 3) água do mar. B: branco; A: somente amostra; A+P: amostra com a solução de adição de padrão de 1×10^{-2} mol/L.	46
Figura 19 - Voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV do eletrodo C+Ag para: 1) água da torneira (furo – ESA); 2) água do rio Ferverça; 3) água do mar. B: branco; A: somente amostra; A+P: amostra com a solução de adição de padrão de 1×10^{-2} mol/L.	47
Figura 20 - Voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV do eletrodo C+Al ₂ O ₃ para: 1) água da torneira (furo – ESA); 2) água do rio Ferverça; 3) água do mar. B: branco; A: somente amostra; A+P: amostra com a solução de adição de padrão de 1×10^{-2} mol/L.....	48
Figura 21 - Voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV do eletrodo CVIT para: 1) água da torneira (furo – ESA); 2) água do rio Ferverça; 3) água do mar. B: branco; A: somente amostra; A+P: amostra com a solução de adição de padrão de 1×10^{-2} mol/L.	49

LISTA DE ABREVIATURAS

1DER	Primeira derivada;
1DER+SNV	Tratamento matemático com 1DER e SNV;
2DER	Segunda derivada;
2DER+SNV	Tratamento matemático com 2DER e SNV;
4-CF	4-clorofenol;
4-NF	4-nitrofenol;
C	Elétrodo de carbono (grafite);
C+Ag	Elétrodo compósito de grafite e 7,3% de prata (Ag);
C+Al ₂ O ₃	Elétrodo compósito de grafite e 2,6% de óxido de metal (Al ₂ O ₃);
CV	Voltametria cíclica (do inglês “Cyclic voltammetry”);
CVIT	Elétrodo de carbono vítreo comercial;
E _{ap}	Potencial de pico anódico;
E _{cp}	Potencial de pico catódico;
F	Fenol;
I _{cp}	Corrente de pico catódico;
I _{fwd}	Pulso para a frente;
I _{rev}	Pulso reverso;
PLS	Mínimos quadrados parciais (do inglês “Partial least square”);
SNV	Varição de padrão normal (do inglês “Standard normal variate”);
SWV	Voltametria de onda quadrada (do inglês “Square wave voltammetry”);
UE	União Europeia;
USEPA	Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (do inglês “United States environmental protection agency”).

PREÂMBULO

a) Enquadramento do trabalho

Os compostos fenólicos estão entre os químicos a que os humanos mais estão expostos. Alguns compostos fenólicos são abundantes na natureza e estão associados com a cor de flores e frutos. Outros são sintetizados e são usados em uma variedade de aspectos da vida do homem, existindo no ambiente por longos períodos, podendo acumular-se e trazerem efeitos tóxicos (Campanella et al., 1993; Bruce et al., 1987). Atividades domésticas, industriais, naturais e a agricultura facilitam a entrada dos compostos fenólicos no ambiente aquático. Assim, a degradação orgânica que ocorre no corpo hídrico faz com que sejam liberados esses compostos (Wallace, 1996). Estes, quando em contato com a água, têm a tendência de transformarem-se em compostos ainda mais prejudiciais, devido a fatores físicos, químicos e biológicos da água (Kulkarni & Kaware, 2013). Os clorofenóis são exemplos dessas reações que são resultado da reatividade de compostos fenólicos com microrganismos ou compostos inorgânicos na água (Anku et al., 2017).

Métodos como a cromatografia gasosa com detectores de captura eletrônica, ionização de chama e espectrômetro de massa são utilizados para determinação e quantificação de alguns compostos fenólicos em amostras ambientais e biológicas (Igbiosa et al., 2013). Embora essas técnicas apresentem alta precisão e exatidão, requerem aparatos onerosos, têm difícil manuseio, consomem muito tempo, além de exigirem constante manutenção.

A partir disso, necessita-se de instrumentos alternativos para leitura desses compostos *in situ* e com custo acessível, no intuito de que as tomadas de decisão em uma indústria sejam rápidas. A eletroquímica fornece técnicas analíticas caracterizadas pela simplicidade instrumental, custo moderado e portabilidade (Gupta, et al., 2011). Neste âmbito, as técnicas de voltametria cíclica e de onda quadrada são adequadas para desenvolver metodologias rápidas, por aplicação de elétrodos que permitam a quantificação destas substâncias, tendo como base reações de oxidação-redução.

Os elétrodos de trabalho mais utilizados em análises voltamétricas são os de platina e carbono. Este último apresenta inúmeros padrões de superfície com composições distintas devido à técnica de preparação, com particularidades analíticas diferentes que maximizam sua resposta analítica (Scholz, 2010). Esses

melhoramentos se dão objetivando a imobilização e acumulação do analito na superfície do eletrodo, a exploração das reações eletroquímicas catalíticas, a imobilização dos reagentes gerando produtos eletroquimicamente ativos, a proteção e estabilização da superfície do eletrodo, o melhoramento das propriedades físicas ou físico-químicas da pasta de carbono, dentre outros (Svancara et al., 2012). Devido à versatilidade destes eletrodos pretende-se estudar o desempenho analítico de eletrodos compósitos de grafite construídos no laboratório comparativamente com um eletrodo comercial de carbono vítreo.

b) Objetivos

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o desempenho dos eletrodos compósitos de carbono, construídos com ou sem aditivos (Al_2O_3 ou Ag), resina epoxídica e grafite, na análise de fenóis (4-clorofenol, fenol e 4-nitrofenol), bem como comparar as suas capacidades analíticas com um eletrodo comercial de carbono vítreo.

Com a finalidade de atingir estes objetivos, o estudo envolveu os seguintes objetivos específicos:

- Construção de eletrodos de trabalho voltamétricos compósitos de grafite preparados por mistura de prata (Ag) ou óxido de metal (Al_2O_3) com resina epoxídica e grafite;
- Estudo do desempenho dos eletrodos construídos e do eletrodo comercial de carbono vítreo por meio de uma solução redox padrão;
- Verificação do desempenho dos eletrodos em estudo na análise quantitativa de fenóis individuais por voltametria;
- Estudo da capacidade analítica dos eletrodos em estudo para a análise de multi-parâmetros (em simultâneo);
- Avaliar a possibilidade da sua aplicação em análise de águas naturais.

c) Estrutura do trabalho

Este trabalho está estruturado em quatro partes principais, sendo elas: revisão bibliográfica, material e métodos, resultados e discussão e conclusão.

Na revisão bibliográfica, encontram-se conceitos e definições acerca da temática, a começar pelos fenóis, relatando os principais compostos fenólicos listados como de interesse prioritário, bem como os possíveis impactos ambientais de alguns

deles na saúde humana e no ambiente. Seus métodos de análise mais utilizados também são citados, relacionando-os com a monitorização *in situ*. Esclarecimentos acerca das técnicas voltamétricas cíclica e de onda quadrada são feitas na sequência e os tipos de elétrodos mais usuais e os mais recentes são abordados. Ao fim do referido capítulo, faz-se um breve relato acerca das estatísticas que foram utilizadas neste trabalho.

Na seção de materiais e métodos estão descritas as etapas realizadas que objetivaram o cumprimento dos objetivos acima descritos. No referido capítulo encontram-se informações acerca da composição dos elétrodos, equipamentos utilizados, procedimentos voltamétricos e de produtos químicos e reagentes usados em cada etapa.

No capítulo dos resultados e discussão, encontram-se os dados brutos e os resultados obtidos após seus tratamentos, bem como a sua discussão. Na seção da conclusão compilam-se os principais resultados que se obtiveram neste estudo. Por fim, apresentam-se as referências por meio das quais este trabalho foi embasado.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 COMPOSTOS FENÓLICOS EM ÁGUAS

Os compostos fenólicos foram alistados pela Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (USEPA, do inglês “United States environmental protection agency”) e a União Europeia (UE) como poluentes de interesse prioritário. Este alistamento é devido ao fato de que esses produtos químicos são considerados tóxicos e têm graves efeitos a curto e longo prazo sobre seres humanos e animais (USEPA, 2009). Na Tabela 1 mostram-se os compostos fenólicos mais relevantes ao nível do controle ambiental. Como se pode verificar, o fenol e derivados clorofenóis e nitrofenóis encontram-se nesta lista, justificando a pertinência do trabalho, o desenvolvimento de técnicas analíticas eletroquímicas expeditas e econômicas para análise ambiental destes compostos.

Tabela 1 - Compostos fenólicos classificados como poluentes de interesse prioritário pela USEPA.

Compostos	
2-clorofenol	4-nitrofenol
2,4-diclorofenol	2,4-dinitrofenol
2,4-dimetilfenol	2,4-dimetilfenol
2,4,6-triclorofenol	4,6-dinitro- <i>o</i> -cresol
2-nitrofenol	Fenol
Pentaclorofenol	<i>p</i> -cloro- <i>m</i> -cresol

Fonte: USEPA (2014).

1.1.1 Fenóis

O fenol é um derivado mono-hidroxilado do benzeno, que é incolor, higroscópico, deliquescente e sólido cristalino a 25°C. Apresenta solubilidade em água de 6,7 g/100 mL a 16°C. Sua fórmula molecular é C₆H₅OH e sua estrutura química está representada na Figura 1 (USEPA, 1986).

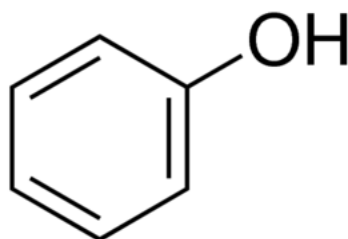


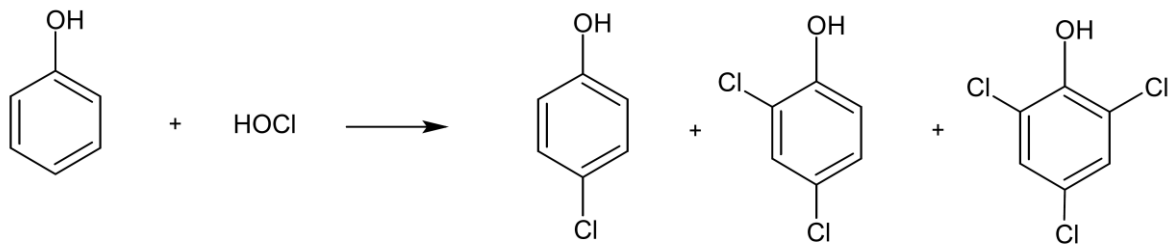
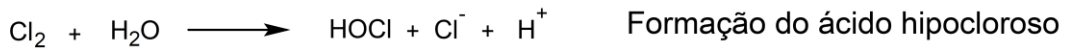
Figura 1 - Estrutura química do fenol.

Também conhecido como monohidroxibenzeno, é a espécie mais simples do grupo de compostos conhecidos como fenóis, ou compostos fenólicos. Os compostos deste grupo contêm um ou mais grupos hidroxilo ligados a um anel aromático. Ao contrário do fenol, o resto dos compostos fenólicos não apresentam solubilidade em água, embora possam reagir com bases fortes e criar sais de metais alcalino-terrosos, que são solúveis em água. Isso é devido a que, ainda que tenham um grupo hidróxido, eles têm uma natureza diferente dos álcoois porque comportam-se como ácidos fracos e são solúveis em soluções aquosas de hidróxido de sódio (USEPA, 1986).

Os clorofenóis são uma classe de produtos químicos orgânicos sintéticos utilizados como pesticidas e intermediários químicos. O transporte de clorofenóis ocorre tanto através do ar quanto da água. Na fabricação e uso de certos clorofenóis, pode ocorrer uma reação que leva à formação de uma classe de dibenzo-dioxinas cloradas que estão entre as substâncias mais tóxicas conhecidas. Algumas das preocupações atuais dos efeitos ambientais dos clorofenóis centram-se na ocorrência dessas contaminantes dioxinas. Os clorofenóis têm acesso ao meio ambiente quando são usados diretamente como pesticidas agrícolas, como resultado de derrames acidentais ou a má administração de efluentes industriais. Podem ser formados no ambiente aquático quando as águas contendo fenol são cloradas (USEPA, 1975).

Quando ocorre a cloração da água, seu potencial tóxico aumenta, pois os níveis permitidos de clorofenóis são menores que os do fenol, uma vez que degradam mais devagar do que este. Os clorofenóis dão odor e sabor às águas e são frequentemente detectados nas águas residuais tratadas. Quando o cloro molecular (Cl_2) é adicionado a água, forma-se o ácido hipocloroso (HOCl), o qual reage com o fenol e assim, formam-se clorofenóis (Baird, 2001). Na Figura 2 apresentam-se essas reações químicas representativas da formação dos compostos clorofenóis a partir do fenol na água.

Os compostos fenólicos nitrados têm sido aplicados nas indústrias química e farmacêutica na produção de corantes, pesticidas, materiais explosivos, etc (Mulchandani et al., 2005). É considerado um contaminante orgânico e pode facilmente irritar olhos, pele e o aparelho respiratório em humanos até mesmo em baixas concentrações, justificando a necessidade de sua quantificação no ambiente (Yin et al., 2010; Castillo et al., 1997).



Formação dos mono, di e tri-clorofenóis

Figura 2 – Reações de formação de clorofenóis a partir do fenol na água clorada.

Em geral, a presença de compostos fenólicos na água pode ser atribuída a atividades naturais e antropogênicas. As fontes naturais de compostos fenólicos na água são dadas pela decomposição de plantas e animais (matéria orgânica) e a síntese destes compostos por microrganismos e plantas de ambientes aquáticos. As fontes antropogênicas de poluição por compostos fenólicos são constituídas por atividades industriais, domésticas e agrícolas (Anku et al., 2017). Atividades industriais como destilação de madeira, uso de cloro para desinfecção de água, processos de cozimento e produção de papel resultam na formação de clorofenóis. As descargas dessas atividades industriais resultam na contaminação de corpos d'água com compostos fenólicos (Paasivirta et al., 1985), justificando a importância de sua monitorização. Na Tabela 2 estão representadas algumas concentrações típicas de fenóis encontradas em águas contaminadas com esses compostos.

Tabela 2 - Concentrações típicas de fenóis encontradas em águas contaminadas.

Compostos	Origem	Concentração (mg/L)	Referência
Fenol	Água residual industrial	0,779 – 39,009	Limam et al., 2010
2-clorofenol	Água residual industrial	0,044 – 2,998	Limam et al., 2010
2,4-diclorofenol	Água de rio	$9,9 \times 10^{-6}$ – $12,3 \times 10^{-6}$	Kawaguchi et al., 2005
4-nitrofenol	Água residual	0,00265	Zhang et al., 2015

1.1.2 Monitorização *in situ*

Para Haimi et al. (2009), há duas motivações à adoção da monitorização *in situ* em ETARs (Estações de tratamento de águas residuais), que são: permitem atingir

com mais facilidade os padrões cada vez mais exigentes do efluente final, uma vez que a concentração desses efluentes pode ser mantida mais estável durante as etapas de tratamento, diminuindo também falhas que perturbam o tratamento; e a redução de custos, já que estudos demonstraram que uma boa gestão e inserção de técnicas de monitorização aumentaram a capacidade de tratamento do sistema e reduziram custos de investimentos futuros (20-50%) e de operações.

Outro benefício que pode ser associado à monitorização analítica *in situ* é a facilidade da gestão do sistema, além de diminuir o consumo de energia e mão-de-obra (Ruano et al., 2009). Estudos realizados por Ingildsen & Olson (2002), também voltados para a análise de nutrientes em ETAR de grande escala, indicaram que o benefício de implementação de sensores para o controle de processos permite uma economia de 41% em relação a um fluxo de dosagem de precipitação proporcional e de 73% para uma dosagem de precipitação constante.

Na UE, a Diretiva 2455/2001/EC exige que, em águas de abastecimento, a concentração máxima de compostos fenólicos totais não ultrapasse os 0,5 µg/L e a concentração máxima de compostos fenólicos individuais seja inferior a 0,1 µg/L. Com a monitorização instantânea, seria possível acompanhar as águas para abastecimento com concentrações inferiores as exigidas e, quando excedidas, decisões rápidas pudessem ser tomadas, de maneira a evitar que os compostos coloquem em risco a população e/ou o ambiente.

1.1.3 Métodos de análise

As técnicas analíticas mais comuns utilizadas na determinação de compostos fenólicos são: cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) em combinação com detecção ultravioleta (Bagheri et al., 2004; Neng & Nogueira, 2014; Suliman et al., 2006), eletroquímica (Jauregui & Galceran, 1997) ou Fluorescência (Suliman et al., 2006). Ainda, a cromatografia gasosa (GC) com detector de ionização de chama (Bagheri & Mohammadi, 2003) e espectrometria de massa (Bagheri & Mohammadi, 2003) são técnicas comuns para a análise de fenóis. Os métodos eletroquímicos permitem a análise dos níveis totais de concentração dos compostos fenólicos em águas e, por isso, uma ferramenta analítica importante para uma monitorização rotineira, ao contrário das metodologias acima citadas. De realçar que esta metodologia permite uma análise com um tratamento de amostra menos exigente que

as metodologias cromatográficas. Nestas, a extração é necessária, um passo de pré-concentração dos fenóis é indispensável para alcançar os níveis de sensibilidade necessários. Os métodos de extração mais usados são a extração por fase sólida, extração por fase sólida em disco ou microextração adsortiva com barra (Bagheri et al., 2004; Neng & Nogueira, 2014; Jauregui & Galceran, 1997; Suliman et al., 2006; Bagheri & Mohammadi, 2003).

No entanto, há vários estudos de análise de compostos fenólicos com métodos voltamétricos, por exemplo:

- Construção de um sensor eletroquímico para clorofenóis, usando nanocompósito de brometo de cetiltrimetilamônio e pontos quânticos ZnSe aplicando voltametria de pulso diferencial para determinar 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol e penoclorofenol (limites de detecção de 0,008 μM , 0,002 μM e 0,01 μM , respectivamente). O método foi aplicado com sucesso para a determinação de clorofenóis em águas residuais com recuperações satisfatórias (Li et al., 2013).
- Um elétrodo de pasta de carbono modificado com grafeno foi preparado e caracterizado por microscopia de força atômica, transformada de Fourier infravermelho e espectroscopia de impedância eletroquímica. Por meio de CV e de voltametria de pulso diferencial os comportamentos eletroquímicos de 2-clorofenol e 3-clorofenol em diferentes elétrodos foram investigados. Sob as condições otimizadas, as correntes de pico de oxidação exibiram uma boa relação linear com a concentração nos intervalos de 0,5 para 40 M para 2-clorofenol e 0,4 a 77 M para 3-clorofenol, com limites de detecção de 0,2 e 0,09 M, respectivamente. O sensor proposto foi aplicado para determinar quantitativamente 2-clorofenol e 3 clorofenol em amostras de água com resultados satisfatórios (Wei et al., 2014).
- A oxidação do fenol em soluções aquosas foi realizada com variação de pH de 7 a 12, usando CV e voltametria de pulso diferencial, por meio de elétrodos de carbono vítreo. Uma relação linear foi observada entre o pico de corrente e a concentração do composto, principalmente em concentrações de fenol acima de 5 μM (Mathiyarasu et al., 2004).
- Duan et al. (2013) estudaram o comportamento eletroquímico do 4-clorofenol usando um elétrodo de carbono vítreo, por meio de CV, com variação de pH

- (ácido, neutro e alcalino) e temperatura (25-85°C). Os resultados indicaram que o referido composto foi oxidado mais facilmente em pH alcalino e os picos de oxidação deslocaram-se para valores de potencial mais baixo, conforme aumentava-se a temperatura e a concentração do composto (1, 5, 10, 50 e 100 mmol/L).
- Um eletrodo de pasta de carbono modificado com polivinilpirrolidona (PVP) foi empregado como sensor eletroquímico para a determinação de compostos fenólicos totais em vegetais por SWV. A precisão dos resultados fornecidos pelo sensor foi avaliada em comparação com os valores obtidos aplicando a metodologia Folin-Ciocalteu. A curva de calibração obtida usando o kaempferol como modelo para compostos fenólicos totais mostrou dois intervalos lineares de 0,05 a 0,50 mol/L ($R^2 = 0,980$) e de 0,50 a 6,0 mol/L ($R^2 = 0,998$) (Piovesan et al., 2015).

