



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

THATYARA OLIVEIRA MONTEIRO

SENSORES FOTOELETROQUÍMICOS EXPLORANDO O
TETRACIANOETILENETO DE LÍTIO (LiTCNE) NA DETERMINAÇÃO
DO ANTIOXIDANTE TERC-BUTIL HIDROQUINONA (TBHQ)

SÃO LUÍS – MA

2017

THATYARA OLIVEIRA MONTEIRO

SENSORES FOTOELETROQUÍMICOS EXPLORANDO O
TETRACIANOETILENETO DE LÍTIO (LiTCNE) NA DETERMINAÇÃO
DO ANTIOXIDANTE TERC-BUTIL HIDROQUINONA (TBHQ)

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química da Universidade
Federal do Maranhão – UFMA, como requisito
para obtenção do título de Mestre em
Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Silva Luz.

SÃO LUÍS – MA

2017

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Monteiro, Thatyara Oliveira.

Sensores fotoeletroquímicos explorando o tetracianoetileneto de lítio LiTCNE na determinação do antioxidante terc-butil hidroquinona TBHQ / Thatyara Oliveira Monteiro. - 2017.

90 f.

Orientador(a): Rita de Cássia Silva Luz.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

1. Detecção de TBHQ. 2. LiTCNE. 3. Quantum dots CdSe/ZnS. 4. Sensor fotoeletroquímico. 5. TiO₂. I. Luz, Rita de Cássia Silva. II. Título.

THATYARA OLIVEIRA MONTEIRO

SENSORES FOTOELETROQUÍMICOS EXPLORANDO O
TETRACIANOETILENETO DE LÍTIO (LiTCNE) NA DETERMINAÇÃO
DO ANTIOXIDANTE TERC-BUTIL HIDROQUINONA (TBHQ)

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito para obtenção do
título de Mestre em Química.**

Instituição: Universidade Federal do Maranhão.

Área de Concentração: Química Analítica.

Data da aprovação: 01/09/2017

Dissertação aprovada pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dra. Rita de Cássia Silva Luz / Presidente
Departamento de Química//UFMA

Prof. Dra. Natilene Mesquita Brito / Examinadora
Departamento de Química/UFMA

Prof. Dr. Edmar Pereira Marques / Examinador
Departamento de Química//UFMA

*“Na vida, não existe nada que deva ser temido,
apenas ser compreendido. Agora é momento de
compreender mais para temer menos.”*

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela Sua presença viva em todos os momentos da minha vida, pela força contínua que me permitiu prosseguir em minha jornada, tanto pessoal quanto acadêmica;

Aos meus pais e minha irmã, os verdadeiros motivos desta minha caminhada, por todo o incentivo e compreensão;

À minha madrinha, que embora não esteja mais comigo, suas lições sempre estiveram e me ajudaram bastante em todos os momentos desta etapa;

Ao Dayvison, sem dúvida a pessoa que mais insistiu para que eu iniciasse esta etapa do meu crescimento acadêmico, agradeço por todo o amor, incentivo, dedicação, compreensão e companheirismo;

À Prof. Dra. Rita de Cássia Silva Luz, pela orientação neste trabalho e especialmente pela confiança depositada em mim, por todos os ensinamentos compartilhados, pela paciência, pela constante disposição em me auxiliar e pela valiosa oportunidade de crescimento acadêmico e profissional;

Ao Prof. Dr. Flávio Santos Damos, pelos ensinamentos e contribuições importantes para o desenvolvimento deste trabalho;

Aos amigos do Laboratório de Sensores, Dispositivos e Métodos Analíticos (LabS), por todo o incentivo e cooperação, pela parceria, pelo convívio harmonioso e pelas discussões científicas que contribuíram para o meu crescimento, e especialmente agradeço àqueles que sempre me acompanharam, pelos bons momentos de descontração e pela amizade construída;

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Química da UFMA, pela cooperação e experiências compartilhadas, sempre de grande ajuda;

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

Monteiro, T. O. **Sensores fotoeletroquímicos explorando o tetracianoetileneto de lítio (LiTCNE) na determinação do antioxidante terc-butil hidroquinona (TBHQ)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química – Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2017.

Dois novos e pioneiros sensores fotoeletroquímicos foram desenvolvidos para determinação de tert-butil hidroquinona (TBHQ) em amostras de biodiesel e de óleo comestível. O primeiro baseado no compósito formado por nanopartículas de TiO_2 e tetracianoetileneto de lítio (LiTCNE), e o segundo baseado na sensibilização de quantum dots CdSe/ZnS com o LiTCNE. Em ambos os casos utilizou-se como eletrodo de trabalho o óxido de índio e estanho (ITO) como superfície eletródica. O sensor à base de LiTCNE/ TiO_2 /ITO apresentou uma fotocorrente para o TBHQ cerca de 28 vezes mais elevada que o sensor à base de TiO_2 . O mesmo foi observado para o sensor à base de CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, que apresentou fotocorrente para o TBHQ cerca de 13 vezes maior do que a apresentada pelo eletrodo modificado com CdSe/ZnS. Ambos os sensores desenvolvidos apresentaram baixa resistência à transferência de carga em comparação a seus componentes não sensibilizados. Também demonstraram grande seletividade ao TBHQ, com alta fotocorrente para esse composto em comparação às respostas de fotocorrente para outros antioxidantes fenólicos. As condições experimentais otimizadas para ambos os sensores desenvolvidos foram, respectivamente: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato pH 7,0 e potencial aplicado ao eletrodo de trabalho de 450 mV, para o sensor LiTCNE/ TiO_2 /ITO, e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato pH 6,0, e potencial de 400 mV, para o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO. Nessas condições, os sensores apresentaram faixa linear de resposta de TBHQ entre 0,4 a $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para sensor LiTCNE/ TiO_2 /ITO e entre 0,6 a $250 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, apresentando limites de detecção de 0,10 e $0,21 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O sensor LiTCNE/ TiO_2 /ITO foi aplicado em amostras de biodiesel para determinação de TBHQ usando método de adição de padrão, mostrando valores de recuperação entre 96,8 e 98,2%. Já o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foi aplicado em amostras de óleo comestível para detecção de TBHQ usando método de calibração externa, com valores de recuperação entre 98,25 e 99,83%. Os sensores fotoeletroquímicos foram empregados com sucesso para determinação de antioxidante TBHQ em amostras reais de biodiesel e óleo vegetal.

Palavras-chave: Detecção de TBHQ; sensor fotoeletroquímico; TBHQ; LiTCNE; TiO_2 ; quantum dots CdSe/ZnS; biodiesel; óleo comestível.

ABSTRACT

Monteiro, T. O. **Photoelectrochemical sensors exploring lithium tetracyanoethylene (LiTCNE) for determination of tert-butyl hydroquinone (TBHQ) antioxidant.** 2017. Dissertation. Stricto Sensu Post-Graduate Program in Chemistry – Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2017.

Two novel and pioneering photoelectrochemical sensors were developed for determination of tert-butyl hydroquinone (TBHQ) in biodiesel and edible oil samples. The former based on composite formed by TiO_2 nanoparticles and lithium tetracyanoethylene (LiTCNE), and the last based on the sensitization of CdSe/ZnS quantum dots with LiTCNE. In both cases, indium tin oxide (ITO) was used as the work electrode surface. The LiTCNE/ TiO_2 /ITO sensor showed a TBHQ photocurrent about 28-fold higher than the TiO_2 sensor. The same was observed for the CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO sensor, which presented a photocurrent for TBHQ about 13-fold higher than that presented by the electrode modified with CdSe/ZnS. Both developed sensors showed lower resistance to charge transfer than their non-sensitized components. They also demonstrated high selectivity to TBHQ, with high photocurrent for this compound in comparison to photocurrent responses to other phenolic antioxidants. The experimental conditions optimized for both sensors were: 0.1 mol L^{-1} of phosphate buffer solution pH 7.0 and applied potential to the working electrode of 450 mV, for the LiTCNE/ TiO_2 /ITO sensor, and 0.1 mol L^{-1} of phosphate buffer solution pH 6.0, and potential of 400 mV for the CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO sensor. In these conditions, the sensors presented a linear range of TBHQ response between 0.4 and $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ for LiTCNE/ TiO_2 /ITO sensor and between 0.6 and $250 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ for the CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO sensor, with limits of detection of 0.10 and $0.21 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The LiTCNE/ TiO_2 /ITO sensor was applied in biodiesel samples for determination of TBHQ using standard addition method, showing recovery values between 96.8 and 98.2%. The CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO sensor was applied in edible oil samples to detect TBHQ using an external calibration method, with recovery values between 98.25 and 99.83%. The photoelectrochemical sensors were successfully used to determine the TBHQ antioxidant in real samples of biodiesel and vegetable oil.

Keywords: TBHQ detection; photoelectrochemical sensor; LiTCNE; TiO_2 ; CdSe/ZnS quantum dots; biodiesel; edible oil.