1.2 VOLTAMETRIA

De acordo com Aleixo (2003), a voltametria é um método eletroanalítico, interfacial, dinâmico e de potencial controlado, através do qual as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas por meio do registro de curvas corrente-potencial. Essas curvas são feitas durante a eletrólise em uma célula eletroquímica constituída de pelo menos dois eletrodos (de trabalho e de referência) e, eventualmente, eletrodo auxiliar. Os fenômenos oxidação-redução ocorrem na interface entre a solução a analisar e a superfície do eletrodo de trabalho. O eletrodo de referência contribui com um potencial constante, enquanto que no eletrodo auxiliar ocorrem reações contrárias às que acontecem no eletrodo de trabalho, permitindo o equilíbrio do sistema (Wang, 2006; Otles, 2016).

Para tal, o potencial é aplicado entre os eletrodos em forma de varrimento, que consiste na variação do potencial a uma velocidade constante no tempo. Simultaneamente, registram-se o potencial e a corrente resultante num gráfico chamado de voltamograma (Aleixo, 2003).

Esse sistema eletroanalítico usualmente é composto por três elementos: o potenciostato (para o varrimento do potencial no intervalo pré-definido e medir a intensidade de corrente); computador (armazenagem e processamento dos dados

obtidos pelo potenciostato); e a célula eletroquímica (para medições analíticas) (Figura 3).

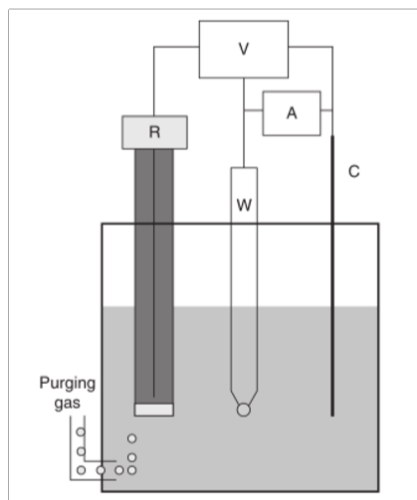


Figura 3 - Esquema de uma célula eletroquímica com 3 eletrodos. R: eletrodo de referência, W: eletrodo de trabalho, C: contra-eletrodo, V: controle de potencial através do potenciostato, A: fluxo de corrente. **Fonte:** Otles, 2016.

1.2.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica (CV, do inglês “Cyclic voltammetry”) é a técnica voltamétrica mais utilizada, devido ao fato de adquirir informações sobre as reações eletroquímicas (Wang, 2006). Segundo Wang (2006) e Compton et al. (2014), consiste no varrimento linear do potencial de um eletrodo estacionário, partindo de um potencial inicial para outro, no qual os eletrões transferem-se de um composto para outro. Após isso, o potencial é invertido, causando transferência de eletrões no sentido oposto. Durante o varrimento, o potenciostato mede a corrente resultante do potencial aplicado, podendo ser relacionada com o potencial, formando um voltamograma cíclico (Figura 4).

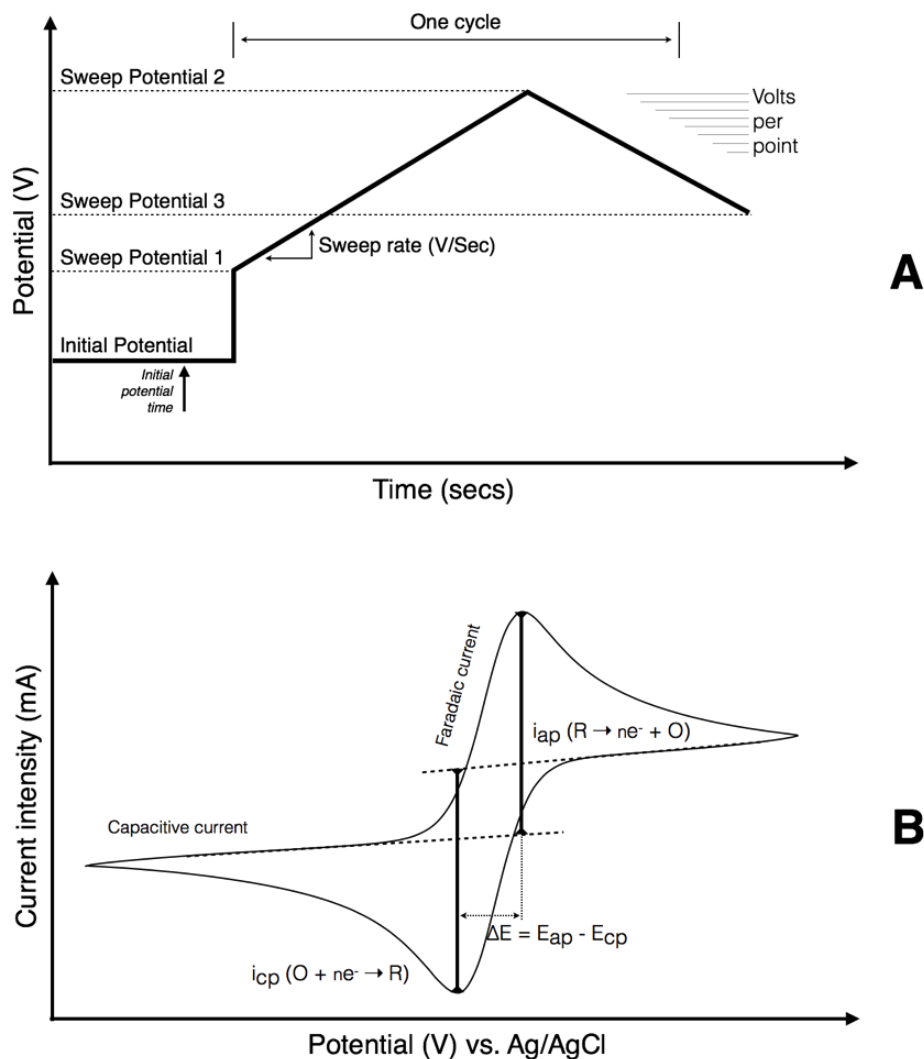
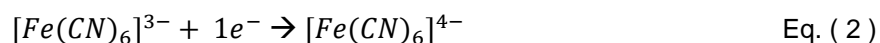
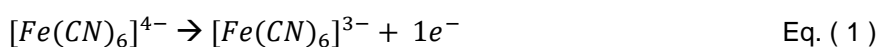


Figura 4 - Esquema dos parâmetros definidos para análise de voltmetria cíclica (A) e Voltamograma cíclico típico (B). E_{cp} : potencial de pico catódico; E_{ap} : potencial de pico anódico; i_{cp} : corrente de pico catódico; i_{ap} : corrente de pico anódico. **Fonte:** Peres et al. (2016).

Compton et al. (2014) afirmam que essa técnica é útil no sentido de perceber as características dos processos de redução e oxidação por meio da análise da posição e forma dos picos, que dão informações relativamente à natureza do processo eletroquímico ocorrido e sobre as próprias espécies químicas.

A cinética (k_s) é que define se um par conjugado redutor/oxidante é reversível do ponto de vista eletroquímico, pois se a transferência de elétrons ocorrer rapidamente ($k_s > 0,020 \text{ cm.s}^{-1}$) considera-se que o referido par redox possui reversibilidade. Em contrapartida, considera-se quase reversível se a cinética for intermédia ($0,020 > k_s > 0,00005 \text{ cm.s}^{-1}$) e, irreversível, se forem lentas ($k_s < 0,00005 \text{ cm.s}^{-1}$) (Brett, 1993).

Para avaliar o desempenho eletroquímico de elétrodos de trabalho, usa-se o par redox ferrocianeto/ferricianeto, pois sabe-se que é eletroquimicamente reversível com a aplicação da CV. A partir da aplicação de um potencial positivo nessa solução, origina-se uma corrente anódica da oxidação de ferrocianeto $[Fe(CN)_6]^{4-}$ (Eq. 1), sendo o elétrodo o agente oxidante, o que resulta num pico crescente. Contrariamente, a partir da aplicação de um potencial negativo, a corrente anódica é mantida até que o elétrodo passe a ser um redutor e consuma o ferricianeto $[Fe(CN)_6]^{3-}$ (Eq. 2), a resultar num pico decrescente.



Na Tabela 3 verifica-se as características de soluções redox com reversibilidade eletroquímica medidas por CV.

Tabela 3 - Características levadas em consideração na classificação de uma solução redox como sendo reversível.

Característica	Modo de Cálculo
Potencial redox (E^0) centrado entre o potencial de pico catódico (E_{pc}) e o anódico (E_{pa}).	$E^0 = (E_{pc} + E_{pa})/2$
Número dos eletrões (n) pode ser determinada pela diferença entre os potenciais de pico. Para processos mono-eletrônicos, essa diferença deve ser de, aproximadamente, 0,059 V.	$E = E_{pa} - E_{pc} \cong 0,059/n$
Razão entre intensidade de corrente de pico catódica (I_{pc}) e a do pico anódica (I_{pa}) é um.	$I_{pc}/I_{pa} = 1$
A intensidade de corrente de pico catódico (i_{pc}) em sistemas reversíveis é dada a partir da equação de Randles-Sevcik, onde: n= número de eletrões envolvidos, A= área do elétrodo (m^2); D= coeficiente de difusão (m^2/s); C= concentração (mol/L); v=velocidade de varrimento (V/s)	$i_{pc} = 2,69 \times 10^8 n^{3/2} AD^{1/2} V^{1/2} C$

Fonte: Silva (1998); Brett (1993).

1.2.2 Voltametria de onda quadrada

Voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês “Square wave voltammetry”) é uma técnica diferencial de larga amplitude, na qual a configuração da curva de corrente-potencial resulta da aplicação de potenciais de altura ΔE_s (amplitude do pulso potencial), variando conforme degraus de uma escada de potencial, cuja largura

é a amplitude do pulso de potencial e a constância é representada pelo período (τ). A frequência (f) de aplicação dos pulsos é dada por $1/t$, onde t é a metade do período. As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos, obtendo-se como resultado uma intensidade da corrente resultante na forma de pico (Souza et al., 2003; Wang, 2006).

As Figuras 5 e 6 exibem as formas representativas da análise voltamétrica de onda quadrada ao nível da programação da aplicação do varrimento de potencial no tempo e das medições de intensidade e corrente resultantes desta medição, respectivamente.

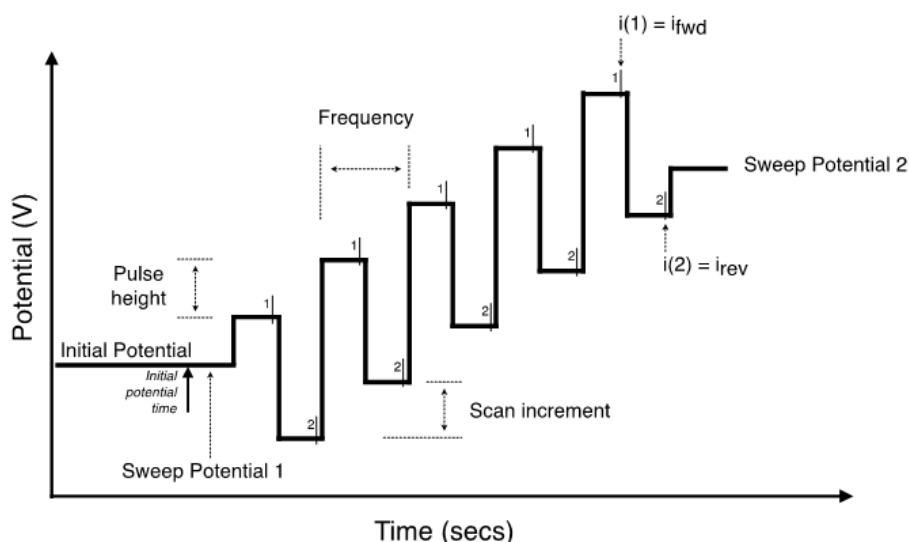


Figura 5 - Esquema dos parâmetros definidos para análise voltamétrica de onda quadrada. **Fonte:** Peres et al., 2016.

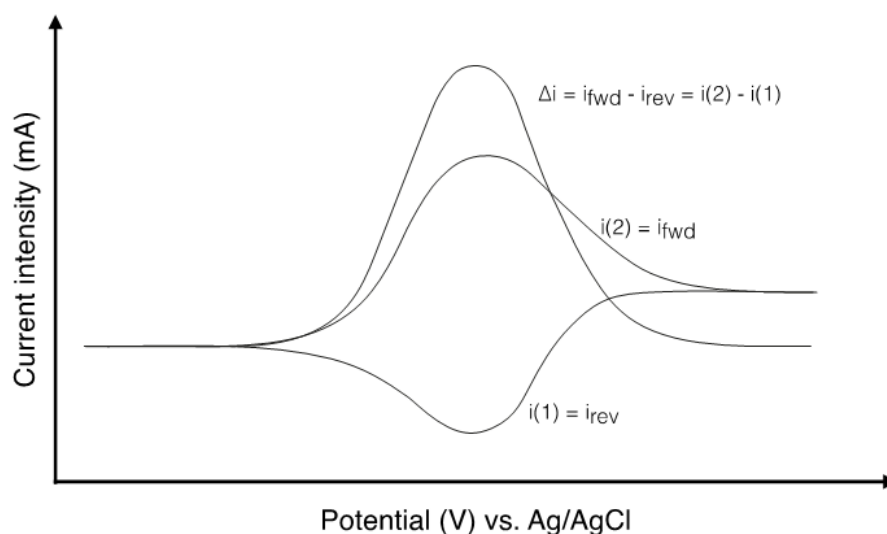


Figura 6 - Voltamograma de onda quadrada típico. i_{fwd} : pulso para a frente; i_{rev} : pulso reverso; $\Delta i = i_{fwd} - i_{rev}$: onda de resposta. **Fonte:** Peres et al., 2016.

A técnica de SWV apresenta vantagem em relação à rapidez. Um voltamograma completo pode ser registrado em poucos segundos, comparado aos 2-3 minutos necessários na voltametria de pulso diferencial (Thomas & Henze, 2001; Wang, 2006).

1.3 ELÉTODOS

A análise voltamétrica ocorre na superfície do eletrodo de trabalho e inclui todos os fenômenos os quais levam um fluxo de corrente através do eletrodo, como resultado da aplicação de um determinado potencial no mesmo. O curso de um processo de eletrodo é grandemente influenciado pela natureza do limite de fase do eletrodo de trabalho e sua camada dupla elétrica associada (Thomas & Henze, 2001).

Ainda de acordo com Thomas & Henze (2001), muitas técnicas voltamétricas e polarográficas utilizam esse processo, no qual eletrões ou iões são permutados entre as duas fases. Como resultado, o analito será oxidado ou reduzido, o que depende do potencial aplicado no eletrodo de trabalho. Com isso, a concentração do analito na superfície do eletrodo cai até atingir um valor de equilíbrio determinado pelo potencial do eletrodo de trabalho e pelo potencial padrão de eletrodo, E^0 , da transferência de carga. O pico máximo de corrente é proporcional à concentração do analito e é usado para quantificar a porção de analito presente na célula. Já o pico de potencial expressa informações qualitativas sobre o analito.

Os eletrodos de trabalho mais utilizados nessas análises são os de platina e carbono, podendo este último apresentar vários tipos de superfícies devido à técnica de preparação, com particularidades analíticas diferentes (Scholz, 2010). Há vários estudos de análise de compostos fenólicos com diferentes eletrodos de trabalho, por exemplo:

- emprego de eletrodo de carbono vítreo para caracterizar fenóis em amostras de chá e café diluídos (Karaosmanoglu et al., 2016).
- Nady et al. (2017) estudaram a oxidação eletroquímica do fenol em solução de ácido sulfúrico por CV utilizando eletrodo de platina como sensor, que resultou num decréscimo gradual no pico de oxidação devido a adsorção de substâncias na superfície do eletrodo.

- elétrodo de pasta de carbono foi utilizado também na oxidação do fenol, sendo o óxido de níquel um catalizador na oxidação do fenol com um dos tipos deste elétrodo (Hammani et al., 2017).
- aplicação de elétrodo de carbono vítreo na análise do fenol por CV e por voltametria de pulso diferencial na sua quantificação (Mathiyarasu et al., 2004).
- um elétrodo de carbono *screen-printed* modificado com nanotubos de carbono de parede única e poli(3,4-etilenodioxitiofeno) foi usado para a determinação de fenol e clorofenóis, usando CV (Negash et al., 2015).
- um elétrodo de carbono *screen-printed* eletroquimicamente ativado foi utilizado para a detecção de fenol com CV e voltametria de pulso diferencial (Sakthinathan et al., 2015).
- por CV, com elétrodo de carbono vítreo modificado eletroquimicamente numa solução de KOH com acetona (Uskova & Bulgakova, 2014).

Tendo em consideração os exemplos acima apresentados, a seguir faz-se uma apresentação das características gerais dos elétrodos de trabalho mais aplicados.

1.3.1 Platina

Elétrodos de metais sólidos, como de platina, são usados, principalmente, para investigações na região potencial onde o mercúrio está dissolvido anodicamente. É um tipo de elétrodo sólido com medições de baixa reprodutibilidade, devido ao fato de formar camadas de hidrogênio, oxigênio ou óxido de platina (Thomas & Henze, 2001).

Em solventes orgânicos, o elétrodo de platina é adotado, posteriormente a um polimento que o deixe com características de espelho, devido ao fato de ser considerado um elétrodo inerte com favorável transferência de eletrões (Scholz, 2010).

1.3.2 Carbono

O carbono é um elemento químico encontrado na natureza em variadas formas, constituindo inúmeros materiais, dentre eles a grafite, o diamante, as fibras de carbono, o carvão, assim como os nanocarbons, como o fulereno, o grafeno, o nanotubo de carbono e o nanorgibão de grafeno (Alkire et al., 2015).

Pierson (2012) retrata que apenas dois carbonos polimorfos são encontrados no planeta Terra como minerais: o grafite natural e o diamante. Este é transparente

no espectro visível, enquanto o grafite é opaco; o diamante é um isolador elétrico e o grafite um condutor elétrico.

Segundo Alkire et al. (2015), embora todos os materiais citados sejam compostos dos mesmos átomos, cada um deles pode apresentar, dependendo de suas estruturas, propriedades físicas e químicas totalmente diferentes, incluindo transporte elétrico, propriedades ópticas e térmicas, reatividade química, dentre outras.

1.3.2.1 Grafite

Grafite pode ser definido como um material de carbono encontrado em sua forma real na natureza. É a principal ferramenta utilizada para escrever e desenhar desde a história antiga. Os primeiros lápis foram manufacturados na Inglaterra por volta do século XV. Além disso, é utilizado como fibra extremamente resistente, lubrificante e absorvedor de gases (Pierson, 2012).

É composto por uma série de camadas planas paralelas empilhadas umas sobre as outras, como representado na Figura 7.

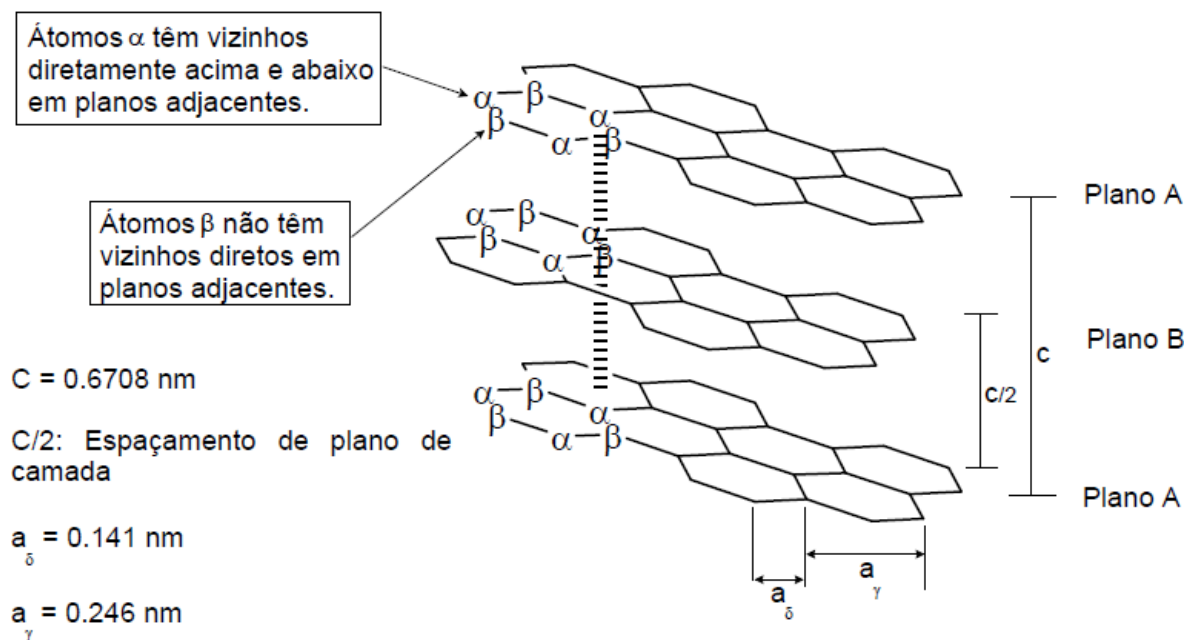


Figura 7 – Estrutura do grafite. **Fonte:** Adaptado de Pierson (2012).