LISTA DE ABREVIATURAS

A*	radical antioxidante
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AuNPs	nanopartículas de ouro
b	coeficiente de regressão angular da curva analítica/sensibilidade
BATCI	bandas de absorção de transferência de carga interfacial
BC	banda de condução
BDD	eletrodo de diamante dopado com boro
BHA	butil hidroxianisol
BHT	butil hidroxitolueno
B-R	solução tampão Britton-Robinson
BV	banda de valência
Ch	monocamada de colina
CSSCs	células solares sensibilizadas por corantes
CTC	complexos de transferência de carga
DMF	N,N-dimetilformamida
DPR	desvio padrão relativo
e^-/h^+	par elétron-buraco
E_{aplic}	potencial aplicado
ECV	eletrodo de carbono vítreo
E_g	bandgap
EGPM	eletrodo de gota pendente de mercúrio
ERGO	óxido de grafeno eletroquimicamente reduzido
ESP	eletrodo <i>screen-printed</i>
FEQ	fotoeletroquímica
GN	grafeno
HEPES	2-[4-(2-hidroxietil)piperazina]-ácido etanossulfônico
HOMO	orbital ocupado mais energético
HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência
$I_{\text{fotocorrente}}$	fotocorrente anódica
ITO	óxido de índio e estanho
LD	limite de detecção
LiTCNE	tetracianoetileneto de lítio
LQ	limite de quantificação
LUMO	orbital vazio menos energético

NTCPMs	nanotubos de carbono de paredes múltiplas
NTCPUs	nanotubos de carbono de parede única
PA	pirogalol
PG	propil galato
pKa	potencial de constante de acidez
Pt:PPy:NiPcTs	eletrodo de polipirrol modificado com ftalocianina de níquel
QDs	quantum dots
R*	radical alílico
R ²	coeficiente de correlação
ROO*	radical peróxido
S	sensibilizador no estado fundamental
S*	sensibilizador no estado excitado
STF	solução tampão fosfato
TBBQ	terc-butil benzoquinona
TBHQ	terc-butil hidroquinona
TCNAQ	tetracianonaftoquinodimetano
TCNE	tetracianoetileno
TCNQ	tetracianquinodimetano
TCNX	compostos bis(dicianometileno)
VDP	voltametria de pulso diferencial
VOQ	voltametria de onda quadrada
VVL	voltametria de varredura linear
σ_{bl}	desvio padrão das medidas do branco

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema geral do mecanismo de auto-oxidação lipídica.....	p.7
Figura 2. Estrutura química dos ácidos graxos com ligações <i>cis</i> e <i>trans</i>	p.11
Figura 3. Mecanismo de ação de antioxidantes primários.....	p.12
Figura 4. Estrutura química dos principais antioxidantes fenólicos sintéticos.....	p.13
Figura 5. Esquema para a oxidação de TBHQ em TBBQ.....	p.14
Figura 6. Orbitais eletrônicos e formação de par e^-/h^+ em uma molécula S após absorção de luz.....	p.19
Figura 7. Bandas de valência e de condução de um semicondutor e formação do par e^-/h^+	p.19
Figura 8. Geração de fotocorrente a) anódica e b) catódica em um sensor fotoeletroquímico.....	p.21
Figura 9. Mecanismo de geração de fotocorrente em composto de TiO_2 -sensibilizador...	p.23
Figura 10. Deslocamento do pico de emissão fluorescente relacionado ao aumento do tamanho dos QDs.....	p.24
Figura 11. Estruturas químicas dos compostos TCNX: a) TCNE e b) TCNQ.....	p.26
Figura 12. Mecanismo de formação do complexo TiO_2 -TCNQ.....	p.27
Figura 13. Esquema do sistema fotoeletroquímico utilizado. A) Potenciostato/galvanostato; B) Microcomputador; C) Lâmpada LED visível; D) Eletrodo de trabalho; E) Eletrodo de referência; F) Eletrodo auxiliar.....	p.29
Figura 14. Respostas de fotocorrente do sensor $LiTCNE/TiO_2/ITO$ na (1) ausência de TBHQ e na (2) presença de $0,1\text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ, em solução $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato pH 7,0. $E_{aplic} = 250\text{ mV vs. Ag/AgCl saturado}$	p.36

Figura 15. Respostas de fotocorrente para TBHQ $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato pH 7,0 em (1) sensor LiTCNE/TiO₂/ITO e em (2) sensor TiO₂/ITO. $E_{\text{aplic}} = 250 \text{ mV vs. Ag/AgCl saturado}$p.37

Figura 16. Respostas de fotocorrente do sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO na (1) ausência de TBHQ e na (2) presença de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ, em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0. $E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV vs. Ag/AgCl saturado}$p.38

Figura 17. Respostas de fotocorrente para $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato pH 7,0 em (1) sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO e em (2) sensor CdSe/ZnS/ITO. $E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV vs. Ag/AgCl saturado}$p.38

Figura 18. Efeito das fotocorrentes dos antioxidantes BHA e BHT na fotocorrente do TBHQ, em eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO.....p.40

Figura 19. Efeito das fotocorrentes dos antioxidantes BHA e BHT sobre a resposta do fotocorrente do TBHQ, em eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.....p.41

Figura 20. Espectros de impedância eletroquímica para os fotoeletrodos LiTCNE/TiO₂/ITO e TiO₂/ITO em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de Na₂SO₄ sob iluminação LED visível.....p.42

Figura 21. Espectros de impedância eletroquímica para os fotoeletrodos CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO e CdSe/ZnS/ITO sob iluminação LED visível em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl de uma solução contendo 5 mmol L^{-1} de $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{3-/4-}$p.43

Figura 22. Espectros de impedância eletroquímica para o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO em potencial de circuito aberto na ausência e na presença de luz LED visível.....p.44

Figura 23. Espectros UV-Visível para os compostos TiO₂, LiTCNE e LiTCNE/TiO₂.....p.45

Figura 24. Influência do pH da solução na resposta de fotocorrente de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em sensor LiTCNE/TiO₂/ITO. $E_{\text{aplic}} = 250 \text{ mV vs. Ag/AgCl sat.}$p.46

Figura 25. Influência do pH da solução na resposta de fotocorrente de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO. $E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV vs. Ag/AgCl sat.}$p.46

Figura 26. Influência do tipo de solução tampão sobre a fotocorrente para $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ no: (a) sensor LiTCNE/TiO₂/ITO ($E_{\text{aplic}} = 250 \text{ mV}$) e (b) sensor CdSe/ZnSQ/LiTCNE/ITO ($E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV}$).....p.48

Figura 27. Influência do potencial aplicado na resposta de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato, pH 7,0, com o eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO.....p.49

Figura 28. Influência do potencial aplicado na resposta de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0, em eletrodo de CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.....p.50

Figura 29. (a) Respostas de fotocorrente de TBHQ em eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO nas condições otimizadas, nas concentrações de $0,4$ a $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (b) Curva analítica obtida. $E_{\text{aplic}} = 450 \text{ mV vs. Ag/AgCl sat.}$p.51

Figura 30. (a) Respostas de fotocorrente de TBHQ nas condições otimizadas em eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, nas concentrações de $0,6$ a $400 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (b) Curva analítica obtida. $E_{\text{aplic}} = 400 \text{ mV vs. Ag/AgCl.}$p.52

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Comparação dos parâmetros analíticos de diferentes sensores para determinação de TBHQ.....p.53
- Tabela 2.** Avaliação da repetibilidade das medidas obtidas com eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato, pH 7,0, contendo 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ.....p.53
- Tabela 3.** Avaliação da repetibilidade das medidas obtidas com eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato, pH 6,0 contendo 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ.....p.54
- Tabela 4.** Avaliação da repetibilidade do preparo do sensor LiTCNE/TiO₂/ITO. Medidas obtidas em solução 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ nas condições otimizadas.....p.54
- Tabela 5.** Avaliação da repetibilidade do preparo do sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO. Medidas obtidas em solução 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ nas condições otimizadas.....p.54
- Tabela 6.** Valores de concentração de TBHQ encontrados nas amostras de biodiesel empregando sensor LiTCNE/TiO₂/ITO e porcentagens de recuperação.....p.56
- Tabela 7.** Valores de concentração de TBHQ encontrados nas amostras de óleo vegetal empregando o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO e porcentagens de recuperação.....p.57

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE ABREVIATURAS	iii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	v
LISTA DE TABELAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Estabilidade oxidativa	6
3.1.1. Biodiesel	8
3.1.2. Óleos comestíveis	9
3.1.3. Antioxidantes sintéticos	11
3.1.4. Terc-butil hidroquinona (TBHQ)	13
3.2. Sensores eletroquímicos aplicados para a quantificação de TBHQ	16
3.3. Sensores fotoeletroquímicos	18
3.3.1. Materiais fotoeletroquimicamente ativos	21
3.3.2. Quantum Dots	23
3.3.3. Complexos de transferência de carga à base de compostos TCNX	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1. Reagentes e soluções	28
4.2. Instrumentação	28
4.3. Construção dos sensores fotoeletroquímicos	29
4.3.1. Preparo do fotosensor LiTCNE/TiO ₂ /ITO	29
4.3.2. Preparo do fotosensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO	30
4.4. Estudo do comportamento eletroquímico dos sensores fotoeletroquímicos	30
4.4.1. Na presença e na ausência de TBHQ	30
4.4.2. Avaliação da resposta fotoeletroquímica de outros antioxidantes frente à resposta do TBHQ	30