Conforme Pierson (2012), em cada camada plana, o átomo de carbono está ligado a três outros, formando uma série de hexágonos ou romboedros contínuos,

com ordem de empilhamento ABAB, podendo ser considerada uma molécula essencialmente bidimensional infinita. Neste tipo de grafite (hexagonal), a camada B é deslocada de maneira que as moléculas de carbono fiquem intercaladas. No grafite romboédrico, tem-se uma camada C também deslocada, obtendo-se, ao fim, 3 camadas em posições diferentes.

Tal composto apresenta coloração escura (cinzenta), volume atômico de 5,351 cm³/mol e elevado ponto de sublimação a 1 atm, na casa dos 4000 K (Kelvin). A 1 atm, o grafite não evidencia ponto de fusão. Para tal, são necessários 100 atm de pressão, bem como 4200 K de temperatura. A densidade a 300 K e 1 atm do mesmo é de 2,26 g/cm³. Este é um valor teórico e aplicável a cristais de grafite perfeitos. Na prática, muitos materiais de grafite exibem valores menores, devido à presença de imperfeições na estrutura, como porosidade e deslocamento (Pierson, 2012).

A estrutura encontrada em cada camada plana (A e/ou B) do grafite é denominada grafeno. Embora considerado um semimetal, apresenta efeitos eletromagnéticos únicos, comparados aos metais nobres convencionais. A frequência de plasma do grafeno está na classe terahertz, que é 10³ vezes menor do que nos metais, e que pode ser ajustada por meio de *gating* ou *doping*, ou pela fabricação de fitas de grafeno com largura micron (Alkire et al., 2015).

Eletricamente, Pierson (2012) evidencia que o grafite é um condutor no plano basal e um isolador normal para o plano basal. Sua estrutura atômica permite que as camadas de valência preenchidas sobrepõem a banda de condução vazia em aproximadamente 36 meV e os elétrons de quarta valência deslocados formam uma banda de condução parcialmente cheia entre os planos basais, onde podem moverem-se prontamente em um padrão de onda, enquanto respondem a campos elétricos.

Com grafite, há uma maior possibilidade dos íons e moléculas intercalarem-se entre as suas camadas, e isso se deve a sua porosidade. Os espaços entre as camadas podem acumular impurezas que influenciam suas propriedades (Alkire et al., 2015).

1.3.2.2 Carbono vítreo

O carbono vítreo é obtido através de uma lenta carbonização de uma resina polimérica (comumente poliacrilonitrilo) e posterior aquecimento a temperaturas maiores que 3000 K, sob pressão de um gás inerte (Alkire et al., 2015).

É preparado pressionando e cimentando uma haste de carbono vítreo de 2 a 5 mm em um plástico inerte. A superfície do eletrodo usado na análise eletroquímica é polida com uma pasta de água e óxido de alumínio para um acabamento com características de espelho (Thomas & Henze, 2001).

Segundo Alkire et al. (2015), este tipo de eletrodo apresenta funcionalidades de superfície múltiplas, as quais variam com a proveniência e o pré-tratamento. Diferentes carbonos vítreos preparados a partir de diferentes resinas e temperaturas de tratamento leva a variações na performance do processo. Maiores temperaturas de tratamento dão a eles uma maior condutividade termal e maior resistência aos efeitos anódicos, porém menor estabilidade contra a corrosão.

1.3.2.3 Pasta de carbono

Elétrodos de pasta de carbono são constituídos por uma mistura de grafite puro com tamanho de partículas micrométricas, com um tipo de pasta orgânica viscosa pura, como trimetilbenzeno, óleo de silicone, etc (Thomas & Henze, 2001; Alkire et al., 2015).

A composição da pasta influencia tanto a densidade da corrente quanto o alcance potencial do sinal voltamétrico. Elétrodos de pasta de carbono têm uma corrente de base relativamente baixa e, em comparação com outros tipos de eletrodos sólidos, responde mais rápido a mudanças de tensão. Esse tipo de eletrodo é mais utilizado na região anódica para determinação voltamétrica de compostos orgânicos oxidáveis, como fenóis, aminas aromáticas ou hidroquinonas (Thomas & Henze, 2001).

Silva (2006) menciona que, devido ao fato de apresentarem contato com o eletrólito em uma célula eletroquímica, esses eletrodos devem ter baixa volatilidade, baixa solubilidade no meio e alta pureza no intuito de evitar espécies eletroativas indesejadas.

1.3.2.4 Compósitos com grafite

Muitos dos elétrodos compósitos com grafite são aprimorados a partir da mistura com outros componentes químicos, através de reações químicas ou permitir a alteração das propriedades físicas e/ou físico-químicas da superfície, com vistas ao aumento da transferência de elétrons. Particularmente, óxidos de metal são utilizados com o objetivo citado, devido ao fato de apresentarem características eletrocatalíticas (Alkire et al., 2015).

Svancara et al. (2012) referem algumas razões que justificam os estudos de modificação/melhoramento da superfície dos elétrodos de carbono, tais como: imobilização e acumulação do analito na superfície do eletrodo, exploração das reações eletroquímicas catalíticas, imobilização dos reagentes gerando produtos eletroquimicamente ativos, proteção e estabilização da superfície do eletrodo, melhoramento das propriedades físicas ou físico-químicas da pasta de carbono, dentre outros.

Globalmente, existem aplicações destes tipos de elétrodos na análise de compostos fenólicos. Na Tabela 4, apresentam-se alguns limites de detecção e níveis de concentrações usados na calibração para a análise de fenóis em várias matrizes (águas e produtos alimentares).

Tabela 4 - Intervalos de desempenho e limites de detecção de fenóis para alguns elétrodos.

Composição Elétrodo	Técnica Eletroquímica	Intervalo Linear ($\mu\text{g/L}$)	Limite de Detecção ($\mu\text{g/L}$)	Referência
GCE	Cronoamperometria	2,6 – 59,2	1,29	Adamski et al. (2009)
GCE	Voltametria de Pulso Diferencial	$2,9 \times 10^{-3}$ – $29,9 \times 10^{-3}$	1.3×10^{-3}	Baranowska & Bijak (2010)
CPE + $\text{MgFe}_2\text{O}_4\text{-SiO}_2$	CV	94,1 – $23,5 \times 10^3$	56,46	Liu et al. (2005)
BDD-AuNP-Tyr	SWV	9,4 – $1,0 \times 10^3$	6,59	Janegitz et al. (2012)

GCE: Elétrodo de Carbono Vítreo; CPE: Elétrodo de Pasta de Carbono; BDD: Diamante Dopado com Boro; AuNP: Nanopartículas de Ouro; Tyr: Tirosina.

Da pesquisa bibliográfica, percebe-se que a temática da quantificação de compostos fenólicos por SWV com elétrodos compósitos de grafite ainda é pouco explorada, devido a quantidade reduzida de informação encontrada. Dessa maneira, reforça-se a necessidade de construir elétrodos, utilizando materiais baratos e

robustos que possam ser considerados inovadores na aplicação para monitorização da concentração de fenóis *in situ*, substituindo eléctrodos que dependem de reagentes e técnicas de construção onerosas que acabam por complexificar a sua aplicação rotineira.

1.4 ESTATÍSTICAS

1.4.1 Método dos mínimos quadrados parciais

O método dos mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês “Partial Least Squares”) é um método que permite relacionar linearmente a variável dependente com variáveis independentes sem estar restringido pelos graus de liberdade, pois permite utilizar um conjunto de variáveis independentes superior ao número de amostras analisadas. O modelo PLS encontra um número pequeno de variáveis ocultas no espaço variável do preditor para prever a resposta das variáveis (Worsley et al., 1997).

Com o PLS é possível construir modelos teóricos sem a existência de indicadores de ajustamento e adequação do modelo como um todo. O mesmo procura a estimação dos indicadores de cada constructo teórico, produzindo uma estimativa dos componentes no sentido de maximizar a variância de variáveis dependentes explicadas por variáveis independentes, semelhante à forma como é feita a regressão (Lee et al., 2011).

Neste estudo, as variáveis independentes correspondem à matriz dos voltamogramas (resposta instrumental) e as variáveis dependentes à matriz das concentrações. Para obter os melhores resultados de previsão de concentrações de cada composto analisado, vários modelos PLS foram testados usando diferentes pré-tratamentos da matriz das variáveis independentes (voltamogramas): transformação padrão normal de variação (SNV), primeira derivada (1DER) e segunda derivada (2DER).

1.4.2 Pré-tratamentos dos voltamogramas

A transformação variação de padrão normal (SNV, do inglês “Standard Normal Variate”) permite a transformação dos sinais dos voltamogramas por subtração da média e pela divisão do desvio padrão (Eq. 3) de todos os pontos de cada voltamograma, ficando dimensionado (valor de Z calculado para uma distribuição

normal) (Mochão, 2015). Essa transformação tem vindo a ser usada principalmente em correção de espectros de trabalhos com espectrofotometria ultravioleta-visível e infra-vermelho (Syvilay et al., 2015; Bi et al., 2016).

$$SNV = \frac{x_i - x_{méd}}{\sigma} \quad \text{Eq. (3)}$$

Onde:

x_i : valor de x normal;

$x_{méd}$: valor médio da série de dados;

σ : desvio padrão da série de dados.

Problemas de linha de base nos voltamogramas podem ser corrigidos aplicando-se as derivadas, que também permitem a remoção de ruídos e melhorar as definições dos picos nos voltamogramas que se encontram sobrepostos. O algoritmo mais utilizado é o de Savitsky-Golay.

O objetivo da utilização dos métodos de primeira e segunda ordem de derivadas é dar maior ênfase a picos, permitindo um aumento na sua resolução e eliminando efeitos aditivos. Quando aplicados estes métodos, o ruído presente é amplificado, e que, se conhecido o intervalo de potencial aplicado através do qual se obtém informação voltamétrica acerca de determinado composto, pode-se quantificar o mesmo (Otto, 2016).

Aplicando a primeira derivada (1DER) aos voltamogramas é possível corrigir pequenas variações na linha de base entre eles, evidenciando maioritariamente características pequenas, face a características com maior intensidade. Isso leva a obtenção de formas gráficas mais acentuadas que permitam uma avaliação mais fácil (Conzen, 2003). Com a segunda derivada (2DER) os mesmos sinais podem ser estudados, além de ser possível de obter a correção de problemas de inclinação na linha de base ("bias") (Conzen, 2003).

A Figura 8 representa exemplos típicos de voltamogramas originais e resultantes dos pré-tratamentos SNV, 1DER+SNV e 2DER+SNV obtidos neste trabalho. De realçar que as cores correspondem ao logaritmo decimal da concentração total de compostos fenólicos na solução analisada.

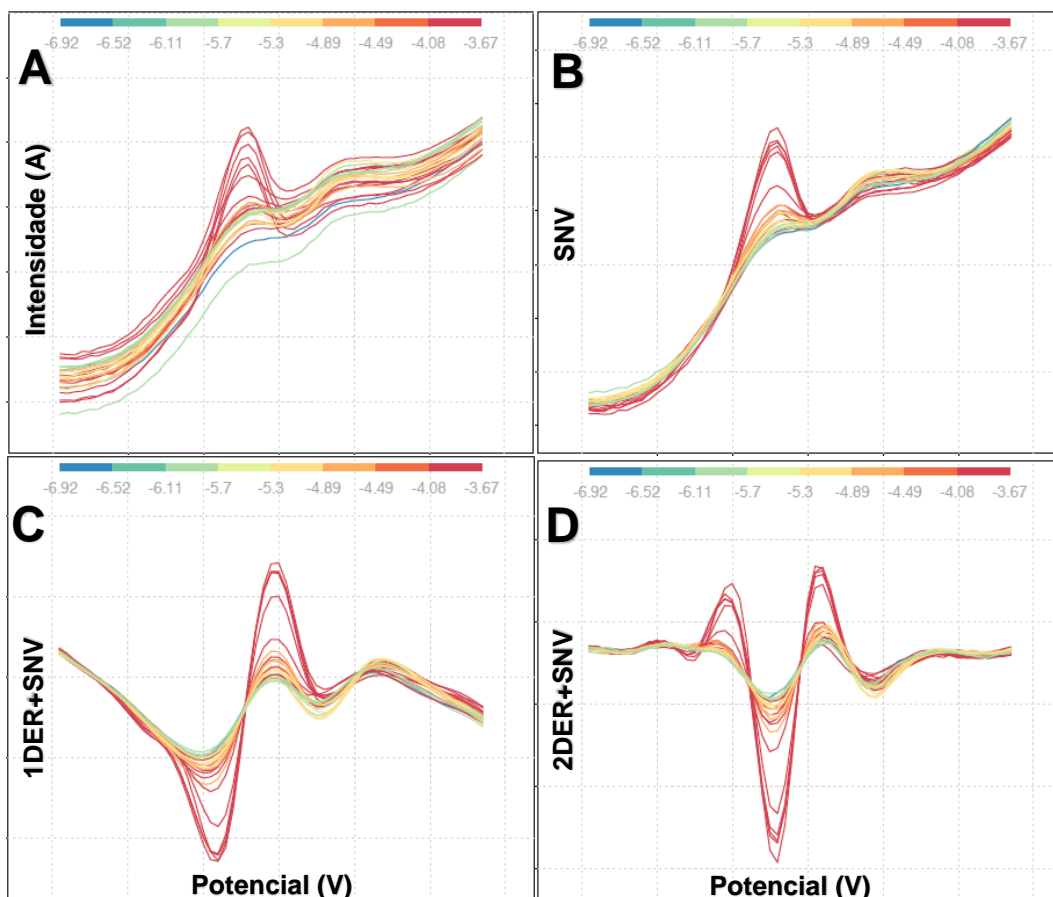


Figura 8 - Voltamogramas obtidos com elétrodo composto de grafite construído e usado neste trabalho:

A) Originais; B) pré-tratamento SNV; C) pré-tratamento 1DER+SNV, D) pré-tratamento 2DER+SNV.

1.4.3 Validação do método

Para a validação do modelo PLS selecionado (Maroco, 2007; Gonçalves, 2014), verificou-se visualmente:

- a relação linear entre os valores previstos pelo modelo obtido e os esperados, abrangendo os ajustes lineares dos dados obtidos para o grupo de treino e de teste;
- dispersão dos resíduos (erros) em função dos valores previstos, objetivando averiguar se os resíduos adotam qualquer tendência ou se os mesmos têm uma distribuição aleatória;
- normal Q-Q, no intuito de avaliar a normalidade dos resíduos que representa o quantil de probabilidade esperado, se a distribuição fosse normal em função dos resíduos (representada pela linha definida no gráfico);
- distância de Cook em função do número da observação para constatar se havia ou não a presença de valores extremos (“outliers”), considerando que valores

acima de 1 indicam tratar-se de dados demasiadamente influentes na estimação dos coeficientes de regressão;

- resíduos padronizados em função da apreciação “Leverage”, que indica se há possíveis “outliers” no estudo levando em consideração a influência “Leverage” no ajustamento dos modelos, em que valores inferiores a 0,2 são aceitáveis, valores entre 0,2 e 0,5 são arriscados e valores acima de 0,5 indicam a presença de um “outlier” multivariado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ELÉTODOS COMPÓSITOS

Para a construção dos elétrodos de trabalho, utilizou-se material cilíndrico de acrílico como suporte. Em sua extremidade inferior, inseriu-se uma pasta constituída por diferentes porcentagens de grafite, metal (mistura contendo Ag, Epoxy Technology, Ref E4110/10Z, Part A) ou óxido de metal (mistura contendo Al_2O_3 , Paureac) e resina epoxídica (marca Araldite). Em contato com essa pasta no interior do material cilíndrico, fixou-se um fio de cobre com comprimento suficiente de maneira que permitisse a fixação ao cabo de ligação do potenciostato. Utilizou-se a resina Araldite também para fixar e vedar a parte superior do eletrodo. A Tabela 5 especifica as porcentagens de cada material utilizado na construção dos referidos elétrodos.

Tabela 5 - Composição dos elétrodos construídos.

Elétrodo	Resina Araldite (%)	Grafite (%)	Metal/Óxido de Metal	
C	50,01	49,99	-	-
C+Ag	46,20	46,50	Ag	7,3%
C+ Al_2O_3	48,60	48,80	Al_2O_3	2,6%

2.2 EQUIPAMENTOS PARA ANÁLISE VOLTAMÉTRICA

Compôs-se uma célula eletroquímica com três elétrodos: o eletrodo de trabalho, um contra-elétrodo e um eletrodo de referência. Para o eletrodo de trabalho utilizaram-se os elétrodos compósitos construídos e um eletrodo de carbono vítreo comercial (Standard Glassy Carbon Disc Electrode, \varnothing 3 mm, GC) para efeitos comparativos ao nível do desempenho analítico; para o contra-elétrodo utilizou-se um eletrodo de filamento de platina (Biologic Science Instruments, A – 002233); e, para o eletrodo de referência um eletrodo Ag/AgCl de junção simples (Biologic Science Instruments, RE – 1B).

Os elétrodos da célula eletroquímica foram ligados a um potenciostato-galvanostato (PG580, Uniscan), controlado pelo Software UiEChem 1.34 (Unisan Instruments Ltd) por meio de um computador.

2.3 ANÁLISE VOLTAMÉTRICA

2.3.1 Voltametria cíclica numa solução redox reversível

Esse estudo objetivou, por meio da CV, avaliar o desempenho dos elétrodos de trabalho construídos e do eletrodo comercial utilizando condições semelhantes para todos. Para tal, usou-se uma solução padrão de par redox ferrocianeto/ferricianeto. Nesse estudo foram medidos os potenciais dos picos e valores de intensidade de corrente em condições preestabelecidas. Com os voltamogramas obtidos, verificou-se se se tratava de um sistema reversível.

A referida solução redox foi preparada a partir da diluição de 0,4224g de $K_4Fe(CN)_6$ e 0,3292g de $KFe(CN)_6$ em 100 mL de solução tampão de fosfato 0,1 mol/L, pH 7,00. A solução tampão de fosfato foi preparada misturando, com agitação, as soluções de concentração 0,1 mol/L de K_2HPO_4 , e KH_2PO_4 , (preparadas, respectivamente, a partir da diluição de 17,418g e 13,609g das respectivas massas em 1 litro de água deionizada) até se obter o pH 7,00 (valor controlado com um eletrodo pH ligado a um milivoltímetro, Hanna Instruments pH 211 microprocessor pHMeter).

Na Tabela 6 estão representadas as condições adotadas para cada parâmetro voltamétrico da CV para este estudo.

Tabela 6 - Condições definidas no *software* para o potenciostato na análise do desempenho dos elétrodos por voltametria cíclica.

Parâmetro	Condição adotada no teste
Potencial Inicial (volts)	-0,5
Tempo de Potencial Inicial (segundos)	5
Potencial de Varrimento 1 (volts)	-0,5
Potencial de Varrimento 2 (volts)	0,8
Potencial de Varrimento 3 (volts)	-0,5
Velocidade de Varrimento (volts/segundo)	0,1
Volts por Ponto	0,01
Número de Ciclos	3

2.3.2 Voltametria de onda quadrada de compostos fenólicos

Por meio do *software* UiEChem 1.34, efetuou-se, primeiramente, calibrações em duplicata com a solução branco (contendo apenas água deionizada e solução tampão de acetato de sódio em pH 5), de maneira a obter voltamogramas típicos dessa mistura, a ser considerada a concentração 0 (zero) de fenóis.