4.4.3. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica dos sensores desenvolvidos e estudo espectrofotométrico	31
4.5. Otimização dos parâmetros experimentais e operacionais do sistema fotoeletroquímico	31
4.5.1. pH	32
4.5.2. Solução tampão	32
4.5.3. Potencial aplicado	32
4.6. Caracterização analítica dos sensores para a detecção de TBHQ	32
4.7. Avaliação da repetibilidade de medidas e da repetibilidade do preparo do sensor	33
4.8. Tratamento das amostras para as medidas fotoeletroquímicas	33
4.9. Determinação de TBHQ nas amostras analisadas empregando os sensores fotoeletroquímicos e testes de adição e recuperação	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1. Estudo do comportamento eletroquímico dos sensores fotoeletroquímicos na presença e ausência de TBHQ	36
5.2. Avaliação da resposta fotoeletroquímica de outros antioxidantes frente à resposta do TBHQ	39
5.3. Caracterização dos materiais que compõem o sensor por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica e estudo espectrofotométrico com radiação Ultravioleta visível (UV-vis)	41
5.4. Otimização dos parâmetros experimentais e operacionais do sistema fotoeletroquímico	45
5.4.1. pH	45
5.4.2. Solução tampão	47
5.4.3. Potencial aplicado	48
5.5. Caracterização analítica dos sensores fotoeletroquímicos para a detecção de TBHQ	50
5.6. Avaliação da repetibilidade de medidas e da repetibilidade do preparo dos sensores	53
5.7. Determinação de TBHQ em amostras de biodiesel e amostras de óleos comestíveis e Testes de adição e recuperação	55

6. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXOS	78

Anexo I – Artigo: Development of a photoelectrochemical sensor for detection of TBHQ antioxidant based on LiTCNE-TiO₂ composite under visible LED light.

Anexo II – Artigo: Photoelectrochemical determination of tert-butylhydroquinone in edible oil samples employing CdSe/ZnS quantum dots and LiTCNE.

1. INTRODUÇÃO

A constante evolução da ciência e tecnologia exige, nas mais diversas áreas do conhecimento humano, uma evolução permanente dos métodos analíticos para aplicação nos mais variados tipos de amostras. O grande desafio no que diz respeito ao desenvolvimento desses novos métodos é o desenvolvimento de dispositivos que permitam uma rápida detecção do analito, grande seletividade, alta sensibilidade e custo acessível, principalmente quando se trata de análises envolvendo amostras complexas, tais como os óleos combustíveis e comestíveis.

O biodiesel é um combustível biodegradável derivado de fontes renováveis formado por ésteres de ácidos graxos, obtido comumente a partir da reação química de óleos vegetais ou gorduras animais com um álcool na presença de um catalisador (DUNN, 2005; BORSATO et al., 2014). Este oferece menos emissões nocivas quando comparado com o diesel de petróleo (TANG et al., 2008; KARAVALLAKIS et al., 2011; BERRIOS et al., 2010; DE GUZMAN et al., 2009; KNOTHE et al., 2006). Ao contrário do diesel fóssil, a sua natureza química o torna mais suscetível à oxidação ou propriamente a auto-oxidação quando submetido a um longo prazo de armazenamento. Atualmente esta questão é de suma importância, pois envolve toda a cadeia logística do biodiesel: do produtor até o consumidor final, fato que tem levado grupos de pesquisadores para a resolução deste problema, e conseqüentemente, é uma das amostras mais analisadas por diversos laboratórios de pesquisa.

Outro tipo de óleo que também tem despertado o interesse de um grande número de pesquisadores são os óleos comestíveis, os quais consistem principalmente de lipídios cujas características químicas os tornam suscetíveis a processos de oxidação envolvendo reações radicalares em cadeia. Tais reações conduzem à rancidez do alimento e à formação de substâncias como aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos, que afetam a qualidade do alimento e colocam em risco a saúde humana. Para garantir a estabilidade e conseqüentemente a qualidade desses alimentos, assim como do biodiesel, é fundamental a utilização de aditivos antioxidantes. Eles retardam o início da reação de oxidação, pois reagem com os radicais livres formando compostos estáveis e, assim, impossibilitam a propagação das reações em cadeia de formação dos compostos oxidados.

Antioxidantes tais como tocoferóis, esteróis e tocotrienóis ocorrem naturalmente nos óleos vegetais. Neste caso, tem sido relatado que o nível de antioxidantes naturais pode ser fortemente afetado pelo processo de produção do biodiesel e pelo processo de refino dos óleos vegetais. Processos de produção que inclui uma etapa de destilação para a purificação dos ésteres metílicos pode deixar pouco ou nenhum antioxidante natural no produto final e assim, levar a um biodiesel menos estável (KNOTHE et al., 2006; TANG et al., 2008). Portanto, dependendo do grau de remoção destes compostos em tais produtos e especialmente o grau de insaturação dos ésteres no biodiesel, o uso de aditivos antioxidantes sintéticos pode ser considerado como uma necessidade.

Os antioxidantes mais comumente utilizados em biodiesel e óleos vegetais são os antioxidantes fenólicos, tais como terc-butil hidroquinona, butil-hidroxitolueno, butil-hidroxianisol, propil-galato e pirogalol (KARAVALLAKIS et al., 2011). Considerando a capacidade de preservar a eficiência do biodiesel, bem como a qualidade do óleo comestível, nota-se que tais parâmetros estão diretamente relacionados à presença destes antioxidantes. Portanto, o monitoramento das concentrações de antioxidantes nestas amostras é de extrema importância, uma vez que permite controlar, rigorosamente, a qualidade do produto comercializado no país (BATISTA et al., 2013; CARAMIT et al., 2013; YAAKOB et al., 2014). Para este controle, faz-se necessário o uso de métodos analíticos altamente sensíveis, seletivos e confiáveis, capazes de quantificar estas substâncias mesmo quando as mesmas estiverem presentes em baixas concentrações.

Diversos métodos analíticos têm sido empregados para identificar e quantificar antioxidantes, dentre os quais destacam-se os métodos cromatográficos (TAKEMOTO et al., 2009) e voltamétricos (CEBALLOS & FERNANDÉZ, 2000; 2000). Neste sentido, a quantificação de compostos orgânicos utilizando técnicas cromatográficas fornece resultados com limite de detecção na faixa de nanogramas a microgramas por litro, dependendo do detector utilizado e da técnica de extração. No entanto, são técnicas que dependem de um longo tempo nas etapas iniciais para preparação das amostras, utilizam maior quantidade de reagentes e a instrumentação geralmente é mais dispendiosa financeiramente, o que eleva o custo das análises.

As técnicas eletroanalíticas constituem-se em uma poderosa ferramenta para as análises químicas, especialmente por apresentarem características

vantajosas como a elevada sensibilidade das determinações, dependendo do método eletroanalítico empregado, custo moderado e portabilidade (BRETT & BRETT, 1998; WANG, 2000; BARD & FAULKNER, 2001). Assim, uma das principais vantagens das técnicas eletroquímicas em relação às técnicas cromatográficas é que nesta última geralmente existe a necessidade de derivatização do analito na amostra, o que aumenta a possibilidade de contaminação da mesma ou mesmo o tempo de análise.

Dentro dos métodos eletroanalíticos, uma área que vem se destacando imensamente é a de sensores eletroquímicos. Desde que começaram a ser utilizados, estes dispositivos têm permitido a melhoria das execuções com os instrumentos analíticos convencionais, diminuindo o tempo de preparação e a utilização de reagentes dispendiosos, permitindo a utilização de instrumentos analíticos de baixo custo.

Neste contexto, uma nova classe de sensores eletroquímicos, denominados sensores fotoeletroquímicos, tem despertado o interesse de um grande número de pesquisadores. O mecanismo de detecção desses sensores é baseado na mudança fotocorrente/fotopotencial, que é causada pelas interações físicas/químicas entre os analitos e os materiais fotoeletroquímicos (ZHANG et al., 2011). Assim sendo, um sensor fotoeletroquímico é um novo tipo de dispositivo analítico baseado nas propriedades fotoeletroquímicas de materiais, principalmente materiais semicondutores. Devido às suas notáveis características, tais como sensibilidade, possibilidade de miniaturização e portabilidade, estes tipos de análises fotoeletroquímicas estão se tornando muito promissoras, principalmente para aplicações analíticas (ZHANG et al., 2011), indicando uma gama de interessantes aplicações.

O uso de materiais fotoeletroquimicamente ativos que otimizem a geração de fotocorrente/fotopotencial é um fator extremamente importante para o desenvolvimento de sensores fotoeletroquímicos (WANG et al., 2009). Dentre estes materiais, estão incluídos os complexos de transferência de carga (CTC), os quais consistem em compostos orgânicos combinados com materiais inorgânicos semicondutores, como dióxido de titânio (TiO_2), ou mesmo a combinação de dois semicondutores inorgânicos. O uso de complexos de transferência de carga utilizando os compostos bis(cianometileno) (TCNX) tem demonstrado significativa

eficiência na conversão de fotocorrente em comparação aos demais tipos de materiais, ganhando destaque no desenvolvimento de sensores fotoeletroquímicos.

Neste sentido, o presente trabalho descreve o desenvolvimento de dois sensores fotoeletroquímicos para detecção do antioxidante TBHQ em amostras de biodiesel e de óleo comestível, em busca de sistemas com alta estabilidade, sensibilidade e seletividade. Para ambos os fotosensores utilizou-se como eletrodo de trabalho o óxido de índio e estanho (ITO). Em ambos os sensores utilizou-se como agente sensibilizador um complexo de transferência de carga, o tetracianoetileneto de lítio (LiTCNE), inicialmente sobre dióxido de titânio (TiO_2) (primeiro fotosensor), e sepois sobre um quantum dot core-shell formado por sulfeto de zinco e seleneto de cádmio (CdSe/ZnS) (segundo fotosensor).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver sensores fotoeletroquímicos à base de um complexo de transferência de carga (CTC), o tetracianoetileneto de lítio (LiTCNE) e semicondutores inorgânicos – TiO_2 e o quantum dot CdSe/Zn, para detecção do antioxidante TBHQ em amostras de biodiesel e óleo comestível. Para isso, alguns objetivos específicos foram estabelecidos:

- a) Estudar o comportamento fotoeletroquímico dos sensores LiTCNE/ TiO_2 e CdSe/ZnS/LiTCNE;
- b) Caracterizar os sensores desenvolvidos e seus componentes individuais por meio de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica e Espectrofotometria na região Ultravioleta/Visível;
- c) Otimizar os parâmetros experimentais e operacionais para a determinação de TBHQ;
- d) Construir curvas analíticas para a determinação de TBHQ e realizar a caracterização analítica dos sensores desenvolvidos;
- e) Avaliar a repetibilidade de medidas, a repetibilidade do preparo dos sensores e realizar estudo de possíveis interferentes;
- f) Aplicar os sensores desenvolvidos em amostras de biodiesel e de óleo comestível e realizar estudos de adição e recuperação do analito nas mesmas;
- g) Comparar os resultados obtidos com outros sensores eletroquímicos descritos na literatura.

3. REVISÃO DE LITERATURA

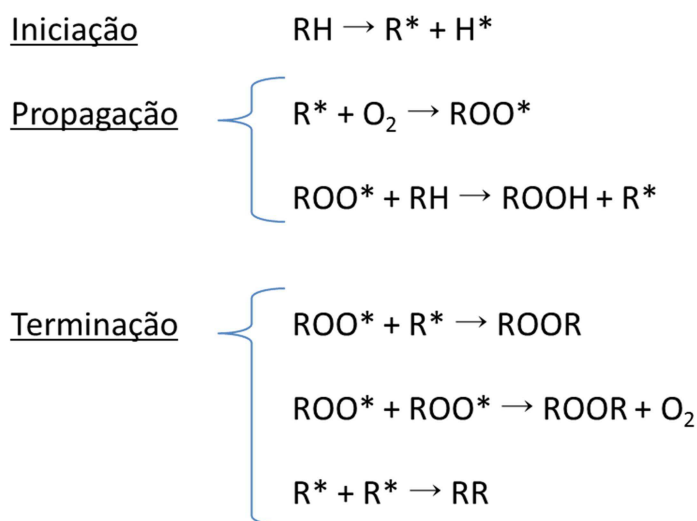
3.1. Estabilidade Oxidativa

A origem da instabilidade de compostos orgânicos frente ao oxigênio do ar reside nas insaturações ou duplas ligações. Quanto maior o nível de insaturação mais instável é o composto. Assim, a perda de estabilidade oxidativa de produtos oleaginosos, como combustíveis e alguns alimentos, deve-se às reações de oxidação dos lipídios que os constituem (CORSINI & JORGE, 2006; RAMALHO & JORGE, 2006).

Neste contexto, a oxidação lipídica pode ocorrer por diferentes meios, dentre eles por ação enzimática, por reações hidrolíticas, por foto-oxidação e por auto-oxidação (RAMALHO & JORGE, 2006). A oxidação enzimática ocorre pela ação de enzimas que catalisam reações redox envolvendo ácidos graxos insaturados, favorecendo a adição de oxigênio à cadeia carbônica, conduzindo à formação de peróxidos que se envolvem em reações degradativas posteriores (SILVA et al., 1999). De modo semelhante, algumas enzimas podem catalisar reações de hidrólise, aliando-se à ação do calor e da umidade, formando ácidos graxos livres.

O mecanismo de foto-oxidação é iniciado principalmente pela interação com a radiação ionizante, ultravioleta, micro-ondas e luz visível, na presença de fotossensibilizadores, os quais conduzem à transformação do oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$) em singleto ($^1\text{O}_2$) pela absorção da radiação (BERGER & HAMILTON, 1995). O oxigênio no estado singleto reage com as insaturações dos lipídios gerando hidroperóxidos, que posteriormente degradam o material e originam compostos indesejáveis como aldeídos e álcoois (RAMALHO & JORGE, 2006). Entretanto, o principal mecanismo de oxidação lipídica observado é o de auto-oxidação, consistindo de três etapas principais: iniciação, propagação e terminação. As reações gerais de cada etapa do mecanismo foram propostas por Farmer *et al.* (1942), e estão mostradas na Figura 1.

Figura 1. Esquema geral do mecanismo de auto-oxidação lipídica.



FONTE: FARMER et al., 1942.

A iniciação da oxidação lipídica consiste em um processo complexo e ainda não compreendido totalmente, no entanto, acredita-se que decorre da interação de um agente iniciador com o oxigênio, que promove a perda de um hidrogênio do carbono alílico adjacente à insaturação do ácido graxo, formando radicais alílicos (SCHAICH, 2005). Após a iniciação, diversas reações radicalares em cadeia dão continuidade à degradação dos ácidos graxos, constituindo a etapa de propagação do processo de oxidação. Nesta etapa, os radicais alílicos reagem prontamente com o oxigênio e são convertidos em radicais peróxidos e hidroperóxidos, os quais dão origem a um processo autocatalítico, que só cessa com o esgotamento das reservas de ácidos graxos e de oxigênio. Nesse momento, na etapa de terminação, as reações radicalares vão cessando e os radicais começam a combinar-se, formando produtos finais estáveis ou não reativos, como aldeídos, cetonas, álcoois e hidrocarbonetos (FERRARI, 1998; RAMALHO & JORGE, 2006).

Deste modo, a oxidação lipídica consiste de um processo de autopropagação e autoaceleração. Entretanto, na fase de iniciação, a velocidade de oxidação é lenta até atingir um aumento repentino após o período de indução. A iniciação é muito sensível às quantidades de componentes participantes, como os pró-oxidantes, que facilitam a reação de oxidação e encurtam o período de indução. Dentre os pró-oxidantes, os íons metálicos são os mais importantes em alimentos e

combustíveis, mas também existem outros fatores como a presença de enzimas e umidade (SHAHIDI & ZHONG, 2010).

Para evitar tais processos de degradação oxidativa de materiais oleaginosos, o tratamento com inibidores de oxidação, tais como substâncias antioxidantes, tem sido vista como uma alternativa bastante promissora. Estes compostos possuem a capacidade de reagir com o oxigênio muito maior do que as moléculas que constituem o material oleaginoso (os lipídios). Desse modo, os antioxidantes bloqueiam o ataque do oxigênio às moléculas de ácidos graxos e, conseqüentemente, a formação de radicais livres que propagariam a auto-oxidação (JORGE & GONÇALVES, 1998). O uso de aditivos antioxidantes tem sido uma prática comum na cadeia de produção de combustíveis como o biodiesel e também de alimentos à base de óleos e gorduras, como os óleos vegetais comestíveis.

3.1.1. Biodiesel

Para garantir o bom funcionamento dos motores e um maior tempo de estocagem, é essencial que o combustível mantenha-se estável a processos de oxidação em contato com o ar, pois as conseqüências destes processos em combustíveis variam desde o escurecimento a alterações na densidade e na viscosidade, bem como a geração de depósitos nos reservatórios e nos motores.

As moléculas que constituem a mistura conhecida como biodiesel apresentam duplas ligações em quantidade que varia conforme a matéria-prima, ou seja, com os ácidos graxos presentes no óleo ou gordura de origem. De maneira mais específica, o biodiesel consiste em uma mistura de ésteres alquílicos, obtidos pela reação de transesterificação de triacilgliceróis presentes em óleos vegetais ou gorduras animais (LÔBO et al., 2009). Nesta reação, o óleo ou a gordura reage na presença de catalisador (comumente básico) com um álcool de cadeia curta para produzir os correspondentes ésteres de ácidos graxos, dependentes da matéria-prima (KNOTHE et al., 2006).