Com o objetivo de avaliar o desempenho voltamétrico dos elétrodos de trabalho em estudo na análise dos fenóis, efetuaram-se calibrações individuais para os três compostos analisados: 4-clorofenol (4-CF), fenol (F) e 4-nitrofenol (4-NF). Na calibração voltamétrica dos elétrodos, utilizaram-se soluções de 4-CF com concentrações a variar entre 1×10^{-9} e 1×10^{-1} mol/L preparadas com solução tampão de acetato (0,5 mol/L) em pH 5, a ser alcançado com uma solução de ácido acético 0,5 mol/L. O pH 5 foi escolhido devido à estudos anteriores realizados por Vernasqui (2017), a qual obteve melhores e maiores valores para os parâmetros em análise. O mesmo foi feito para o F e para o 4-NF. O primeiro com concentrações a variar entre 1×10^{-9} e 1×10^{-1} mol/L e o segundo com concentrações a variar entre 5×10^{-10} e 1×10^{-1} mol/L. Retas de calibração foram desenvolvidas e testes estatísticos foram aplicados. Neste passo, verificou-se a resposta analítica, através dos resultados obtidos a partir da calibração (intervalo dinâmico, declive e coeficiente de correlação), fazendo ou não subtração do voltamograma da solução branco (solução contendo a solução tampão de acetato, mas sem os compostos fenólicos).

2.3.3 Voltametria de onda quadrada em soluções mistura de compostos fenólicos

O passo seguinte consistiu em verificar se através dos elétrodos de trabalho em estudo permitiam-se obter informação sobre as concentrações individuais dos três compostos quando misturados. Foi definido um desenho experimental de preparação de soluções de mistura de 4-CF, F e 4-NF, que permitiu garantir a ortogonalidade das soluções com diferentes concentrações. Referido desenho experimental foi definido por Brereton (2007) e utilizado por Arca (2016) na análise de açúcares por meio de um sistema multi-sensores. Na Tabela 7 está representado o esquema de concentrações de cada composto em cada um dos ensaios. Usaram-se 5 concentrações codificadas com os valores de -2, -1, 0, 1 e 2, que traduzem níveis de concentração definidos usando informação dos intervalos dinâmicos de calibração obtida no passo anterior.

Todos os passos deste estudo foram realizados por meio de SWV, e as condições adotadas na execução desta técnica estão representadas na Tabela 8.

Tabela 7 - Níveis do desenho experimental ortogonal utilizado na mistura dos três compostos fenólicos

Ensaio	4-CF*	F*	4-NF*	Volume (mL)
1	0	0	0	25
2	0	-2	-1	25
3	-2	-1	-2	25
4	-1	-2	2	25
5	-2	2	2	25
6	2	2	0	25
7	2	0	-1	25
8	0	-1	2	25
9	-1	2	-1	25
10	2	-1	1	25
11	-1	1	1	25
12	1	1	0	25
13	1	0	2	25
14	0	2	1	25
15	2	1	2	25
16	1	2	-2	25
17	2	-2	-2	25
18	-2	-2	0	25
19	-2	0	1	25
20	0	1	-2	25
21	1	-2	1	25
22	-2	1	-1	25
23	1	-1	-1	25
24	-1	-1	0	25
25	-1	0	-2	25

*) níveis de concentração codificados.

Tabela 8 - Condições definidas no *software* para o potenciostato para SWV.

Parâmetro	Condição adotada no teste
Potencial Inicial (volts)	-1,5
Tempo de Potencial Inicial (segundos)	5
Potencial de Varrimento 1 (volts)	-1,5
Potencial de Varrimento 2 (volts)	1,5
Velocidade de Varrimento (volts/segundo)	0,03

Individualmente, adotou-se condições de frequência e pulso para cada eletrodo, condições estas alcançadas por meio da literatura somada a testes rápidos de combinações dessas variáveis em laboratório, objetivando a obtenção de voltamogramas de melhor qualidade em termos de picos e linhas de base. Assim, elegeu-se as mesmas condições de frequência e pulso (70 Hz e 0,2 volts, respectivamente) para o eletrodo C e para o eletrodo CVIT, exatamente para,

posteriormente, realizar-se comparações entre os mesmos. Já para o eletrodo C+Ag, adotou-se 50 Hz para a variável frequência e 0,4 volts para o pulso. O eletrodo C+Al₂O₃ apresentou voltamogramas de melhor qualidade em testes com frequência em 70 Hz e pulso na casa dos 0,05 volts e, por isso, estas condições foram adotadas. Como dito anteriormente, as demais condições voltamétricas respeitaram, para todos os eletrodos, os valores da tabela acima.

Ao fim, com os dados dos voltamogramas, obteve-se o melhor modelo PLS para prever a concentração de cada composto analisado por meio dos seguintes pré-tratamentos do sinal voltamétrico: SNV; 1DER + SNV; 2DER + SNV.

2.3.4 Análise voltamétrica em águas naturais

Este estudo consistiu na obtenção de voltamogramas de onda quadrada para cada eletrodo utilizando três tipos diferentes de águas naturais: água de torneira da Escola Superior Agrária (ESA) do Instituto Politécnico de Bragança (IPB), a qual é proveniente de um furo (água subterrânea), água de escoamento superficial do rio Fervença, o qual transpassa as dependências do IPB e água do mar (Praia de Leça). As águas amostradas foram filtradas com papel de filtro quantitativo da marca Whatman (125 mm de diâmetro, Ref 1001 125) logo que chegaram ao laboratório, tendo sido congeladas até o momento das análises. A leitura das amostras de cada tipo de água com a solução tampão (10 mL da amostra e 2,5 mL de solução tampão de acetato de sódio 0,5 mol/L em pH 5) foi realizada com o objetivo de verificar a existência de possíveis interferências de outros componentes pré-existent nas águas em relação ao voltamograma obtido com a solução padrão (somente água deionizada e solução tampão de acetato). Posteriormente, verificou-se a influência de cada composto fenólico no voltamograma da amostra por adição de uma solução padrão de concentração 1×10^{-2} mol/L, de forma a visualizar no voltamograma o acréscimo de informação em relação ao da amostra. As condições voltamétricas usadas neste estudo são as mesmas que foram adotadas no estudo anterior (Calibração individual).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ELÉTODOS COMPÓSITOS

A Figura 9 exibe a forma física dos elétrodos compostos de grafite construídos e do elétrodo de carbono vítreo usados neste trabalho.

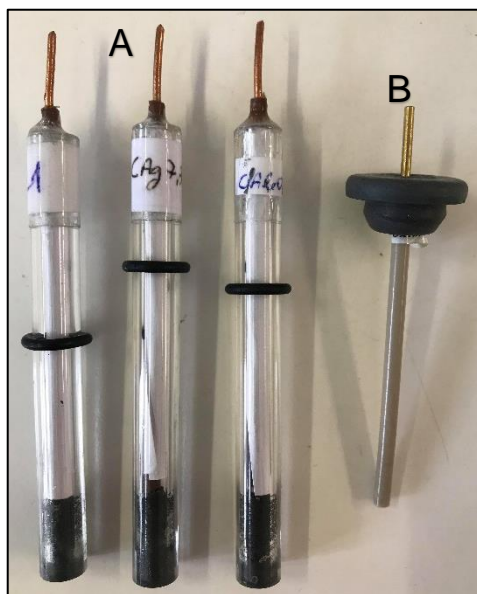


Figura 9 - Elétrodos de trabalho usados neste trabalho. A: elétrodos de trabalho construídos. B: elétrodo de trabalho de carbono vítreo comercial adquirido.

3.2 ANÁLISE VOLTAMÉTRICA

3.2.1 Voltametria cíclica numa solução redox reversível

No intuito de testar os elétrodos previamente construídos, utilizou-se uma solução redox de ferrocianeto/ferricianeto. Para isso, gerou-se voltamogramas cíclicos (ciclo 3) (Figura 10), através dos quais foi possível obter o sinal intensidade de corrente do pico, no intervalo de potencial aplicado, para o pico anódico (I_{pa}) e catódico (I_{pc}) a partir da linha de base, possibilitando o cálculo da razão entre as intensidades de pico ($|I_{pc}/I_{pa}|$), variação do potencial redox anódico e catódico (ΔE) e potencial redox (E°). Esses parâmetros calculados estão representados na Tabela 4.

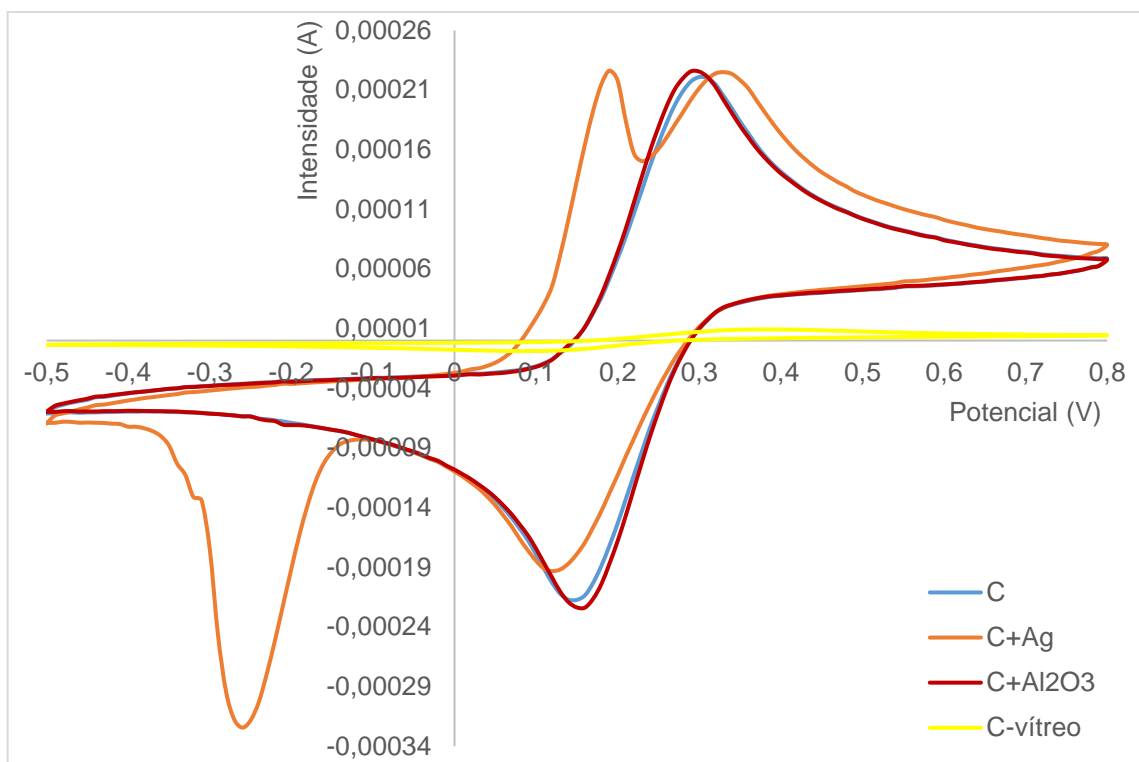


Figura 10 - Voltamogramas cíclicos (3º ciclo) obtidos para os elétrodos em estudo com o par redox ferrocianeto/ferricianeto.

Tabela 9 – Valores obtidos dos parâmetros para avaliação de uma reação reversível por voltametria cíclica para os elétrodos.

Eléttrodo	$ I_{pc}/I_{pa} $	$\Delta E(mV)$	$E^\circ(mV)$
C	1,01	501	225
C+Ag	0,92	430	225
C+Al ₂ O ₃	1,00	353	220
CVIT	0,97	23,7	230

A Tabela 9 mostra que os elétrodos apresentaram razão entre as intensidades de pico anódica e catódica próxima de 1. Esse resultado mostra um elevado desempenho analítico em relação a um sistema redox reversível. A reação de oxidação-redução para o par escolhido é de um eléttroão, por isso, uma medição perfeita da variação entre os potenciais anódico e catódico resultaria em um valor teórico de 59 mV. Por isso, valores mais afastados deste, demonstram maior afastamento da reversibilidade. No entanto, poucos elétrodos se aproximam desse valor teórico pois, por exemplo, em outro estudo da aplicação do elétrodo de carbono vítreo obteve-se um valor de 102 mV para ΔE . Concluiu-se então que os elétrodos construídos para este trabalho analisam a solução redox ferrocianeto/ferricianeto como um processo quase-reversível. Salienta-se que os elétrodos com valores mais

baixos de ΔE , exceto o CVIT, contém na composição da superfície do eletrodo de óxido de metal (Al_2O_3) e prata (Ag), enquanto o eletrodo composto somente por grafite (C) resultou em um valor mais elevado.

No que tange ao potencial redox da solução analisada (E°) obtidos por meio dos eletrodos compósitos, seus valores variaram de 220 a 230 mV, variação esta extremamente pequena, tendo em vista que todos os eletrodos são à base de grafite-epóxi.

Ainda a partir da Figura 10, verifica-se um voltamograma com comportamento diferente do típico para um eletrodo. O eletrodo compósito de C+Ag apresenta 2 picos catódicos e 2 picos anódicos nos voltamogramas. Acredita-se que, quando se constrói eletrodos compósitos de carbono e adiciona-se outros compostos em sua composição, comportamentos diferentes são obtidos. Estes comportamentos podem ser considerados negativos ou positivos e são dependentes do que se objetiva. De maneira geral, os eletrodos mostraram um comportamento eletroquímico adequado para serem testados na análise de compostos fenólicos.

3.2.2 Voltametria de onda quadrada na solução branco

Os voltamogramas de onda quadrada obtidos a partir dos testes realizados em duplicata com a solução branco (somente água deionizada com a solução tampão de acetato em pH 5) estão representados pela Figura 11. A mesma demonstra diferenças, em termos de sinais de intensidade detectados, por cada eletrodo. Os eletrodos C, C+Ag e CVIT mostraram voltamogramas da solução branco representados por uma linha crescente (intensidade de corrente crescente) com algumas ondulações e com valores inferiores a 0,0008 A. O eletrodo de C+Ag, depois de um intervalo de potencial quase horizontal, apresentou uma curvatura no intervalo de potencial entre 0,36 e 1,20 V, atingindo valores de intensidade de corrente até 0,001 A. Os voltamogramas da solução branco são importantes para averiguar a influência da solução tampão de acetato e estabelecer o intervalo de análise, bem como definir se o pico obtido numa amostra real se refere ao composto a ser analisado ou está associado a outros compostos adicionados para aumentar o fundo iônico da solução.

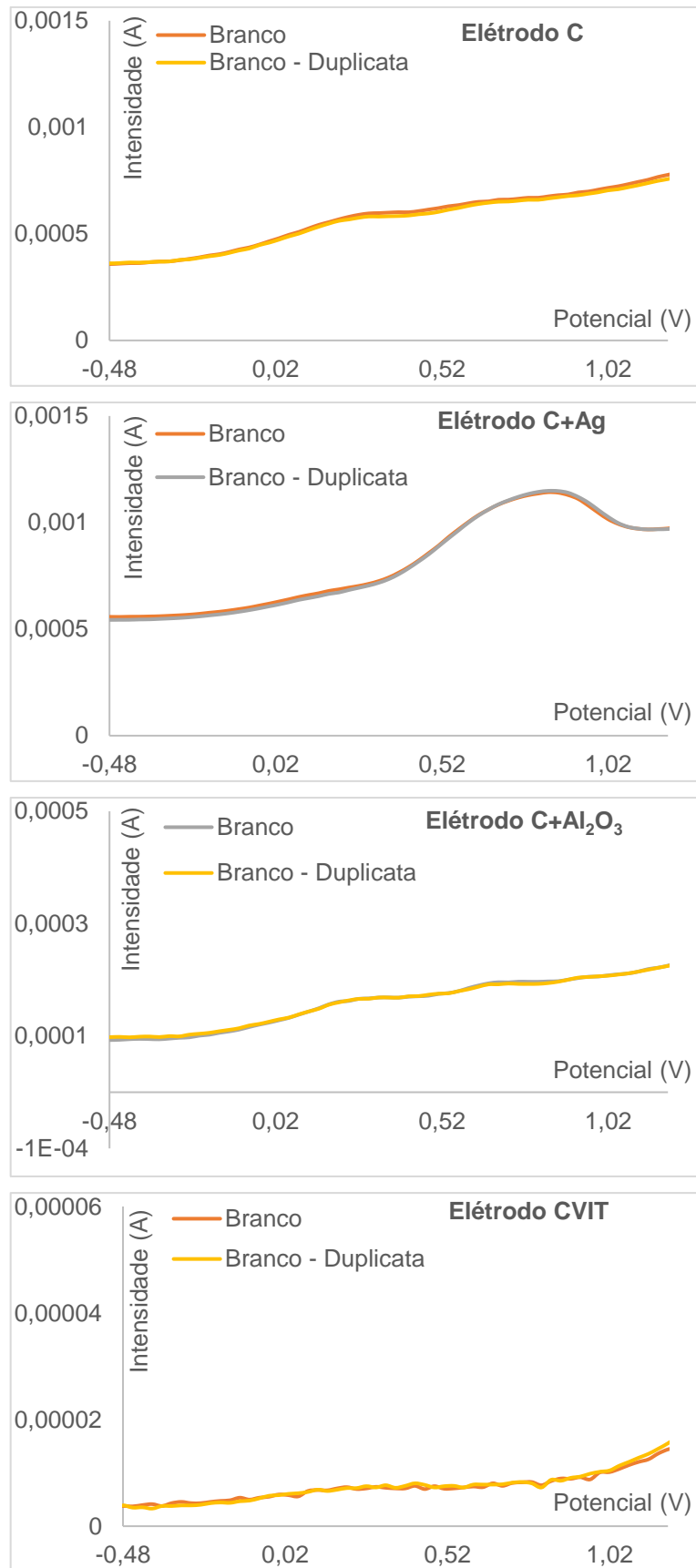


Figura 11 - Voltamogramas de onda quadrada em duplicata para a solução branco (solução tampão de acetato) para cada um dos eléctrodos testados.

3.2.3 Voltametria de onda quadrada de compostos fenólicos

Os resultados da calibração individual de cada composto fenólico analisado, usando soluções aquosas preparadas com diferentes concentrações do composto e com pH controlado por adição de solução tampão de acetato (pH 5) estão representados pelas Tabelas 10 e 11. Incluiu-se o intervalo de concentrações usado nas calibrações, o intervalo dinâmico da linearidade do sinal e as estatísticas da regressão linear simples obtidas para cada eletrodo testado com e sem subtração dos voltamogramas da solução branco.

Os resultados apresentados nestas tabelas mostraram a vantagem de se efetuar a subtração do voltamograma da solução branco (solução tampão de acetato) aos voltamogramas obtidos para cada calibração, que permite a influência da solução tampão no sinal típico do composto analisado.

Verificou-se que a qualidade da calibração aumentou quando se usaram os resultados obtidos a partir dos voltamogramas com subtração da solução tampão (Tabela 11) para todos os eletrodos testados, principalmente por proporcionar linhas de base de melhor qualidade (correção da informação eletroquímica de cada composto analisado). Neste caso, os intervalos dinâmicos geralmente aumentaram, permitindo atingir níveis de concentração mais baixas em uma ou duas ordens de grandezas dimensionais; os coeficientes de correlação foram superiores e majoritariamente superiores a 0,992.

Além disso, foi possível estabelecer os intervalos de potencial aplicados na obtenção dos picos que dão informação acerca da concentração dos compostos. Como é visto nas Tabelas 10 e 11, potenciais menores (entre 0,2 e 0,5 V) são necessários para a obtenção de informação voltamétrica do 4-NF, enquanto que potenciais mais elevados (entre 0,7 e 1,4 V) são necessários para a mesma função acerca do 4-CF e do F. Essa informação é relevante quando se tem mais compostos dissolvidos na amostra e pretende-se quantificá-los separadamente.

Tabela 10 - Calibração com medição de intensidade do pico e regressão linear simples sem subtração do branco.

Composto	Eléttrodo	[C _{min} ;C _{máx}] (mol/L)	Intervalo dinâmico (mol/L)	E _{pico} (V)	Declive	Ord. Origem	R
4-CF	C	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁸]	[0,81;1,02]	0,067	0,83	0,9917
	C+Ag	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁷]	[0,99;1,08]	0,047	0,91	0,9962
	C+Al ₂ O ₃	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁵]	[0,87;0,96]	0,024	0,27	0,9971
	CVIT	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁴]	[0,54;0,93]	0,051	0,19	0,9686
F	C	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁴]	[0,81;1,11]	0,178	0,98	0,9767
	C+Ag	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁴]	[0,81;1,38]	0,098	1,05	0,9972
	C+Al ₂ O ₃	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁶]	[0,84;1,32]	0,022	0,25	0,9909
	CVIT	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁴]	[0,75;0,87]	0,039	0,15	0,9854
4-NF	C	[5x10 ⁻² ;5x10 ⁻¹⁰]	[5x10 ⁻² ;5x10 ⁻⁶]	[0,27;0,45]	0,082	0,70	0,9982
	C+Ag	[1x10 ⁻¹ ;5x10 ⁻¹⁰]	[5x10 ⁻² ;5x10 ⁻⁷]	[0,36;0,39]	0,104	0,93	0,9879
	C+Al ₂ O ₃	[5x10 ⁻² ;5x10 ⁻¹⁰]	[5x10 ⁻² ;5x10 ⁻⁹]	[0,24;0,39]	0,007	0,18	0,9851
	CVIT	[1x10 ⁻² ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻² ;2x10 ⁻⁵]	[0,18;0,30]	0,042	0,16	0,9449

[C_{min};C_{máx}]: intervalo de concentração testado; E_{pico}: intervalo de potenciais aplicados para a obtenção dos picos.