Dentre as vantagens apresentadas pelo biodiesel em comparação com o diesel fóssil, tem-se o fato de ser um combustível renovável e biodegradável, que não polui o ambiente, virtualmente livre de enxofre e de compostos nocivos, portanto, não tóxico (PARENTE, 2003; HAAS et al., 2001).

A estabilidade oxidativa do biodiesel está diretamente relacionada com o grau de insaturação dos ésteres alquílicos presentes, bem como com a posição das duplas ligações na cadeia (MEHER et al., 2006; BOUAID et al., 2007). Tal estabilidade afeta a qualidade do biodiesel, especialmente em longos períodos de armazenamento, em decorrência de contato com o ar, calor, traços de metais e peróxidos, dentre outros fatores (QUADROS et al., 2011). O biodiesel também é sensível à luz, podendo sofrer degradação por foto-oxidação. Alguns fotossensibilizadores como clorofilas e compostos *heme*, os quais são um grupo prostético que consiste de um átomo de ferro contido no centro de um largo anel orgânico heterocíclico chamado porfirina. Estes compostos ocorrem naturalmente nos óleos vegetais usados na produção do biodiesel. Tais compostos absorvem luz UV e visível, transferindo a energia para o oxigênio passar para o estado singlete, o qual é mais reativo e capaz de oxidar os lipídios presentes (FERRARI & SOUZA, 2009).

Os óleos vegetais utilizados como matéria-prima apresentam em sua composição alguns antioxidantes naturais, como os tocoferóis, que promovem maior estabilidade à degradação oxidativa. Contudo, durante o processo de refino dos óleos para a produção de biodiesel, ou por degradação térmica, tais antioxidantes naturais podem ser perdidos (FERRARI et al., 2005). Por essa razão, faz-se uso de aditivos antioxidantes de origem sintética, os quais, dependendo do tipo e da quantidade adicionada, podem afetar a estabilidade oxidativa do biodiesel.

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP), na resolução ANP nº 07 de 2008, estabelece a determinação da estabilidade oxidativa como o período de tempo no qual o biodiesel permanece estável em situação altamente favorável à oxidação, sendo o valor mínimo aceitável de estabilidade à oxidação de 6 horas, avaliado segundo o método padrão Rancimat, de acordo com a norma EN 14112.

3.1.2. Óleos comestíveis

Os óleos vegetais são produtos amplamente utilizados nas indústrias alimentícia, cosmética, farmacêutica e química, incluindo na produção de biodiesel (CARLSSON, 2009). Tais produtos, assim como as gorduras, são extremamente importantes na alimentação humana, apresentando funções como fornecimento de

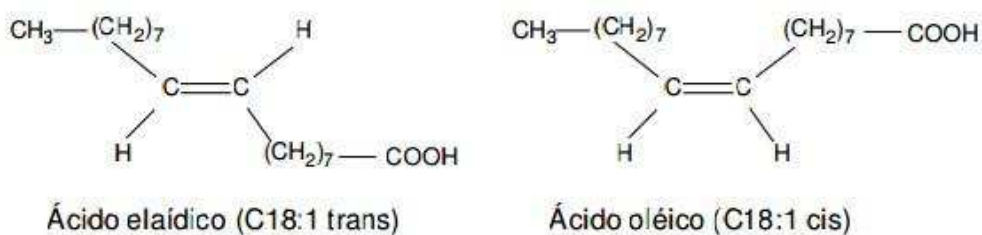
energia – sendo capazes de fornecer o dobro de energia em relação a carboidratos e proteínas em igual quantidade, fontes de vitaminas, como A, D, E e K, e de pró-vitaminas, como os carotenos e os ácidos linoleico e linolênico, considerados essenciais para o ser humano (KRUMMEL, 1998). Além disso, são responsáveis por conferir aumento da palatabilidade e da qualidade dos alimentos, devido sua alta capacidade de reter aromas (SALINAS, 2002; SHAHIDI & ZHONG, 2010).

Os óleos considerados comestíveis são misturas de triacilgliceróis e variados componentes minoritários, tais como esteróis, tocoferóis, ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, pigmentos, fosfatídios e íons metálicos em concentrações-traço (ANDREO, 2007). É sabido que tal natureza química torna os óleos comestíveis altamente suscetíveis a processos de degradação oxidativa, que causam o comprometimento da estabilidade do óleo e modificações nas suas características sensoriais, tais como odores e sabores desagradáveis (SHAHIDI & ZHONG, 2010). Estas alterações deteriorativas podem ocorrer durante o processamento, distribuição e armazenamento desses alimentos, tornando-os impróprios para o consumo (NAWAR, 2000).

A ingestão de óleos comestíveis, bem como alimentos de um modo geral, que contêm produtos de oxidação lipídica representa um risco toxicológico ao ser humano, podendo estar associada a diversas doenças e infecções (ANDREO, 2007). Dentre as consequências nutricionais provocadas pela oxidação lipídica nesses alimentos, têm-se: degradação dos ácidos graxos essenciais; formação de produtos secundários da oxidação que são capazes de reagir com biomoléculas, como proteínas, e impedir a absorção das mesmas pelo organismo; irritação da mucosa intestinal pela presença de peróxidos; e formação de lipídios oxidados que são antagonistas de diversos nutrientes, como vitaminas A, C e B12, tiamina, riboflavina, aminoácidos e proteínas (FERRARI, 1998).

Outra consequência importante da oxidação lipídica em óleos comestíveis está associada a alterações da geometria molecular dos ácidos graxos. Nos óleos e gorduras, os ácidos graxos insaturados apresentam, geralmente, as ligações duplas na forma *cis* (Figura 2). A ligação *trans*, uma forma de isomeria geométrica da ligação *cis*, é encontrada mais frequentemente em ácidos graxos presentes em óleos com estados de rancidez oxidativa, os quais afetam diretamente as lipoproteínas séricas e aumentam o risco de doenças cardiovasculares (ANDREO, 2007).

Figura 2. Estrutura química dos ácidos graxos com ligações *cis* e *trans*.



FONTE: ANDREO, 2007.

3.1.3. Antioxidantes sintéticos

Em virtude da perda de grande quantidade de antioxidantes naturais presentes nos óleos vegetais, durante a cadeia de produção na indústria alimentícia e do biodiesel, o uso de aditivos antioxidantes é uma alternativa frequentemente empregada para melhorar a estabilidade oxidativa desses produtos e garantir sua qualidade. Os antioxidantes adicionados aos óleos devem seguir alguns requisitos, tais como serem capazes de resistir a elevadas temperaturas, serem lipossolúveis, além de serem de fácil obtenção, ativos em baixas concentrações e de baixo custo. No caso de aplicação em óleos comestíveis, além dos requisitos já citados, tais aditivos não podem alterar as características sensoriais do produto – sabores, odores, cor e textura (ORDÓÑEZ, 2005).

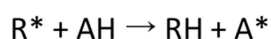
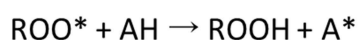
O emprego de antioxidantes em formulações é muitas vezes realizado de forma empírica, de tal modo que sua eficácia nem sempre é garantida (SILVA et al., 1999). Atualmente, sugere-se que a atividade dos compostos antioxidantes depende de diversos fatores, como as interações entre os mesmos e destes com outros componentes do meio em que foram adicionados, como ácidos graxos quimicamente ligados a fosfolipídios ou triacilgliceróis. Por isso, existe um crescente interesse por avaliar de forma integrada a ação dos antioxidantes em biodiesel e óleos vegetais (FERRARI & SOUZA, 2009; CALIXTO, 2011).

A eficácia do antioxidante está relacionada com o seu mecanismo de ação, isto é, com a maneira que o antioxidante reage para impedir as reações radiculares do processo oxidativo. De acordo com o mecanismo de ação, os

antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e mistos (RAMALHO & JORGE, 2006).

Os antioxidantes mais eficazes adicionados em alimentos e combustíveis pertencem à classe dos primários, cujo mecanismo é apresentado na Figura 3. Tais antioxidantes são compostos fenólicos que promovem a remoção dos radicais livres formados nas etapas de iniciação e propagação do processo oxidativo, através da doação de hidrogênios aos radicais. A ação antioxidante se deve ao fato de que o hidrogênio fenólico da substância aditiva é abstraído mais rapidamente pelos radicais livres do que os hidrogênios alílicos dos lipídios insaturados (LUZIA & JORGE, 2009). O radical formado a partir deste mecanismo (A^*) é um radical inerte, proveniente da molécula antioxidante, que não tem capacidade de propagar reações oxidativas por ser estabilizado pela ressonância do anel benzênico (FRANKEL, 1980).

Figura 3. Mecanismo de ação de antioxidantes primários.