Tabela 11 - Calibração com medição de intensidade do pico e regressão linear simples com subtração do branco.

Composto	Eléttrodo	[C _{min} ;C _{máx}] (mol/L)	Intervalo dinâmico (mol/L)	E _{pico} (V)	Declive	Ord. Origem	R
4-CF	C	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁷]	[0,81;1,02]	0,060	0,48	0,9922
	C+Ag	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁸]	[0,99;1,08]	0,054	0,60	0,9937
	C+Al ₂ O ₃	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[0,87;0,96]	0,011	0,15	0,9914
	CVIT	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁴]	[0,54;0,93]	0,048	0,17	0,9706
F	C	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻² ;1x10 ⁻⁵]	[0,81;1,11]	0,106	0,59	0,9992
	C+Ag	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁵]	[0,81;1,38]	0,126	0,70	0,9931
	C+Al ₂ O ₃	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁶]	[0,84;1,32]	0,024	0,16	0,9958
	CVIT	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻¹ ;1x10 ⁻⁴]	[0,75;0,87]	0,038	0,14	0,9844
4-NF	C	[5x10 ⁻² ;5x10 ⁻¹⁰]	[2x10 ⁻³ ;5x10 ⁻⁶]	[0,27;0,45]	0,061	0,41	0,9984
	C+Ag	[1x10 ⁻¹ ;5x10 ⁻¹⁰]	[5x10 ⁻² ;5x10 ⁻⁸]	[0,36;0,39]	0,021	0,19	0,9920
	C+Al ₂ O ₃	[5x10 ⁻² ;5x10 ⁻¹⁰]	[1x10 ⁻⁴ ;5x10 ⁻¹⁰]	[0,24;0,39]	0,009	0,09	0,9911
	CVIT	[1x10 ⁻² ;1x10 ⁻⁹]	[1x10 ⁻² ;2x10 ⁻⁴]	[0,18;0,30]	0,037	0,15	0,9991

[C_{min};C_{máx}]: intervalo de concentração testado; E_{pico}: intervalo de potenciais aplicados para a obtenção dos picos.

A Figura 12 apresenta os resultados obtidos da curva de calibração efetuada para o composto 4-CF, usando o elétrodo C+Al₂O₃ com e sem subtração do branco como exemplo.

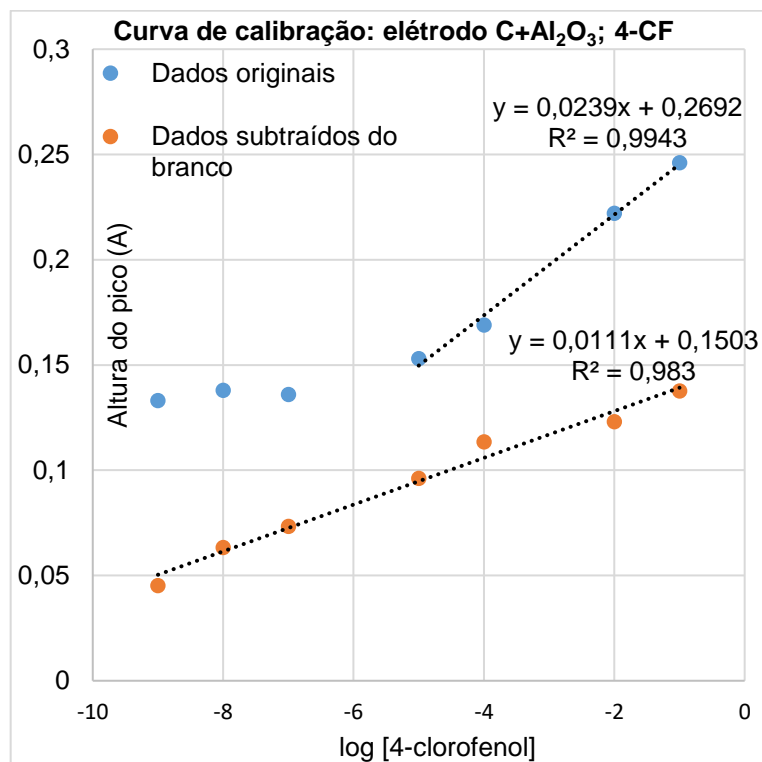


Figura 12 - Curvas de calibração resultantes das intensidades de pico obtidas com o elétrodo C+Al₂O₃ para o 4-CF com e sem subtração do branco.

Assim, pode-se comprovar que, em geral, com a subtração do branco, diminuiu a sensibilidade dos elétrodos, mas incrementou o intervalo dinâmico, ou seja, contribuiu para a melhoria da quantificação a níveis de concentração mais baixos.

Nas Figura 13, 14, 15 e 16 apresentam-se exemplos de voltamogramas de 3 níveis de concentração (em geral, entre 10⁻⁹ e 10⁻² mol/L) de cada composto analisado, sem e com subtração do voltamograma obtido para a solução branco, para cada elétrodo testado. Os gráficos apresentados permitem visualizar que a subtração do branco possibilita a obtenção de voltamogramas, em geral, com uma linha de base mais corrigida e incrementa o sinal do pico.

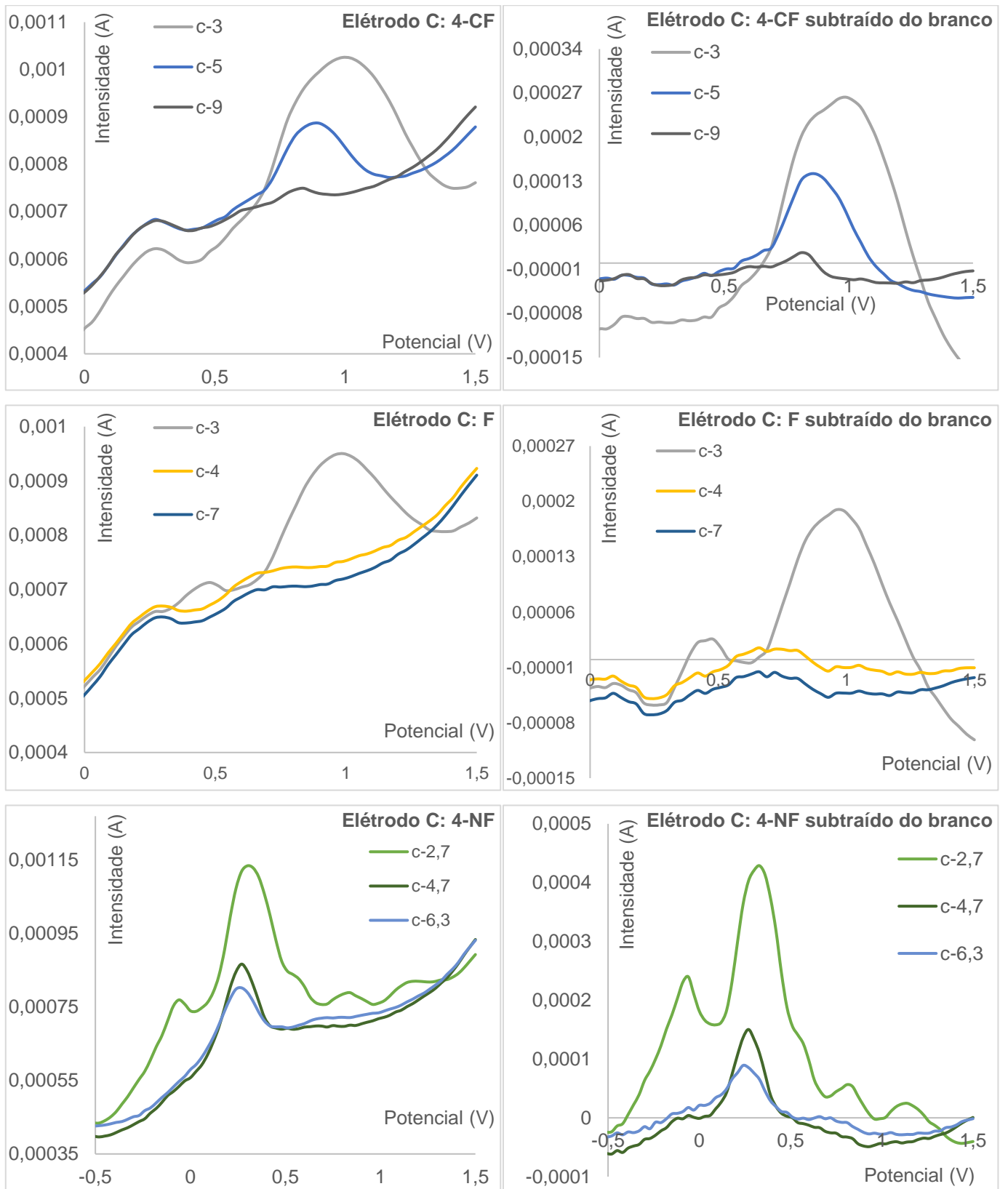


Figura 13 - Voltamogramas de onda quadrada dos intervalos dinâmicos do eléttrodo C para o 4-CF, F e 4-NF, com e sem subtração do branco. Linhas com código c-n; c = concentração; n = log [composto].

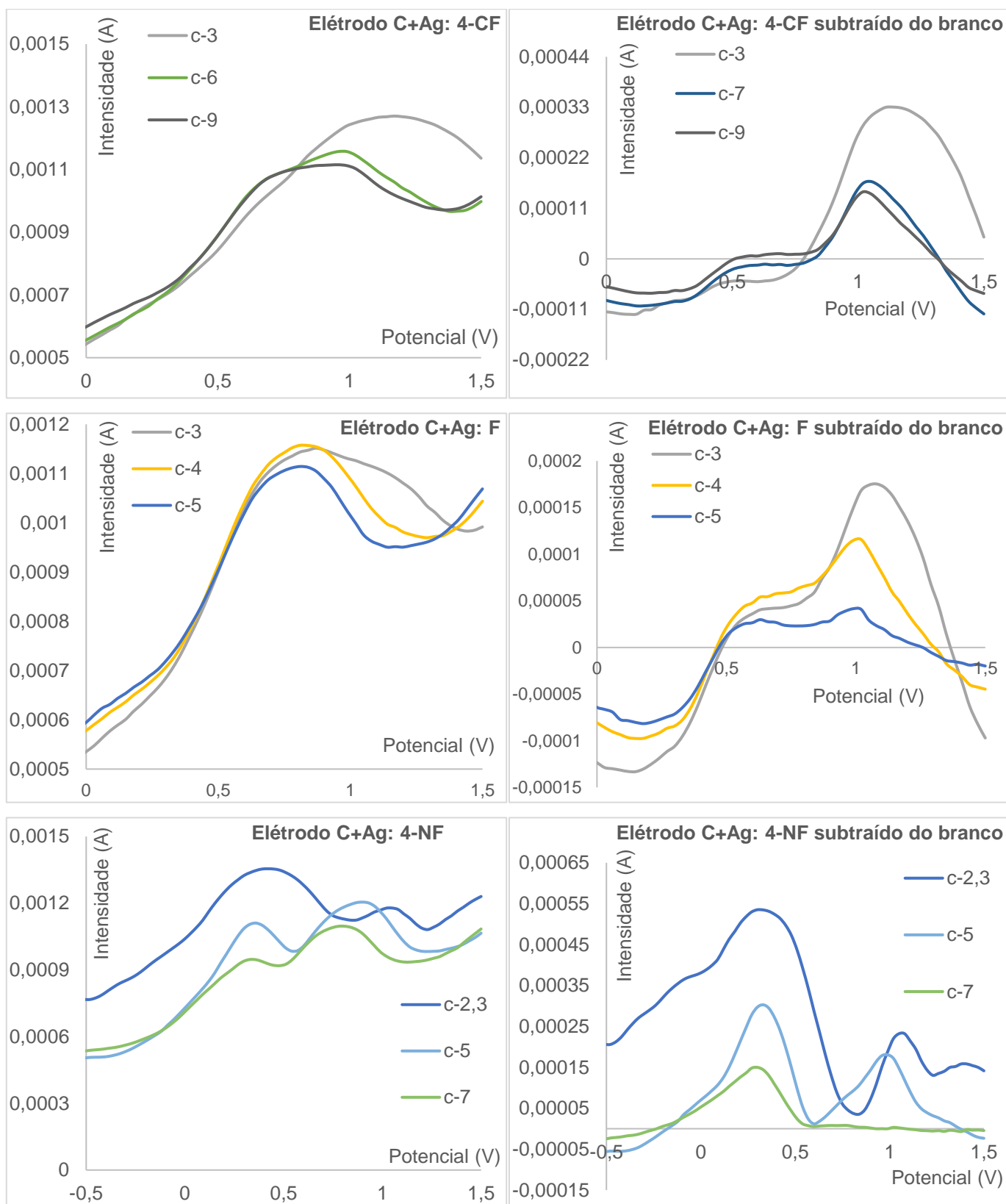


Figura 14 - Voltamogramas de onda quadrada dos intervalos dinâmicos do eléttrodo C+Ag para o 4-CF, F e 4-NF, com e sem subtração do branco. Linhas com código c-n; c = concentração; n = log [composto].

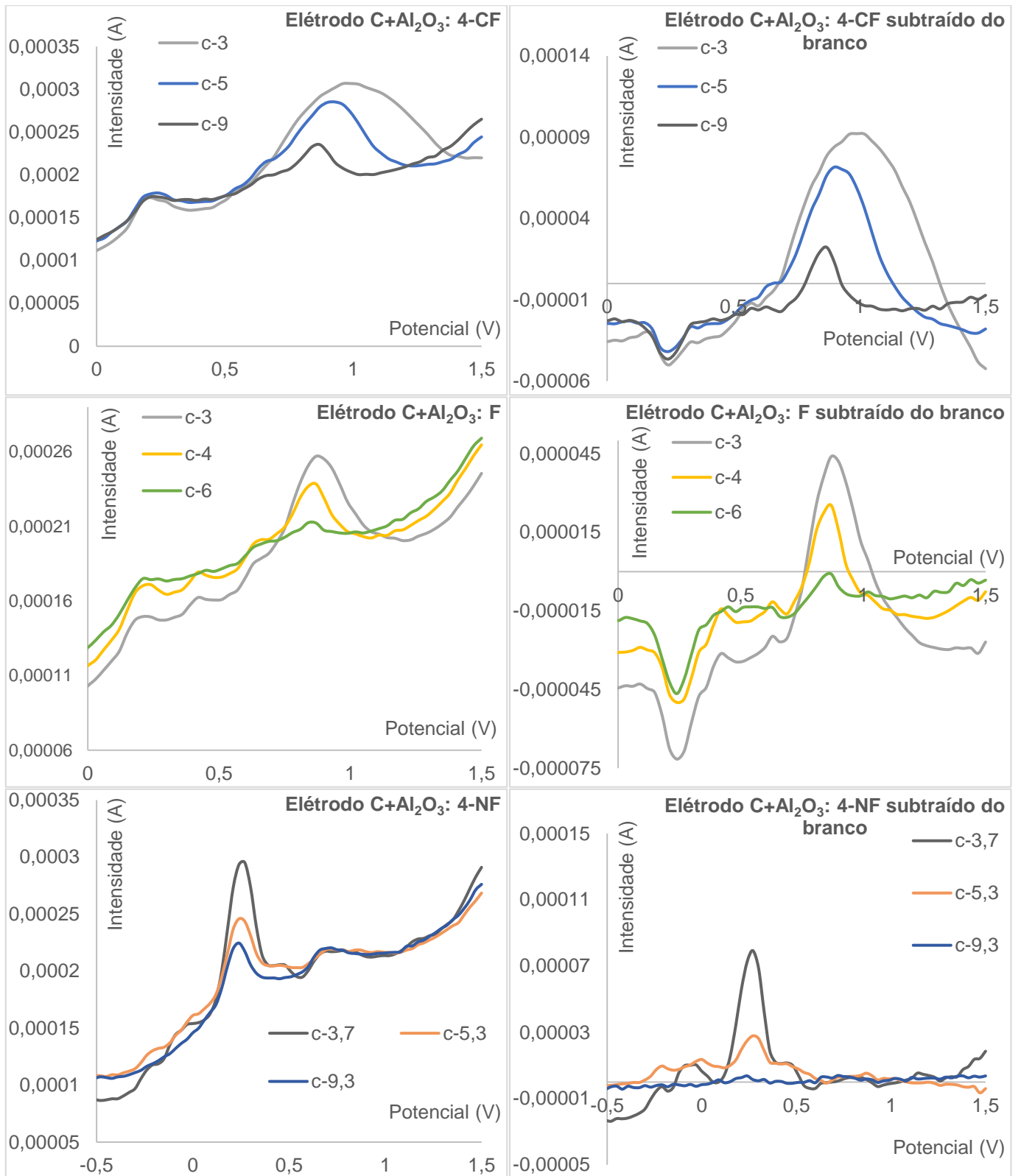


Figura 15 - Voltamogramas de onda quadrada dos intervalos dinâmicos do eléttrodo $C+Al_2O_3$ para o 4-CF, F e 4-NF, com e sem subtração do branco. Linhas com código c-n; c = concentração; n = log [composto].

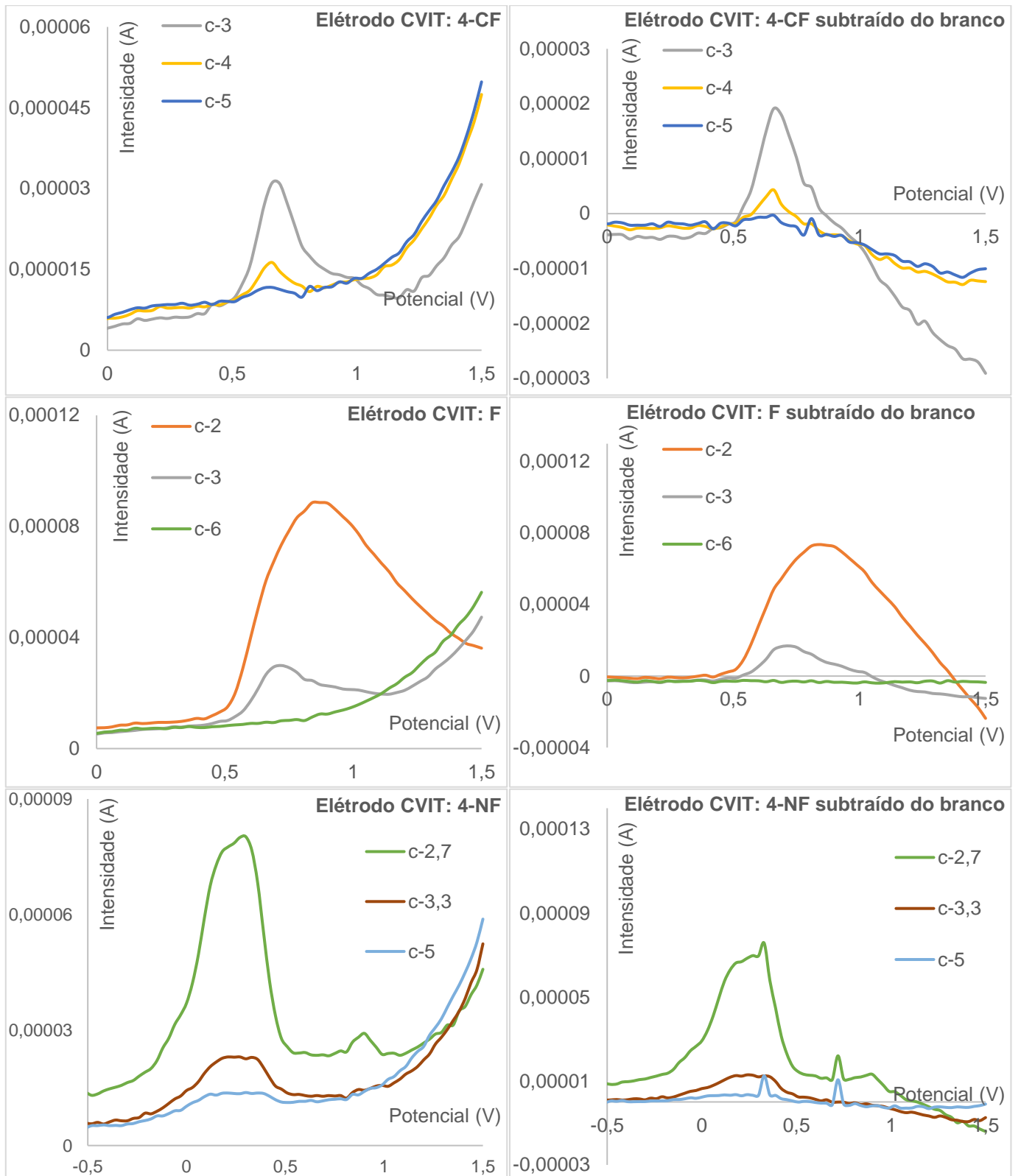


Figura 16 - Voltamogramas de onda quadrada dos intervalos dinâmicos do eléctrodo CVIT para o 4-CF, F e 4-NF, com e sem subtração do branco. Linhas com código c-n; c = concentração; n = log [composto].