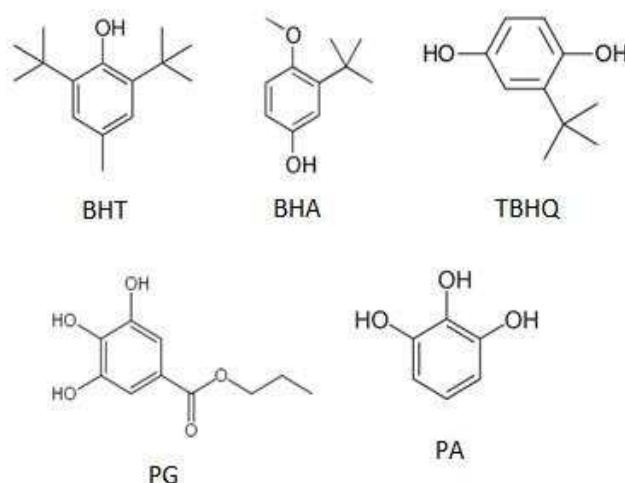


AH – antioxidante com hidrogênio ativo

FONTE: FRANKEL, 1980.

Os principais antioxidantes desse grupo são os tocoferóis, que são naturais, e os sintéticos, mais utilizados na indústria, como terc-butil hidroquinona (TBHQ), butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), propil-galato (PG) e pirogalol (PA). A estrutura de tais antioxidantes fenólicos está apresentada na Figura 4, onde se pode verificar a possível estabilização dos radicais inertes formados a partir destes, após a sua ação antioxidante, possibilitada pela ressonância.

Figura 4. Estrutura química dos principais antioxidantes fenólicos sintéticos.



Estudos toxicológicos têm demonstrado que a presença desses antioxidantes fenólicos pode causar efeito carcinogênico, observado em alguns trabalhos com animais (BOTTERWECK et al., 2000; OKUBO et al., 1997). Por isso, agências regulamentadoras em diversos países têm restringido o uso de aditivos antioxidantes sintéticos em alimentos, a exemplo dos óleos comestíveis, visto a possibilidade de terem efeitos indesejáveis para a saúde humana.

3.1.4. Terc-butil hidroquinona (TBHQ)

O mais popular antioxidante sintético utilizado em produtos de matriz oleosa é o TBHQ. O TBHQ é um derivado da hidroquinona, substituída com um grupo terc-butil, e consiste em uma substância levemente solúvel em meio aquoso, mas bastante solúvel em meio alcoólico (EMERTON & CHOI, 2008). Metabolicamente, o TBHQ pode ser formado a partir do 3-terc-butil-4-hidroxianisol (BHA), através de O-demetilação (OKUBO et al., 2003).

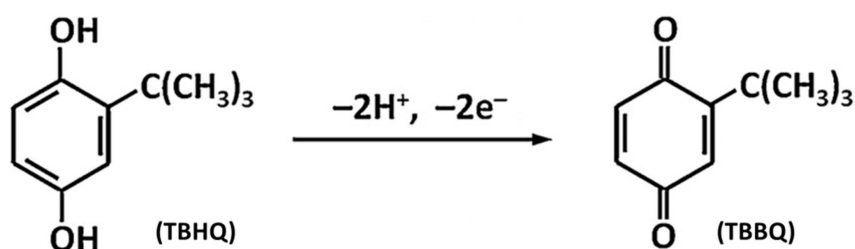
O TBHQ é um pó cristalino branco e brilhoso, moderadamente solúvel em óleos e gorduras, que apresenta ação antioxidante mais eficaz nesses tipos de produtos do que a observada para BHA, BHT e PG, especialmente em óleos vegetais poli-insaturados. Sua molécula (Figura 4) possui dois grupos hidroxila (-OH) na posição *para*, responsáveis por sua ação antioxidante. É um composto estável e resistente a elevadas temperaturas, além de ser menos volátil do que BHA e BHT,

sendo o antioxidante melhor aplicado em óleos comestíveis destinados à fritura (ANDREO, 2007; RAMALHO & JORGE, 2006).

Quanto à sua aplicação em combustíveis, especialmente em biodiesel, diversos estudos têm mostrado que o TBHQ apresenta eficácia superior aos demais antioxidantes fenólicos sintéticos em garantir maior estabilidade oxidativa, possibilitando maior tempo de resistência à oxidação em biodieseis de diferentes matrizes oleosas, sendo adicionado em diferentes faixas de concentração variando de 0,1 a 5 g/kg de biodiesel, onde a concentração do antioxidante está diretamente relacionada com o período de indução apresentado pelo combustível (RYU, 2009; 2010; FERRARI & SOUZA, 2009).

Quando radicais livres oxidam os antioxidantes fenólicos, alguns intermediários reativos podem ser produzidos, como dímeros e quinonas, o que sugere que a toxicidade dessas substâncias fenólicas depende do curso das reações radicalares de degradação oxidativa (KADOMA et al., 2009). Na oxidação do TBHQ (Figura 5), um dos produtos formados é o terc-butil benzoquinona (TBBQ), o qual consiste de metabólito ativo que causa danos ao DNA em animais, apresentando efeitos citotóxicos e genotóxicos (OKUBO et al., 2003).

Figura 5. Esquema para a oxidação de TBHQ em TBBQ.



FONTE: WANG et al., 2016.

De modo controverso, têm sido observados alguns efeitos mutagênicos e carcinogênicos associados ao TBHQ, que podem ser ora melhorados ora suprimidos e suas propriedades antioxidantes e citoprotetoras podem ser transformadas em propriedades pró-oxidantes e citotóxicas (NAGAI et al., 1996; PÉREZ-ROJAS et al., 2011). Alguns estudos recentes têm reportado o efeito protetor do TBHQ na nefrotoxicidade em ratos, assim como edemas cerebrais e morte celular programada

observados em camundongos tratados com TBHQ (JIN et al., 2011; PÉREZ-ROJAS et al., 2011). Outros estudos têm mostrado que, em altas doses o TBHQ pode causar tumores no estômago e danos ao DNA de animais, tal como clivagem *in vitro* e formação de 8-hidroxideoxiguanosina em DNA de timo de bezerro, por meio da geração de espécies oxigenadas reativas (OKUBO et al., 2003; OKUBO et al., 1997; NAGAI et al., 1996).

Também tem sido reportado o efeito danoso ao DNA por meio da complexação de TBHQ com DNA através de mecanismos de intercalação. Kashanian & Dolatabadi (2009) observaram um hipercromismo no espectro de absorção do DNA após a interação com TBHQ, indicando que sua estrutura de dupla-hélice é danificada após a ligação com o TBHQ por meio de intercalação, conduzindo a um aumento na viscosidade do DNA.

Em virtude dos possíveis efeitos citotóxicos relacionados à presença de TBHQ, seu uso como aditivo alimentício é proibido em alguns países e controlado nos demais, sendo sua dose diária recomendada entre 0 e 0,7 mg/kg de massa corporal, dependendo da norma regulamentadora. No Brasil, a concentração de TBHQ em alimentos é regulamentada pelo Ministério da Saúde, que restringe a adição de no máximo 200 mg/kg (0,02%) (KASHANIAN & DOLATABADI, 2009; ANVISA, 2005).

Diante desta realidade, faz-se necessário o monitoramento das concentrações desse antioxidante tanto em produtos alimentícios como em combustíveis. Com esta finalidade, as técnicas analíticas comumente utilizadas para determinação de TBHQ, bem como outros antioxidantes fenólicos, são os métodos instrumentais convencionais, como as técnicas cromatográficas (XIU-QIN et al., 2009; GUAN et al., 2006; SAAD et al., 2007; HAO et al., 2007; GUO et al., 2006) e espectroscópicas (CAPITÁN-VALLVEY et al., 2001; AMMAWATH et al., 2004; LI et al., 2015).

Embora os métodos mencionados sejam apropriados devido aos mesmos apresentarem boa seletividade e sensibilidade, muitos deles exigem um longo tempo consumido em etapas como preparo de amostra e extração do analito, além de equipamentos de elevado custo ou condições experimentais complicadas comumente envolvidas no processo de análise (BARROSO et al., 2011; DU et al., 2014; WANG et al., 2014).

A literatura tem reportado um grande número de materiais empregados no desenvolvimento de sensores para determinação de antioxidantes, tais como enzimas (HAGHIGHI et al., 2003), proteínas redox (IGNATOV et al., 2002), nanopartículas semiconduras (GUO et al., 2009), grafeno (WANG et al., 2016), nanopartículas metálicas (LIU et al., 2005), eletrodos modificados com DNA (LIU et al., 2006) e materiais fotoativos (WANG et al., 2014). Entretanto, sensores baseados em princípios de transdução de vários sinais têm sido utilizados para determinação de antioxidantes, incluindo sensores eletroquímicos, colorimétricos e ópticos.