Estas figuras mostram que os elétrodos estão a responder às variações das concentrações dos compostos analisados. Isso é observado tanto com os dados originais, quanto com a subtração do ensaio realizado em branco (sem adição de qualquer composto).

Na análise do 4-CF, o eletrodo C+Al₂O₃ foi o que permitiu medir as concentrações mais baixas, até 1x10⁻⁹ mol/L (após pré-tratamento dos dados com subtração dos sinais do branco), menor do que foi alcançado por Wei et al. (2014), quando estudou a quantificação de clorofenóis por CV usando um eletrodo de pasta de carbono modificado. No entanto, o eletrodo C mostrou capacidade analítica de concentrações a variar entre 10⁻⁸ e 1x10⁻¹ mol/L com maiores valores de declive (≈0,06 V/década, com e sem subtração do branco). Os demais eletrodos tiveram melhor desempenho de quantificação em intervalos dinâmicos maiores.

Na calibração dos eletrodos para a análise do F, verificou-se um desempenho menor do que para a análise do 4-CF. Globalmente, o intervalo dinâmico com menor valor de concentração foi obtido para o eletrodo C+Al₂O₃, com o valor de 1x10⁻⁶ mol/L do composto, concentração semelhante à encontrada por Santos (2012) e por Mathiyarasu (2004), os quais estudaram a quantificação do fenol com eletrodos de carbono vítreo modificados. Da mesma maneira que com o composto 4-CF, o eletrodo C resultou em declive maior (0,178) em comparação com o eletrodo C+Al₂O₃ (declive=0,022 V/década), porém, seu intervalo dinâmico é menos satisfatório. Os outros eletrodos quantificaram somente concentrações mais elevadas do composto.

O composto 4-NF, aparentemente foi melhor analisado, apesar de ter resultado em valores baixos de declive, também pelo eletrodo C+Al₂O₃, que atingiu concentrações de até 5x10⁻¹⁰ mol/L, inferior à de 1,4x10⁻⁷ mol/L alcançada por Hu et al. (2001) com um eletrodo de carbono vítreo modificado. Porém, seu desempenho analítico a concentrações elevadas começa a valores de 1x10⁻⁴ mol/L. O eletrodo C+Ag apresentou um interessante intervalo dinâmico, a variar entre 5x10⁻⁸ e 5x10⁻² mol/L e com declive maior (0,104 V/década), mas sem alcançar concentrações mais baixas como o eletrodo referido anteriormente.

Em relação ao eletrodo CVIT, verificou-se que, nas condições de frequência, velocidade de varrimento e pulso adotadas, o mesmo não evidenciou um bom desempenho para os compostos fenólicos testados. As concentrações de análise alcançadas por este eletrodo não são tão baixas quanto as concentrações alcançadas

pelos elétrodos compósitos construídos, como referenciado acima. Ademais, os voltamogramas obtidos com o eletrodo de carbono vítreo apresentam qualidade inferior aos dos outros elétrodos, no que tange à definição da linha de base, ruído e definição/resolução do pico. Na maioria dos casos, os voltamogramas das concentrações mais baixas se sobrepõem e/ou se invertem (voltamogramas de concentrações mais altas apresentam picos inferiores aos de concentrações mais baixas), o que causa falhas na quantificação e na linearidade de sua curva de calibração.

Considerando os resultados globais obtidos, considera-se ser possível quantificar num voltamograma obtido de uma solução com mistura dos três compostos testados, os níveis de concentração dos respectivos compostos individuais, bem como, da concentração total em compostos fenólicos ou de dois compostos, como no caso do 4-CF e F. Esta situação foi considerada porque o intervalo de potencial usado na análise destes dois compostos é igual, havendo sobreposição dos sinais de cada composto fenólico.

O estudo seguinte teve como objetivo verificar se os voltamogramas obtidos da análise de soluções preparadas com mistura dos três compostos, utilizando pré-tratamentos matemáticos, permitem quantificar a concentração dos três compostos individualmente, a concentração total dos três compostos analisados e a concentração total por adição das concentrações dos compostos 4-CF e F.

3.2.4 Voltametria de onda quadrada em soluções mistura de compostos fenólicos

Considerando o estudo anterior, onde a correção dos voltamogramas pelo obtido com a solução branco incrementou o sinal analítico, espera-se que transformações matemáticas (pré-tratamentos) nos voltamogramas permitam evidenciar informação analítica, tendo-se testado os tratamentos: SNV, 1DER+SNV e 2DER+SNV. Estes pré-tratamentos foram usados neste estudo, onde se pretende verificar o desempenho analítico de cada eletrodo na análise simultânea dos três compostos fenólicos em estudo, uma situação mais complexa considerando que os três compostos mostram respostas eletroquímicas quase no mesmo intervalo de potencial. Neste sentido, usou-se um desenho experimental fatorial fracionado para preparar 25 soluções de mistura dos três compostos fenólicos garantindo concentrações ortogonais, ou seja, não mostrem correlação entre os compostos. Os

cinco níveis de concentração aplicados foram: 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 1×10^{-6} , 1×10^{-7} e 1×10^{-8} mol/L, correspondendo aos cinco níveis codificados no desenho experimental de 2, 1, 0, -1 e -2, respectivamente (Tabela 7, seção 2.3.3).

Após a obtenção dos voltamogramas de cada uma das 25 soluções mistura, aplicou-se o método de regressão PLS usando como variáveis independentes, os voltamogramas de cada solução com 3 possíveis pré-tratamentos (SNV, 1DER+SNV e 2DER+SNV) e, como variáveis dependentes, o logaritmo decimal das concentrações de cada composto fenólico, da concentração total dos compostos fenólicos e da concentração total de dois compostos fenólicos (4-CF e F). Nas Tabelas 12, 13, 14 e 15 mostram-se os resultados de cada modelo PLS selecionado considerando o menor número de componentes principais, bem como os declives e os coeficientes de determinação próximos da unidade (1) quer para o grupo de treino (20 soluções) quer para o grupo de teste (5 soluções). Estes resultados foram obtidos da relação linear entre os valores previstos pelo modelo PLS selecionado e os valores esperados de concentração dos parâmetros quantitativos definidos na preparação das soluções de mistura. De realçar que, nas tabelas não se incluíram os valores da ordenada na origem por esta não ter significado estatístico nos modelos lineares obtidos (valor de $p > 0,05$).

Tabela 12 - Tratamentos estatísticos realizados para os 5 grupos de quantificação com o Elétrodo C.

Composto/Grupo	Tratamento	Modelo		Treino		Teste	
		Nº de Componentes	Declive	R ²	Declive	R ²	
4-CF	SNV	11	0,998	0,998	0,996	0,964	
	1DER+SNV	11	0,992	0,992	0,908	0,977	
	2DER+SNV	8	0,989	0,989	1,008	0,991	
F	SNV	8	0,999	0,999	1,096	0,951	
	1DER+SNV	6	0,993	0,993	1,057	0,959	
	2DER+SNV	7	0,998	0,998	0,913	0,960	
4-NF	SNV	7	0,996	0,996	0,850	0,994	
	1DER+SNV	9	0,996	0,996	1,029	0,991	
	2DER+SNV	5	0,997	0,997	0,960	0,975	
Fenóis Totais	SNV	8	0,996	0,996	0,978	0,990	
	1DER+SNV	7	0,992	0,992	0,938	0,989	
	2DER+SNV	6	0,993	0,993	1,024	0,994	
2 compostos (4-CF + F)	SNV	8	0,993	0,993	0,996	0,988	
	1DER+SNV	13	0,999	0,999	1,028	0,991	
	2DER+SNV	10	0,998	0,998	1,003	0,995	

Tabela 13 - Tratamentos estatísticos realizados para os 5 grupos de quantificação com o Elétrodo C+Ag.

Composto/Grupo	Tratamento	Modelo		Treino		Teste	
		Nº de Componentes	Declive	R ²	Declive	R ²	
4-CF	SNV	6	0,972	0,972	1,017	0,969	
	1DER+SNV	6	0,966	0,966	1,002	0,991	
	2DER+SNV	9	0,990	0,990	0,860	0,951	
F	SNV	9	0,994	0,994	0,971	0,989	
	1DER+SNV	6	0,979	0,979	0,972	0,971	
	2DER+SNV	7	0,991	0,991	1,032	0,980	
4-NF	SNV	7	0,993	0,993	0,974	0,993	
	1DER+SNV	8	0,992	0,992	0,961	0,992	
	2DER+SNV	8	0,998	0,998	0,862	0,982	
Fenóis Totais	SNV	7	0,991	0,991	0,917	0,994	
	1DER+SNV	8	0,992	0,992	0,937	0,991	
	2DER+SNV	8	0,998	0,998	0,862	0,982	
2 compostos (4-CF + F)	SNV	9	0,991	0,991	0,937	0,992	
	1DER+SNV	8	0,984	0,984	1,029	0,986	
	2DER+SNV	7	0,991	0,991	1,000	0,978	

Tabela 14 - Tratamentos estatísticos realizados para os 5 grupos de quantificação com o Eléctrodo C+Al₂O₃.

Composto/Grupo	Tratamento	Modelo		Treino		Teste	
		Nº de Componentes	Declive	R ²	Declive	R ²	
4-CF	SNV	10	0,998	0,998	0,965	0,840	
	1DER+SNV	8	0,976	0,976	0,820	0,965	
	2DER+SNV	8	0,994	0,994	0,728	0,805	
F	SNV	8	0,997	0,997	1,264	0,916	
	1DER+SNV	5	0,972	0,972	0,998	0,991	
	2DER+SNV	7	0,994	0,994	1,145	0,982	
4-NF	SNV	5	0,991	0,991	0,972	0,982	
	1DER+SNV	6	0,992	0,992	1,002	0,975	
	2DER+SNV	7	0,997	0,997	0,940	0,987	
Fenóis Totais	SNV	10	0,999	0,999	1,000	0,985	
	1DER+SNV	5	0,991	0,991	0,896	0,994	
	2DER+SNV	8	0,998	0,998	0,898	0,969	
2 compostos (4-CF + F)	SNV	7	0,996	0,996	0,923	0,997	
	1DER+SNV	9	0,995	0,995	0,990	0,977	
	2DER+SNV	7	0,996	0,996	0,937	0,971	

Tabela 15 - Tratamentos estatísticos realizados para os 5 grupos de quantificação com o Eléctrodo CVIT.

Composto/Grupo	Tratamento	Modelo		Treino		Teste	
		Nº de Componentes	Declive	R ²	Declive	R ²	
4-CF	SNV	9	0,999	0,999	0,931	0,969	
	1DER+SNV	9	0,999	0,999	0,869	0,934	
	2DER+SNV	5	0,991	0,991	0,910	0,973	
F	SNV	8	0,999	0,999	0,999	0,971	
	1DER+SNV	7	0,995	0,995	1,184	0,993	
	2DER+SNV	5	0,992	0,992	0,996	0,995	
4-NF	SNV	5	0,993	0,993	1,137	0,961	
	1DER+SNV	5	0,990	0,990	1,109	0,960	
	2DER+SNV	6	0,990	0,990	0,859	0,975	
Fenóis Totais	SNV	5	0,993	0,993	1,137	0,960	
	1DER+SNV	4	0,992	0,992	0,939	0,991	
	2DER+SNV	4	0,997	0,997	0,903	0,962	
2 compostos (4-CF + F)	SNV	8	0,999	0,999	0,856	0,982	
	1DER+SNV	6	0,991	0,991	0,923	0,956	
	2DER+SNV	6	0,997	0,997	0,915	0,946	

Os dados obtidos para o eletrodo C (Tabela 12) mostraram que foi possível obter modelos PLS de previsão para o logaritmo decimal da concentração do composto 4-CF e das concentrações totais de compostos fenólicos e dos 2 compostos (4-CF e F), usando os voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV. Os resultados mostraram que, para estes parâmetros, o R^2 foi superior ou igual a 0,991 e os declives da relação entre os valores logaritmizados das concentrações previstas pelos modelos obtidos e os valores logaritmizados esperados estão próximos de 1,0 (1,01, 1,02 e 1,00, respectivamente). Para o composto 4-NF, obteve-se um modelo PLS de estimação usando os voltamogramas com pré-tratamento SNV, ou seja, não permitiram obter resultados de previsão aceitáveis para as amostras do grupo de teste, considerando que o declive é distante da unidade. Com este eletrodo não foi possível obter um modelo PLS que permitisse ter resultados de previsão aceitáveis para o F no grupo de teste usado (R^2 previsão $\leq 0,96$ para os pré-tratamentos usados), embora a informação presente no voltamograma tratado permita obter um modelo linear de estimação. Este composto pode ser quantificado indiretamente pela diferença entre a concentração total prevista dos dois compostos fenólicos (4-CF e F) e a concentração prevista para o 4-CF, que o eletrodo C permite obter.

Com o eletrodo C+Ag obtiveram-se resultados (Tabela 13) semelhantes aos obtidos com o eletrodo C, mas com modelos PLS obtidos usando voltamogramas com outro pré-tratamento, o SNV para a determinação da concentração total de fenóis e de 2 compostos, e 1DER+SNV para a determinação do 4-CF. A concentração de F também pode ser quantificada indiretamente pela diferença entre a concentração total prevista dos dois compostos fenólicos (4-CF e F) e a prevista para o 4-CF. Outra diferença esteve ao nível do pré-tratamento usado, que para este eletrodo prevalece o tratamento matemático SNV, exceto no ajuste das concentrações de 4-CF, cujo melhor modelo foi conseguido com o tratamento 1DER+SNV. De salientar que, com o pré-tratamento SNV, foi possível prever as concentrações do 4-NF de forma aceitável.

O eletrodo C+Al₂O₃ (Tabela 14) permitiu prever a concentração de F no grupo de teste, bem como as concentrações totais de compostos fenólicos e as concentrações totais de 2 compostos fenólicos (4-CF e F) usando modelos com os voltamogramas pré-tratados com 1DER+SNV, 1DER+SNV e SNV, respectivamente.

Não foi possível obter modelos PLS com resultados aceitáveis de previsão nas amostras do grupo de teste para os compostos 4-CF e 4-NF com o referido eletrodo.

Dos 4 eletrodos testados, o eletrodo CVIT (Tabela 15) mostrou menor capacidade analítica neste estudo, verificando-se que a informação presente nos seus voltamogramas permitiu obter modelos de estimação em todos os parâmetros quantitativos, mas somente para o F e concentração total de compostos fenólicos é que foi possível prever as concentrações das amostras presentes no grupo de teste. Nestes modelos usaram-se os voltamogramas com tratamento de 2DER+SNV e 1DER+SNV, respectivamente.

Globalmente, é de realçar que todos os compostos analisados mostraram modelos de treino bastante aceitáveis, pois para os três pré-tratamentos obtêm-se sempre valores superiores a 0,99 de coeficientes de determinação, que podem ser ainda maiores se se retirar a restrição de selecionar o modelo com o menor número de componentes principais. O fato de nos resultados de teste, em alguns dos compostos analisados, ter-se obtido valores de coeficiente de determinação inferiores a 0,99, é considerado ter-se problemas de variação (ruído) dentro dos ensaios efetuados. Possíveis correções aos modelos poderão ser efetuadas por repetição de ensaios laboratoriais. Esta variabilidade é explicada considerando os possíveis erros na preparação das soluções sintéticas de mistura dos três compostos, uma vez que se efetuaram muitos passos experimentais. É de salientar também que, a regressão linear usando o método PLS permitiu obter modelos de calibração lineares entre os níveis de 10^{-8} e 10^{-4} mol/L, indicativo que esta metodologia associada aos pré-tratamentos dos voltamogramas incrementa o desempenho analítico dos eletrodos voltamétricos. Embora não tenha sido objeto de estudo, é possível inferir que a calibração multivariada poderá permitir ir a níveis mais baixos de 10^{-8} mol/L, o que é confirmado pelos resultados obtidos na calibração individual de cada composto quando os voltamogramas de cada solução analisada foram subtraídos com a solução branco (Tabela 11).

Na Figura 17 representa-se um exemplo dos resultados obtidos para o eletrodo C na calibração para análise da concentração total dos compostos fenólicos, bem como da análise dos resíduos para validação do método PLS obtido. Esta é uma figura típica para um modelo PLS de previsão, ou seja, que permite previsão das

concentrações de um dado parâmetro analítico presente nas amostras do grupo de teste.

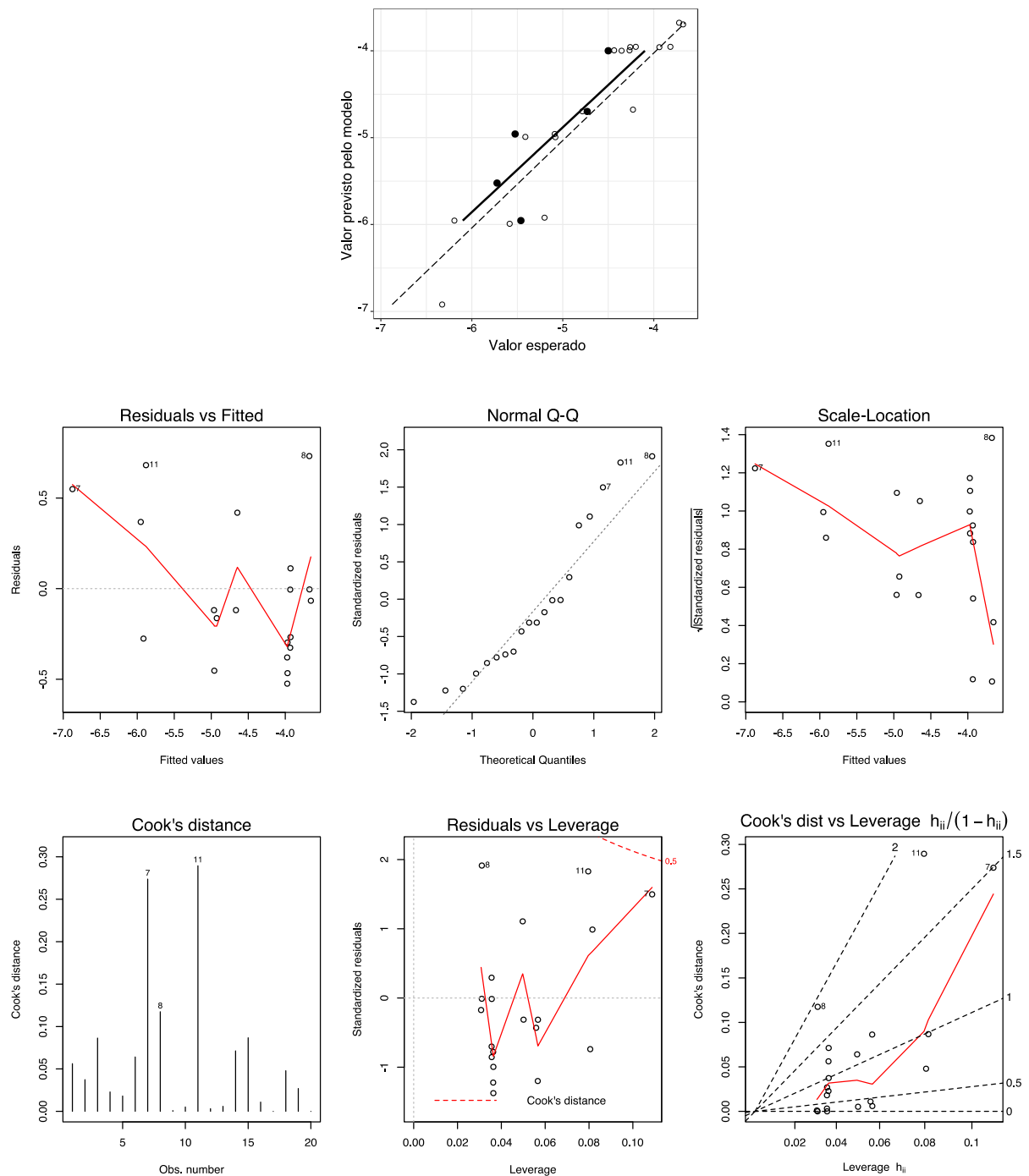


Figura 17 – Avaliação e validação da previsão do modelo PLS (6 PCs) na análise da concentração total dos compostos fenólicos usando voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV obtidos pelo elétrodo C.

O primeiro gráfico da Figura 17 mostra que os valores previstos pelo modelo PLS obtido pelo elétrodo C na determinação do logaritmo decimal da concentração

total de compostos fenólicos seguem uma tendência linear, quer para as amostras presentes no grupo de treino quer para as do grupo de teste. Embora seja visível uma variação nos resultados previstos em relação aos valores esperados, verificou-se pela normalidade dos resíduos, pela distribuição aleatória dos resíduos, pelos baixos valores de distância Cook ($\text{distância} < 0,3$) e de Leverage ($\text{leverage} < 0,2$) que não há indicação de presença de valores extremos. Por isso, o modelo pode ser validado e considerado robusto na sua capacidade de previsão (seção 1.4.3). Estes resultados são, em geral, os tipicamente obtidos nos modelos PLS onde se verificou a capacidade de previsão de concentrações nas amostras do grupo de teste.

3.2.5 Análise voltamétrica em águas naturais

Nesta seção pretende-se verificar a influência da matriz de diferentes amostras de água natural nos voltamogramas de onda quadrada usando os procedimentos definidos nos trabalhos anteriores. Neste âmbito, efetuaram-se testes com amostras de água da torneira, proveniente de um furo (água subterrânea) da Escola Superior Agrária de Bragança, de água superficial coletada no rio Fervença (Escola Agrária de Bragança) e água do mar (Praia de Leça). Nas Figuras 18, 19, 20 e 21 mostram-se os voltamogramas de cada elétrodo em estudo, após pré-tratamento 2DER+SNV, da solução branco (B), amostra (A) e amostra com adição de cada um dos compostos em análise (técnica de adição de padrão) de forma a ter uma concentração final de 1×10^{-2} mol/L (A+P). O tratamento matemático 2DER+SNV foi usado neste estudo para salientar as diferenças entre os três voltamogramas apresentados em cada gráfico (B, A e A+P). Mais, reduziu-se o intervalo de potencial exibido nos voltamogramas apresentados (intervalo de -0,5 a +1,2 V) para apenas realçar a zona onde as diferenças entre soluções são evidentes e, por isso, mais relevantes para cada elétrodo.

A Figura 18 mostra que o elétrodo C permite obter voltamogramas de onda quadrada semelhantes entre a solução branco e amostras de água da torneira e água do rio Fervença. A amostra de água do mar originou um voltamograma semelhante ao da solução branco no intervalo de potencial de -0,5 a +0,7 V, enquanto que se obtiveram diferenças acentuadas no intervalo de +0,7 a +1,2 V. Tal como se esperava, o 4-CF e F mostraram um comportamento voltamétrico semelhante nas amostras de água natural, mas com maior intensidade de sinal para o 4-CF; da adição do composto

4-NF, obteve-se um voltamograma com maior variação de sinal comparativamente aos voltamogramas das soluções branco e amostra, verificando-se também a sua influência em mais regiões do voltamograma que os outros dois compostos.

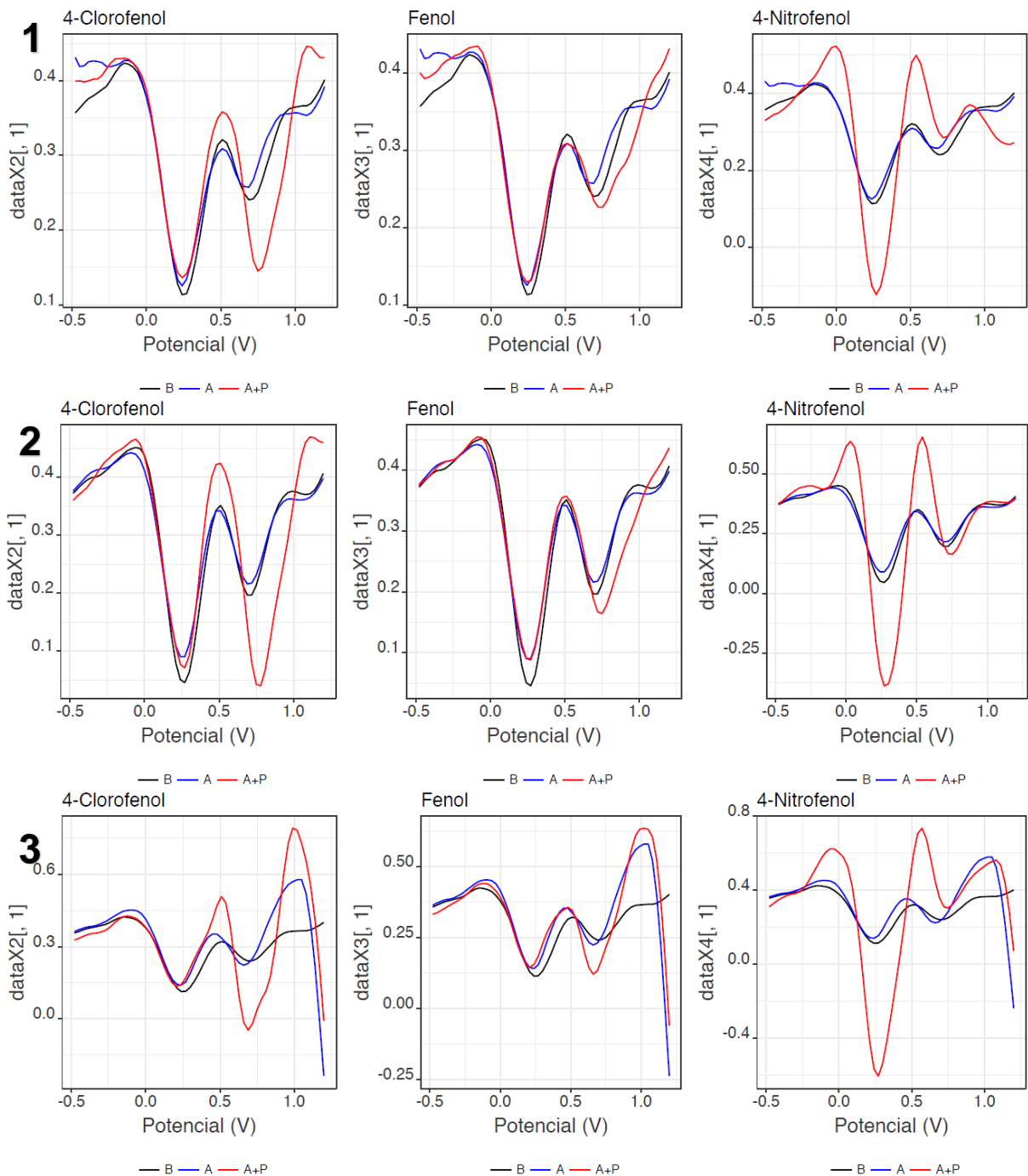


Figura 18 - Voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV do eléctrodo C para: 1) água da torneira (furo – ESA); 2) água do rio Fervença; 3) água do mar. B: branco; A: somente amostra; A+P: amostra com a solução de adição de padrão de 1×10^{-2} mol/L.

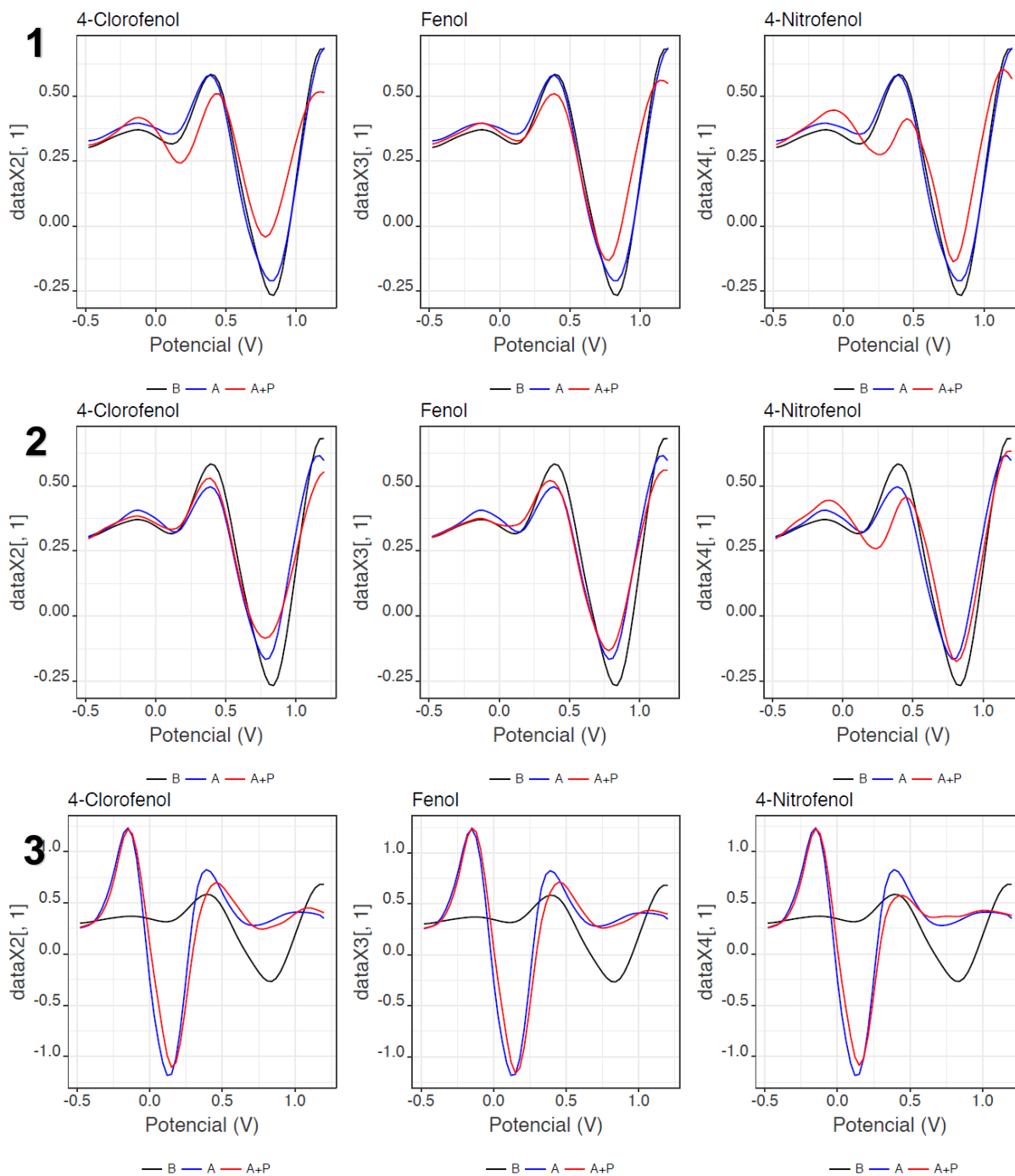


Figura 19 - Voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV do elétrodo C+Ag para: 1) água da torneira (furo – ESA); 2) água do rio Ferverença; 3) água do mar. B: branco; A: somente amostra; A+P: amostra com a solução de adição de padrão de 1×10^{-2} mol/L.

Globalmente, o elétrodo C+Ag (Figura 19) não permitiu evidenciar a presença dos compostos fenólicos nas amostras de águas naturais. As variações do sinal entre as soluções A e A+P são menores nos voltamogramas e, nos testes com água do mar, notou-se uma variação muito grande entre os voltamogramas obtidos com a solução branco e com a amostra, indicativo de que a matriz da água de mar não foi

“mascarada” com a solução tampão de acetato. Ou seja, entre o branco e a amostra, as diferenças de matriz são significativas.

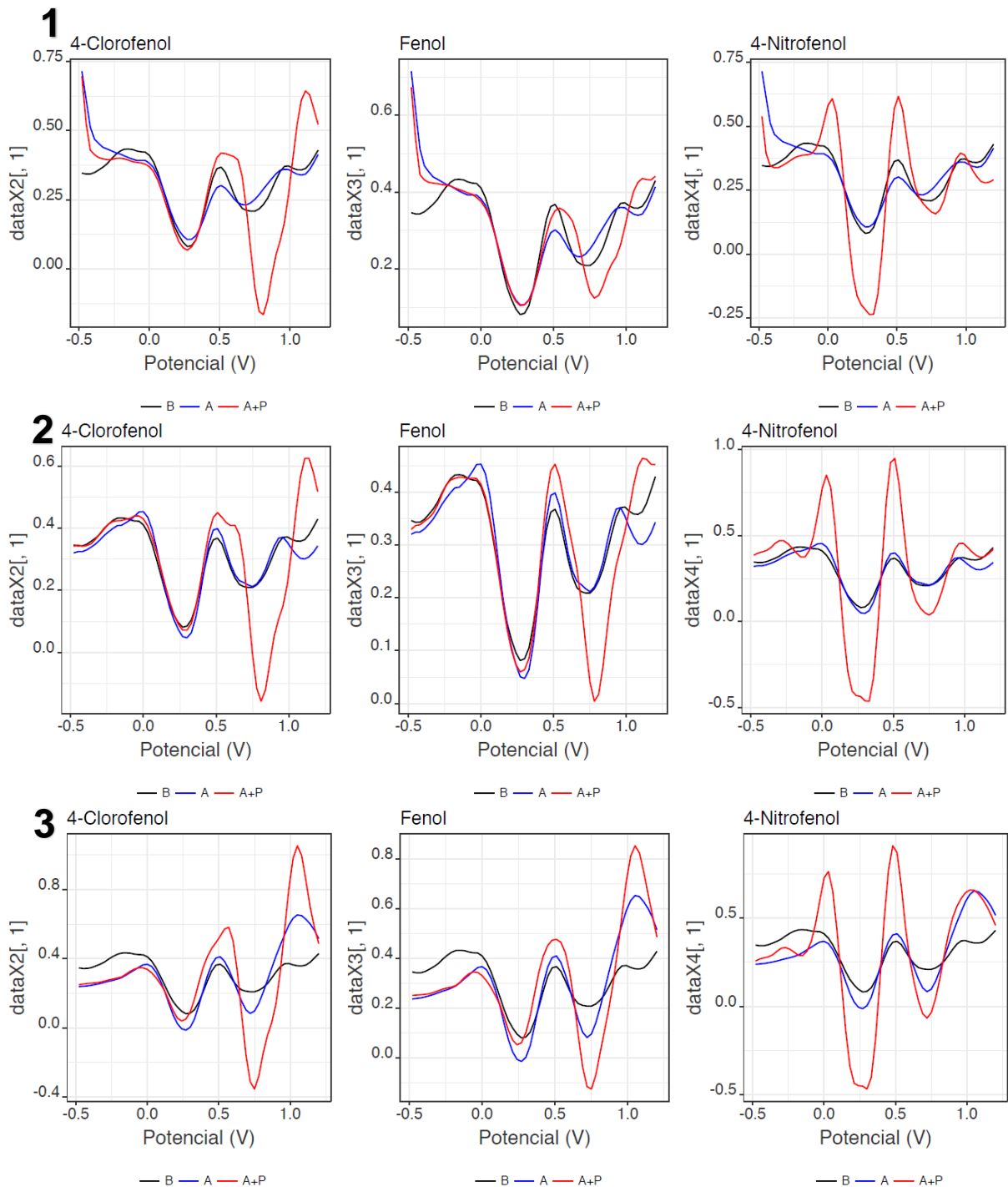


Figura 20 - Voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV do eléctrodo C+Al₂O₃ para: 1) água da torneira (furo – ESA); 2) água do rio Fervença; 3) água do mar. B: branco; A: somente amostra; A+P: amostra com a solução de adição de padrão de 1×10^{-2} mol/L.

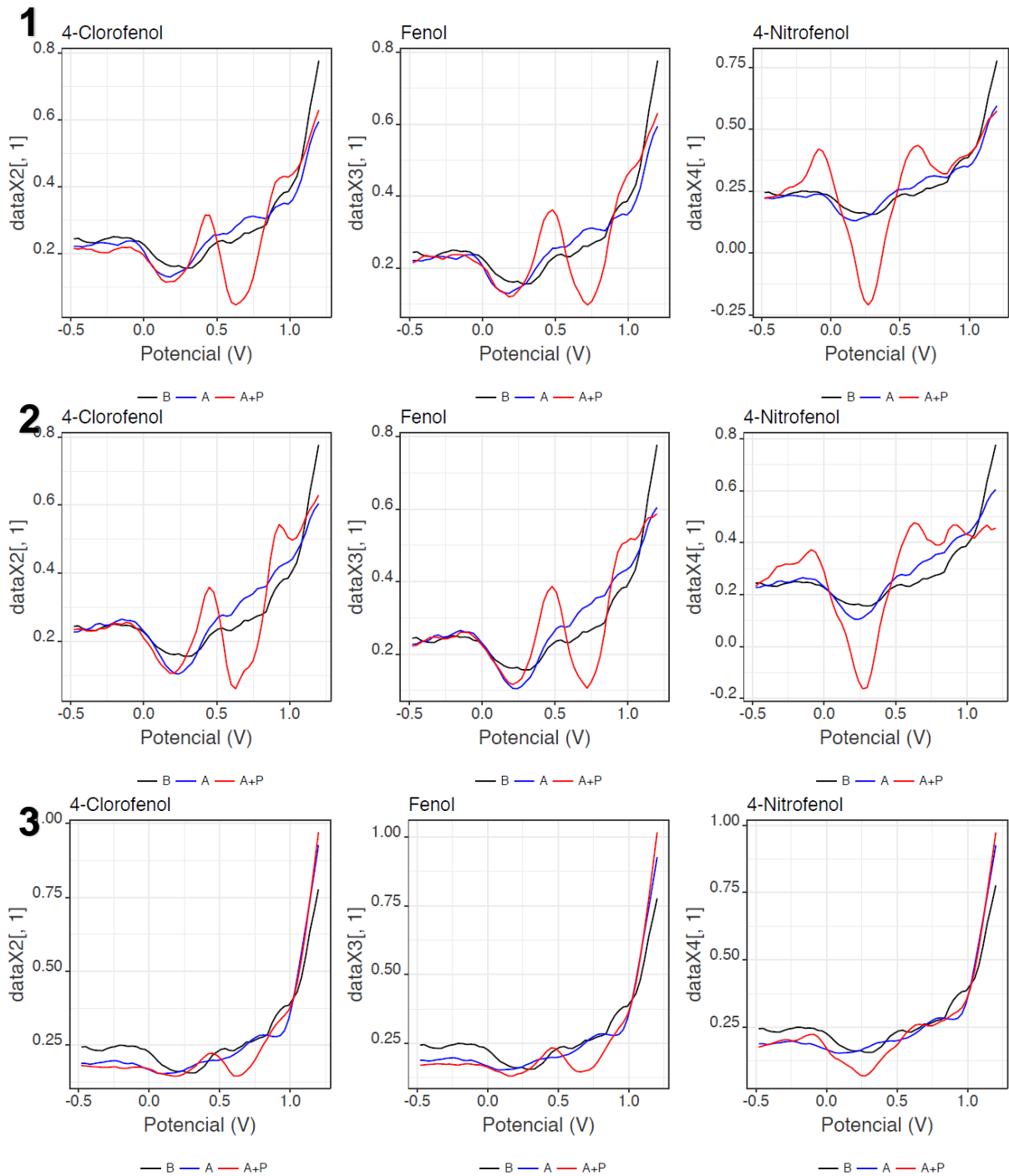


Figura 21 - Voltamogramas com pré-tratamento 2DER+SNV do elétrodo CVIT para: 1) água da torneira (furo – ESA); 2) água do rio Ferverça; 3) água do mar. B: branco; A: somente amostra; A+P: amostra com a solução de adição de padrão de 1×10^{-2} mol/L.