3.2. Sensores eletroquímicos aplicados para a quantificação de TBHQ

As técnicas eletroquímicas são técnicas alternativas com abordagem bastante eficiente para quantificação de vários compostos orgânicos e inorgânicos. A instrumentação eletroquímica é compacta e portátil, bem como permite análises *in situ*, além de fornecer resultados em poucos minutos sem a necessidade de tratamento preliminar da amostra. Além disso, tais métodos possuem sensibilidade comparável aos métodos cromatográficos (CARAMIT et al., 2013; THOMAS et al., 2015). Por conseguinte, diversos sensores eletroquímicos desenvolvidos para a determinação de antioxidante TBHQ são descritos na literatura. Alguns deles são descritos a seguir:

Wang *et al.* (2016) desenvolveram um método eletroquímico para determinação de TBHQ e BHA utilizando um eletrodo de trabalho de carbono vítreo (ECV) modificado com uma monocamada de colina (Ch) e grafeno. O comportamento eletroquímico do TBHQ sobre o sensor foi investigado e comparado com o comportamento individual dos componentes do sensor. Todos os estudos foram realizados em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 3,0 e velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. Com base nos resultados foi observado um aumento significativo da corrente de pico do analito, bem como uma redução da diferença entre os potenciais de pico anódico e catódico do TBHQ, quando o ECV foi modificado com grafeno/Ch, indicando favorecimento da transferência eletrônica interfacial pela monocamada de colina e aumento da área eletroativa possibilitada pelo grafeno. Adicionalmente, uma curva de calibração para a determinação de TBHQ na presença de BHA foi construída, usando voltametria de pulso diferencial, obtendo-se correntes de pico com resposta linear na faixa de concentração de

TBHQ entre 0,40 e 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,9992$, $n = 10$). O limite de detecção calculado foi de 0,14 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O sensor à base de grafeno/Ch foi aplicado para quantificação de TBHQ em diferentes amostras de óleo comestível usando método de adição de padrão, obtendo-se valores de recuperação entre 95,9 e 102,4% demonstrando uma boa acurácia.

Yue *et al.* (2015) construíram um sensor à base de nanocompósitos binários de nanopartículas de ouro e óxido de grafeno reduzido (AuNPs/ERGO) visando a determinação de TBHQ e BHA. O sensor à base de AuNPs/ERGO exibiu um excelente desempenho para determinação simultânea de TBHQ e BHA, por voltametria de varredura linear, permitindo a detecção de BHA e TBHQ nas faixas lineares de concentração de 0,1 a 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,1 a 7 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com baixos limites de detecção (0,0419 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,0503 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente). O sensor foi aplicado em amostras de óleo comestível para detecção simultânea dos antioxidantes, onde as amostras contaminadas foram analisadas em triplicata, fornecendo uma precisão entre 1,67 e 4,85%. Os resultados obtidos pelo sensor foram validados usando HPLC como método tradicional, os quais foram consistentes e demonstraram boa exatidão para o método eletroquímico proposto.

Araujo *et al.* (2011) reportaram o desenvolvimento de um método eletroquímico para determinação de TBHQ em biodiesel de soja na presença do surfactante Triton X-100 (T-100), o qual possibilitou um aumento significativo do sinal eletroanalítico mostrando-se de fundamental importância na análise direta de TBHQ em amostras de biodiesel. Para tal estudo foi utilizado um eletrodo de gota pendente de mercúrio e a técnica voltametria de onda quadrada. A corrente de pico anódica do TBHQ foi proporcional à sua concentração na faixa de 1,05 a 10,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 0,0343 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O método proposto foi aplicado para determinação do antioxidante em amostras de biodiesel contendo vários níveis de TBHQ. Os resultados mostraram valores de recuperação entre 95,8 e 100,5%, corroborando a acurácia do método proposto.

Goulart *et al.* (2014) apresentaram um novo método para análise de TBHQ em biodiesel de soja usando voltametria de pulso diferencial empregando um eletrodo de carbono vítreo (ECV). As amostras de biodiesel foram submetidas à extração líquido-líquido utilizando dois diferentes solventes: acetonitrila e etanol. O método mostrou boa faixa linear de resposta entre 0,2 e 100,0 mg L^{-1} de TBHQ, com limites de detecção obtidos para as análises realizadas em acetonitrila e etanol de

0,55 mg L⁻¹ e 0,57 mg L⁻¹, respectivamente. O ECV foi aplicado em amostras de biodiesel, para ambos os solventes utilizados, e os valores de recuperação de TBHQ obtidos com o método proposto variaram entre 96,7 e 100,8%, os quais foram similares aos encontrados pelo método HPLC com detecção ultravioleta.

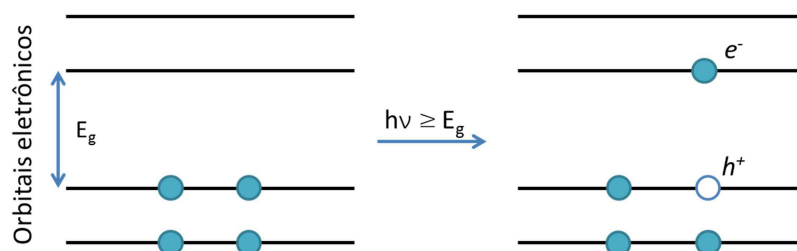
3.3. Sensores Fotoeletroquímicos

A utilização de energia solar para produção direta de eletricidade tem se tornado um campo de bastante interesse nos últimos anos e atraído novas investigações a respeito da interação entre a luz, fluxo de elétrons e reações químicas na superfície de eletrodos em células eletroquímicas. Uma das abordagens mais promissoras no planejamento desses sistemas envolve o desenvolvimento de células fotoeletroquímicas, as quais abrem espaço para a construção e aplicação de sensores fotoeletroquímicos (BARD, 1980).

Um sensor fotoeletroquímico consiste em um novo tipo de dispositivo analítico baseado nas propriedades fotoeletroquímicas de alguns materiais (WANG et al., 2009). Este apresenta características e vantagens das técnicas de fluorescência e eletroquímica, tais como baixo sinal de fundo – devido à separação entre o curso de luz usada para excitação e o detector de corrente, bem como alta sensibilidade, instrumentação simples e de baixo custo, portabilidade e fácil miniaturização (IKEDA et al., 2009; WANG et al., 2014; LISDAT et al., 2013; DEVADOSS et al., 2015).

O processo fotoeletroquímico consiste na conversão foto-corrente resultante da excitação e subsequente transferência de elétrons de um material após absorção de luz (WANG et al., 2009). A luz age como um impulsionador de elétrons, resultando na geração de energia elétrica ou química através de reações redox. Quando um átomo ou molécula com propriedades fotoeletroquímicas absorve um fóton, um elétron é transferido de um orbital de menor energia para um orbital de maior energia (Figura 6), e a frequência de luz absorvida que causa esta transição apresenta energia igual ou superior à diferença de energia entre os dois orbitais. Com isso, tem-se a formação de um par elétron-buraco (e^-/h^+) (BARD, 1980).

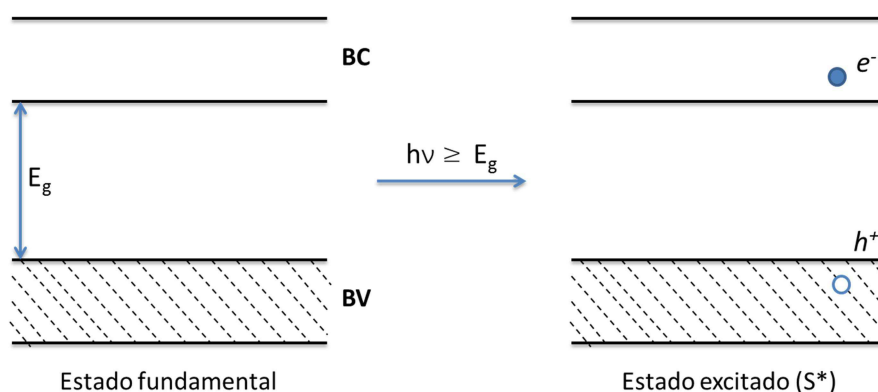
Figura 6. Orbitais eletrônicos e formação de par e^-/h^+ em uma molécula S após absorção de luz.



FONTE: BARD, 1980 (adaptado).

Um processo semelhante ocorre quando um material semiconductor absorve luz. Em um semiconductor, os orbitais estão imersos em uma banda de valência (BV) preenchida e uma banda de condução (BC) vazia, separadas por uma diferença de energia denominada *bandgap* (E_g). Desse modo, após a absorção de fótons por um semiconductor, se a energia absorvida for superior a E_g , um elétron é promovido para a banda de condução e um buraco, de carga oposta, é formado na banda de valência do semiconductor. A formação do par elétron-buraco (Figura 7) resulta na formação de um estado excitado no semiconductor (S^*).

Figura 7. Bandas de valência e de condução de um semiconductor e formação do par e^-/h^+ .



FONTE: BARD, 1980 (adaptado).

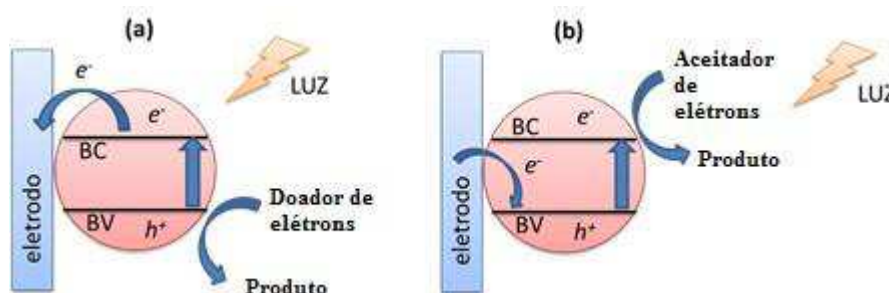
Contudo, estados excitados são muito instáveis e, portanto, de muito curta duração, levando a uma recombinação entre os pares elétron-buraco fotogerados. A energia absorvida para a formação do par é então emitida na forma de calor ou de luz. Como o interesse do processo fotoeletroquímico é converter a

energia luminosa em corrente elétrica, a separação dos pares e^-/h^+ deve ser mantida efetivamente para evitar a recombinação, e tal separação pode ser promovida através de uma diferença de potencial elétrico (como em um eletrodo) ou utilizando espécies aceitadoras ou doadoras de elétrons, que capturam os elétrons ou os buracos fotogerados e transformam a energia em energia química redox (BARD, 1980; GRÄTZEL, 2001).