Em relação ao elétrodo $C+Al_2O_3$ (Figura 20), observou-se comportamentos muito semelhantes aos obtidos com o elétrodo C, principalmente em relação aos intervalos de potenciais onde se obtiveram as informações voltamétricas dos compostos fenólicos adicionados (-0,5 a +0,8 V) e onde se obteve a influência principal da matriz das águas naturais (+0,8 a +1,2 V). Da mesma forma, da adição dos

compostos fenólicos, 4-CF e F obtiveram voltamogramas com variações semelhantes, enquanto que da adição do 4-NF, os voltamogramas mostraram variações mais elevadas nos sinais e ter mais informação sobre a sua presença.

O elétrodo CVIT (Figura 21) mostrou-se menos sensível às diferenças entre as matrizes das 3 águas naturais testadas. No entanto, o incremento do sinal após a adição de cada padrão é bastante inferior ao obtido, quer com o elétrodo C quer com o elétrodo C+Al₂O₃, mas com perfis de variação semelhantes, exceto para a amostra de água de mar onde o composto 4-NF mostrou um comportamento eletroquímico diferente. Além disso, os voltamogramas apresentaram a presença de mais ruído.

De maneira geral, como era esperado, com o uso do pré-tratamento 2DER+SNV, permite-se incrementar a informação presente nos voltamogramas. De realçar que, nos voltamogramas obtidos por meio dos elétrodos C e C+Al₂O₃, verificaram-se comportamentos gerais muito semelhantes.

4 CONCLUSÃO

Neste estudo avaliou-se a capacidade analítica de 3 elétrodos compósitos de carbono, com e sem aditivo (C, C+Ag e C+Al₂O₃), e 1 eletrodo de carbono vítreo comercial na análise de três compostos fenólicos (calibrações individuais do 4-clorofenol, fenol e 4-nitrofenol). Usando voltamogramas obtidos por SWV com subtração da solução branco (diluição da solução tampão de acetato) obtiveram-se maiores intervalos dinâmicos, melhorando principalmente a análise a concentrações mais baixas. Os resultados mostraram que com o carbono vítreo, a concentração mais baixa no intervalo dinâmico era de 1×10^{-4} mol/L, o que dificulta a sua aplicação na análise dos compostos fenólicos em águas naturais pois, as contaminações podem ser a níveis inferiores deste valor. De qualquer maneira, verificou-se que mesmo com intervalos dinâmicos superiores nos elétrodos compósitos, o nível mais baixo do intervalo dinâmico se situa na concentração de 1×10^{-5} mol/L (elétrodos C e C+Ag) ou 1×10^{-6} mol/L (eletrodo C+Al₂O₃), mostrando uma menor resposta eletroquímica com os elétrodos testados da obtida para os outros compostos analisados. Para os compostos 4-CF e 4-NF, já foi possível analisar concentrações a níveis iguais ou inferiores a 1×10^{-7} mol/L, realçando que os níveis mais baixos foram obtidos com o eletrodo C+Al₂O₃. Para os elétrodos compósitos, salienta-se o fato de os elétrodos de C+Al₂O₃, C+Ag e C estarem ordenados de forma crescente na sensibilidade (declive), destacando-se o eletrodo C+Al₂O₃ por apresentar declives baixos e bastante distintos dos restantes elétrodos estudados.

Nos ensaios efetuados com soluções de mistura dos três compostos fenólicos, procurou-se obter modelos de previsão de 5 parâmetros: concentrações individuais do 4-clorofenol, fenol e 4-nitrofenol, concentração total dos três compostos fenólicos e concentração total de 2 compostos fenólicos (4-clorofenol + fenol). Os resultados mostraram que:

- em geral os elétrodos testados permitiram a análise de concentração total dos compostos fenólicos e dos 2 compostos fenólicos (4-CF e F), obtendo-se relações lineares entre as concentrações previstas para o modelo e as experimentais com declives próximos da unidade (valores de ordenada na origem não significativos) e coeficientes de determinação superiores a 0,991.
- devido à sobreposição da informação eletroquímica dos 3 compostos fenólicos testados, foi possível obter modelo de previsão para o 4-CF com os elétrodos C e

C+Ag (resultados de previsão no grupo de teste com declives a variar entre $1,005 \pm 0,004$ e $R^2=0,991$);

- para o F obteve-se modelos de previsão no grupo de teste com os elétrodos C+Al₂O₃ ($R^2=0,991$) e CVIT ($R^2=0,995$);

- os modelos de previsão de 4-NF permitiram prever corretamente as concentrações deste composto no grupo de teste com os elétrodos C e C+Ag ($R^2>0,993$).

Considerando o objetivo de aplicar estes elétrodos na análise de águas naturais, testou-se a influência no voltamograma da matriz das águas de furo, rio e mar. Verificou-se que a matriz de água de furo e rio não foi suficiente para alterar de forma acentuada o sinal voltamétrico quando comparado com o voltamograma obtido para a solução branco, com exceção da água do mar. Os resultados obtidos mostraram que os elétrodos com melhor comportamento analítico para a análise das diferentes águas naturais são o C e C+Al₂O₃, por terem garantido voltamogramas da solução branco semelhantes com os da amostra (sem padrão). Considerando as sensibilidades em relação aos compostos fenólicos testados, o eletrodo C é o selecionado para aplicações em águas naturais. O eletrodo CVIT não apresentou comportamento aceitável na água de mar e considerando os resultados anteriores, não é uma boa seleção para ser aplicado na análise de compostos fenólicos em águas naturais.

Em trabalho futuro, pretende-se aplicar o eletrodo C na análise de compostos fenólicos em águas naturais, com o objetivo de estabelecer procedimentos de controle e monitorização.

REFERÊNCIAS

- Adamski, J., Nowak, P., & Kochana, J. (2010). Simple sensor for the determination of phenol and its derivatives in water based on enzyme tyrosinase. *Electrochimica Acta*, 55(7), 2363-2367.
- Aleixo, L. M. (2003). *Voltametria: conceitos e técnicas*. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- Alkire, R. C., Bartlett, P. N., & Lipkowsky, J. (Eds.). (2015). *Electrochemistry of carbon electrodes* (Vol. 16). John Wiley & Sons.
- Anku, W. W., Mamo, M. A., & Govender, P. P. (2017). Phenolic Compounds in Water: Sources, Reactivity, Toxicity and Treatment Methods. In *Phenolic Compounds-Natural Sources, Importance and Applications*. InTech.
- Arca, V. C. (2016). *Quantificação de açúcares com uma língua eletrônica: calibração multivariada com seleção de sensores* (Tese de mestrado, Instituto Politécnico de Bragança).
- Bagheri, H., & Mohammadi, A. (2003). Pyrrole-based conductive polymer as the solid-phase extraction medium for the preconcentration of environmental pollutants in water samples followed by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, 1015(1), 23-30.
- Bagheri, H., Mohammadi, A., & Salemi, A. (2004). On-line trace enrichment of phenolic compounds from water using a pyrrole-based polymer as the solid-phase extraction sorbent coupled with high-performance liquid chromatography. *Analytical chemical acta*, 513(2), 445-449.
- Baird, C. (2001). *Química ambiental*. Reverté editora.
- Baranowska, I., & Bijak, K. (2010). Differential pulse voltammetry in analysis of disinfectants - 2-mercaptobenzothiazole, 4-chloro-3-methylphenol, triclosan, chloramine-T. *Central European Journal of Chemistry*, 8(6), 1266-1272.
- Bi, Y., Yuan, K., Xiao, W., Wu, J., Shi, C., Xia, J., Chu, G., Zhang, G. & Zhou, G. (2016). A local pre-processing method for near-infrared spectra, combined with spectral segmentation and standard normal variate transformation. *Analytica chimica acta*, 909, 30-40.
- Brereton, R. G. (2007). *Applied chemometrics for scientists*. John Wiley & Sons.
- Brett, A. (1993). *Eletroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*. Coimbra: Livraria Almeida.
- Bruce, R. M., Santodonato, J., & Neal, M. W. (1987). Summary review of the health effects associated with phenol. *Toxicology and Industrial Health*, 3(4), 535-568.

- Campanella, L., Beone, T., Sammartino, M. P., & Tomassetti, M. (1993). Determination of phenol in wastes and water using an enzyme sensor. *Analyst*, 118(8), 979-986.
- Castillo, M., Domingues, R., Alpendurada, M. F., & Barcelo, D. (1997). Persistence of selected pesticides and their phenolic transformation products in natural waters using off-line liquid solid extraction followed by liquid chromatographic techniques. *Analytica Chimica Acta*, 353(1), 133-142.
- Compton, R. G., Laborda, E., & Ward, K. R. (2014). *Understanding voltammetry: simulation of electrode processes*. Imperial College Press.
- Conzen, J. P. (2003). *Multivariate calibration: a practical guide for the method development in the analytical chemistry*. Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Germany.
- Duan, X., Tian, L., Liu, W., & Chang, L. (2013). Study on electrochemical oxidation of 4-Chlorophenol on a vitreous carbon electrode using cyclic voltammetry. *Electrochimica Acta*, 94, 192-197.
- Gonçalves, A. M. G. (2014). *Metanálise na previsão dos componentes corporais e da carcaça relacionados a medições ultra-sonográficas em caprinos e ovinos (Tese de mestrado, Instituto Politécnico de Bragança)*.
- Gupta, V. K., Jain, R., Agarwal, S., Mishra, R., & Dwivedi, A. (2011). Electrochemical determination of antihypertensive drug irbesartan in pharmaceuticals. *Analytical biochemistry*, 410(2), 266-271.
- Haimi, H., Mulas, M., Sahlstedt, K., & Vahala, R. (2009). *Advanced operation and control methods of municipal wastewater treatment processes in Finland*. Water and Wastewater Engineering, Helsinki University of Technology. Helsinki, Finland. ISBN, 978-951.
- Hammani, H., Boumya, W., Laghrib, F., Farahi, A., Lahrich, S., Aboulkas, A., & El Mhammedi, M. A. (2017). Electrocatalytic effect of NiO supported onto activated carbon in oxidizing phenol at graphite electrode: Application in tap water and olive oil samples. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 24, 26-33.
- Hu, S., Xu, C., Wang, G., & Cui, D. (2001). Voltammetric determination of 4-nitrophenol at a sodium montmorillonite-anthraquinone chemically modified glassy carbon electrode. *Talanta*, 54(1), 115-123.
- Igbinosa, E. O., Odjajare, E. E., Chigor, V. N., Igbinosa, I. H., Emoghene, A. O., Ekhaise, F. O., Igiehon, N. O. & Idemudia, O. G. (2013). Toxicological profile of chlorophenols and their derivatives in the environment: the public health perspective. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Ingildsen, P., & Olsson, G. (2002). Exploiting online in-situ ammonium, nitrate and phosphate sensors in full-scale wastewater plant operation. *Water science and technology*, 46(4-5), 139-147.

- Janegitz, B. C., Medeiros, R. A., Rocha-Filho, R. C., & Fatibello-Filho, O. (2012). Direct electrochemistry of tyrosinase and biosensing for phenol based on gold nanoparticles electrodeposited on a boron-doped diamond electrode. *Diamond and Related Materials*, 25, 128-133.
- Jauregui, O., & Galceran, M. T. (1997). Determination of phenols in water by on-line solidphase disk extraction and liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta*, 340(1-3), 191-199.
- Karaosmanoglu, H., Suthanthangjai, W., Travas-Sejdic, J., & Kilmartin, P. A. (2016). Electrochemical Analysis of Beverage Phenolics Using an Electrode Modified With Poly (3, 4-ethylenedioxiophene). *Electrochimica Acta*, 201, 366-373.
- Kawaguchi, M., Ishii, Y., Sakui, N., Okanouchi, N., Ito, R., Saito, K., & Nakazawa, H. (2005). Stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry for determination of chlorophenols in water and body fluid samples. *Analytica Chimica Acta*, 533(1), 57-65.
- Kulkarni, S. J., & Kaware, J. P. (2013). Review on research for removal of phenol from wastewater. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3(4), 1-5.
- Lee, L., Petter, S., Fayard, D., & Robinson, S. (2011). On the use of partial least squares path modeling in accounting research. *International Journal of Accounting Information Systems*, 12(4), 305-328.
- Li, J., Li, X., Yang, R., Qu, L., & Harrington, P. D. B. (2013). A sensitive electrochemical chlorophenols sensor based on nanocomposite of ZnSe quantum dots and cetyltrimethylammonium bromide. *Analytica chimica acta*, 804, 76-83.
- Limam, I., Guenne, A., Driss, M. R., & Mazéas, L. (2010). Simultaneous determination of phenol, methylphenols, chlorophenols and bisphenol-A by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry in water samples and industrial effluents. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 90(3-6), 230-244.
- Liu, Z., Liu, Y., Yang, H., Yang, Y., Shen, G., & Yu, R. (2005). A phenol biosensor based on immobilizing tyrosinase to modified core-shell magnetic nanoparticles supported at a carbon paste electrode. *Analytica Chimica Acta*, 533(1), 3-9.
- Maroco, J. (2007). *Análise estatística: com utilização do SPSS*. Ed. Sílabo, Lda. 3ª edição, Lisboa.
- Mathiyarasu, J., Joseph, J., Phani, K. L. N., & Yegnaraman, V. (2004). Electrochemical detection of phenol in aqueous solutions. *Indian Journal of Chemical Technology*, 11, 797-803.
- Mochão, J. V. C. (2015). *Modelação multivariada conjugada com espetroscopia NIR para a otimização de uma formulação contendo elevado teor em Vitamina C* (Tese de mestrado, Universidade de Lisboa).

- Mulchandani, P., Hangarter, C. M., Lei, Y., Chen, W., & Mulchandani, A. (2005). Amperometric microbial biosensor for p-nitrophenol using *Moraxella* sp.-modified carbon paste electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(3), 523-527.
- Nady, H., El-Rabiei, M. M., & El-Hafez, G. A. (2017). Electrochemical oxidation behavior of some hazardous phenolic compounds in acidic solution. *Egyptian Journal of Petroleum*, 26(3), 669-678.
- Negash, N., Alemu, H., & Tessem, A. M. (2015). Electrochemical Characterization and Determination of Phenol and Chlorophenols by Voltammetry at Single Wall Carbon Nanotube/Poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) Modified Screen Printed Carbon Electrode. *International scholarly research notices*.
- Neng, N. R., & Nogueira, J. M. (2014). Determination of phenol compounds in surface water matrices by bar adsorptive microextraction-high performance liquid chromatography-diode array detection. *Molecules*, 19(7), 9369-9379.
- Otles, S. (Ed.). (2016). *Handbook of food analysis instruments*. CRC Press.
- Otto, M. (2016). *Chemometrics: statistics and computer application in analytical chemistry*. John Wiley & Sons.
- Paasivirta, J., Heinola, K., Humpi, T., Karjalainen, A., Knuutinen, J., Mäntykoski, K., Paukku, R., Surma-Aho, J., Tarhanen, J., Welling, L., Vihonen, H. & Sarkka, J. (1985). Polychlorinated phenols, guaiacols and catechols in environment. *Chemosphere*, 14(5), 469-491.
- Peres, A. M., Sousa, M. E., Veloso, A. C., Estevinho, L., & Dias, L. G. (2016). Electrochemical sensors for assessing antioxidant capacity of bee products. *Chemistry, biology and potential applications of honeybee plant-derived products*. Bentham Science, 196-223.
- Pierson, H. O. (2012). *Handbook of carbon, graphite, diamonds and fullerenes: processing, properties and applications*. William Andrew.
- Piovesan, J. V., Jost, C. L., & Spinelli, A. (2015). Electroanalytical determination of total phenolic compounds by square-wave voltammetry using a poly (vinylpyrrolidone)-modified carbon-paste electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 216, 192-197.
- Ruano, M. V., Ribes, J., Seco, A., & Ferrer, J. (2009). Low cost-sensors as a real alternative to on-line nitrogen analysers in continuous systems. *Water Science and Technology*, 60(12), 3261-3268.
- Sakthnathan, S., Palanisamy, S., Chen, S. M., Wu, P. S., Yao, L., & Lou, B. S. (2015). Electrochemical detection of phenol in industrial pollutant absorbed molecular sieves by electrochemically activated screen printed carbon electrode. *Int. J. Electrochem. Sci*, 10, 3319-3328.

- Santos, D. P. D. (2012). Determinação eletroquímica de fenóis após processo de degradação de benzeno usando sensor à base de nanotubos de carbono-ftalocianina de cobalto (Tese de mestrado, Universidade de São Paulo).
- Scholz, F. (2010). *Electroanalytical methods*. Berlin-Heidelberg: Springer.
- Silva, M. F. C. G. (1998). Voltametria Cíclica—Aplicações ao Estudo de Mecanismos de Reações Induzidas por Transferência Electronica. *Técnicas Experimentais*, 70, 20-6.
- Silva, R. D. C. D. (2006). Preparação e aplicação de eletrodos de pasta de carbono modificados com ditiocarbamatos para análise de fármacos (Tese de doutoramento, Universidade de São Paulo).
- Souza, D., Machado, S. A., & Avaca, L. A. (2003). Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. *Química Nova*, 26(1), 81-89.
- Suliman, F. E. O., Al-Kindi, S. S., Al-Kindy, S. M., & Al-Lawati, H. A. (2006). Analysis of phenols in water by high-performance liquid chromatography using coumarin-6sulfonyl chloride as a fluorogenic precolumn label. *Journal of Chromatography A*, 1101(1), 179-184
- Svancara, I., Kalcher, K., Walcarious, A., & Vytras, K. (2012). *Electroanalysis with carbon paste electrodes*. CRC Press.
- Syvilay, D., Wilkie-Chancellier, N., Trichereau, B., Texier, A., Martinez, L., Serfaty, S., & Detalle, V. (2015). Evaluation of the standard normal variate method for Laser-Induced Breakdown Spectroscopy data treatment applied to the discrimination of painting layers. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 114, 38-45.
- Thomas, F & Henze, G. (2001). *Introduction to Voltametric analysis: Theory and practice*. Victoria: CSIRO.
- USEPA - United States Environmental Protection Agency (1986). Summary Review of the Health Effects Associated with Phenol: Health Issue Assessment. Disponível em: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=40772> (Acesso em: 09 fev. 2018).
- USEPA - United States Environmental Protection Agency (2009). Acute Exposure Guideline Levels For Selected Airborne Chemicals. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-11/documents/phenol_final_volume7_2009.pdf. (Acesso em: 06 fev. 2018).
- USEPA - United States Environmental Protection Agency (1975). Environmental Hazard Assessment Series: Chlorophenols. Disponível em: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/9100ARJJ.PDF?Dockkey=9100ARJJ.PDF>. (Acesso em: 01 fev. 2018).
- USEPA - United States Environmental Protection Agency (2014). Toxic and Priority Pollutants Under the Clean Water Act. Priority Pollutant List. Disponível em:

<https://www.epa.gov/eg/toxic-and-priority-pollutants-under-clean-water-act> (Acesso em: 19 fev. 2018).

Uskova, I., & Bulgakova, O. (2014). Cyclic voltammetry of phenol. *Journal of Analytical Chemistry*, 69(6), 542-547.

Vernasqui, L. G. (2017). Análise do fenol por voltametria cíclica: elétrodos compósitos de resina epoxídica, grafite e óxidos de metal (Tese de mestrado, Instituto Politécnico de Bragança).

Wallace, J. (1996). "Phenol" In: Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. 4th Ed.: John Wiley and Sons, New York, 592–602.

Wang, J. (2001). *Analytical electrochemistry*. John Wiley & Sons.

Wei, M., Tian, D., Liu, S., Zheng, X., Duan, S. & Zhou, C. (2014). Beta-Cyclodextrin functionalized graphene material: A novel electrochemical sensor for simultaneous determination of 2-chlorophenol and 3-chlorophenol. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 195, 452-458.

Worsley, K. J., Poline, J. B., Friston, K. J., & Evans, A. C. (1997). Characterizing the response of PET and fMRI data using multivariate linear models. *Neuroimage*, 6(4), 305-319.

Yin, H., Zhou, Y., Ai, S., Liu, X., Zhu, L., & Lu, L. (2010). Electrochemical oxidative determination of 4-nitrophenol based on a glassy carbon electrode modified with a hydroxyapatite nanopowder. *Microchimica Acta*, 169(1-2), 87-92.

Zhang, Y., Mei, M., Huang, X., & Yuan, D. (2015). Extraction of trace nitrophenols in environmental water samples using boronate affinity sorbent. *Analytica chimica acta*, 899, 75-84.