O princípio de detecção dos sensores fotoeletroquímicos é baseado na mudança provocada pelo analito na fotocorrente gerada por materiais fotoeletroquimicamente ativos que modificam um eletrodo (WANG et al., 2009). Atualmente, diferentes mecanismos de detecção são conhecidos, tais como o aumento da fotocorrente gerada, devido à oxidação de buracos (LI et al., 2011) ou transferência de energia (ZHAO et al., 2011), ou ainda a inibição da fotocorrente gerada devido ao bloqueio da transferência de elétrons, por meio da captura dos mesmos pelo analito (WANG et al., 2010).

Quando o analito age como uma espécie doadora de elétrons, o mesmo captura os buracos fotogerados na banda de valência do material e reduz a recombinação dos pares e^-/h^+ . O fluxo de corrente do material para o eletrodo aumenta após esse processo, resultando em uma fotocorrente anódica (Figura 8a). Entretanto, se o analito age como uma espécie aceitadora de elétrons, o mesmo captura os elétrons transferidos para a banda de condução do material, o que também reduz a recombinação. Em consequência, o fluxo de corrente do material para o eletrodo é bloqueado, resultando em uma fotocorrente catódica que flui do eletrodo para o material para neutralizar o excesso de buracos (Figura 8b). Ambos os tipos de fotocorrente geradas no eletrodo são proporcionais à quantidade de analito que interage com o material, logo, à sua concentração no meio (WANG et al., 2014; WANG et al., 2009).

Figura 8. Geração de fotocorrente a) anódica e b) catódica em um sensor fotoeletroquímico.



FONTE: WANG et al., 2009 (adaptado).

3.3.1. Materiais fotoeletroquimicamente ativos

A eficiência de conversão foto-corrente e o resultante desempenho dos sensores fotoeletroquímicos dependem das propriedades dos materiais utilizados. Nesse contexto, com o desenvolvimento da ciência de materiais, diversos materiais com novas propriedades têm emergido. Dentre os materiais que apresentam propriedades fotoeletroquímicas, pode-se destacar: materiais inorgânicos semicondutores, como silício, dióxido de titânio (IV) (TiO_2), óxido de zinco (ZnO), dióxido de estanho (IV) (SnO_2) e calcogenetos como sulfeto de cádmio (CdS), seleneto de índio e cobre (CuInSe_2), seleneto de cádmio (CdSe), dentre outros (GRÄTZEL, 2001; WANG et al., 2009); e materiais orgânicos, incluindo moléculas pequenas como porfirina e seus derivados, ftalocianina e seus derivados, corantes tipo azo, clorofila, bem como polímeros, como politiofeno e seus derivados (LI et al., 2007; YU et al., 2004; CHOI et al., 2002; ZOU et al., 2008).

Outros tipos de materiais utilizados em sistemas fotoeletroquímicos são materiais mistos, que consistem da combinação de materiais orgânicos com semicondutores inorgânicos em compósitos, ou da combinação de dois semicondutores inorgânicos com diferentes valores de *bandgap*. Tais materiais têm apresentado melhor eficiência na conversão foto-corrente do que os materiais isolados, uma vez que nestes últimos a existência de recombinação entre os pares elétron-buraco pode reduzir a fotocorrente, enquanto a união de materiais diferentes pode facilitar a separação das cargas (WANG et al., 2009).

Uma grande quantidade de sistemas utilizando materiais mistos tem sido investigada, incluindo compósitos à base de semicondutores como ZnO , SnO_2 ,

Nb_2O_5 e Al_2O_3 (KATOH et al., 2004; CHAPPEL & ZABAN, 2002; LENZMAN et al., 2001; PALOMARES et al., 2003). Entretanto, compósitos à base de TiO_2 têm sido estudados mais intensamente, tanto em combinações com outros semicondutores – como nos complexos de ZnO-TiO_2 , CdS-TiO_2 (NIU et al., 2003), quanto em combinações com compostos orgânicos, com destaque para compostos corantes, tais como ftalocianinas de ferro (YOTSUMOTO-NETO et al., 2016) e corantes à base de rutênio, como $[\text{Ru}(4,4'\text{-dicarboxila-2,2'\text{-bipiridina}})_2(\text{NCS})_2]^{2+}$ e $[\text{Ru}(4,9,14\text{-tricarboxila-2,2'\text{-6,6'\text{-terpiridil}})(\text{NCS})_3]^{2+}$ (NOGUEIRA, 2001; AGNALDO et al., 2006). Os compósitos formados pela combinação de corantes com o dióxido de titânio constituem as denominadas células solares sensibilizadas por corante (CSSCs), com diversas aplicações fotovoltaicas e fotocatalíticas conhecidas (O'REGAN & GRÄTZEL, 1991; BAI & ZHOU, 2014; HAGFELDT et al., 2010; ETACHERI et al., 2015).

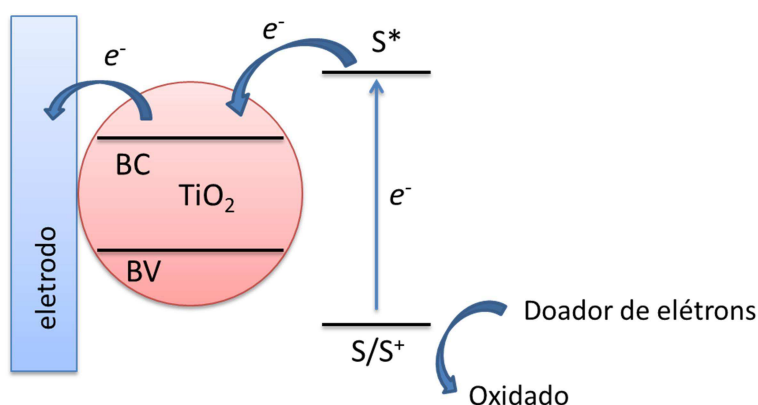
O dióxido de titânio (IV) é uma substância usada principalmente como pigmento branco para dar opacidade a tintas, cosméticos, plásticos e papéis, que se configura como um material com propriedades interessantes para aplicações fotoeletroquímicas, por se tratar de uma substância não tóxica, quimicamente estável, abundante e com um custo efetivo (BAI & ZHOU, 2014). Existem três formas cristalinas na natureza para o TiO_2 : rutilo, anatase e bruquita, sendo as duas primeiras mais comumente produzidas e comercializadas (AGNALDO et al., 2006). Tanto a estrutura rutilo quanto a anatase são utilizadas em fotocatalise, contudo, a forma anatase apresenta maior atividade fotocatalítica (LINSEBIGLER et al., 1995).

Apesar de suas propriedades vantajosas, o TiO_2 apresenta um largo *bandgap*, 3,2 elétron-volts (GRÄTZEL, 2001), o qual impede que o material gere pares elétron-buraco absorvendo luz na região visível, apresentando forte absorção na região ultravioleta do espectro, além de apresentar baixa mobilidade eletrônica e lenta cinética do par elétron/buraco (DEVADOSS et al., 2015; ETACHERI et al., 2015). Portanto, para facilitar o processo de geração e separação de cargas, alguns materiais fotosensibilizadores (a exemplo dos corantes, nas CSSCs) são necessários, sendo depositados sobre a superfície do semicondutor TiO_2 e melhorando a eficiência do sensor fotoeletroquímico (HAGFELDT et al., 2010).

A adsorção de uma substância colorida sensibilizadora (S) na superfície do TiO_2 estende a sua resposta fotoeletroquímica para a região visível (Figura 9). Após a absorção de luz forma-se um estado excitado no sensibilizador (S^*), cuja

energia é superior à energia da banda de condução do TiO_2 . Como resultado, ocorre uma rápida transferência de elétrons do sensibilizador S^* para a banda de condução do semicondutor, os quais são coletados pelo eletrodo e uma fotocorrente é gerada. Com a transferência de elétrons, o sensibilizador passa do estado S^* para S^+ , o qual pode retornar ao estado fundamental (S) na presença de espécies doadoras de elétrons em solução (analito). A separação das cargas fotogeradas é, portanto, garantida pela transferência rápida de elétrons do sensibilizador para o TiO_2 (WANG et al., 2009).

Figura 9. Mecanismo de geração de fotocorrente em um composto de TiO_2 -sensibilizador.



FONTE: WANG et al., 2009 (adaptado).

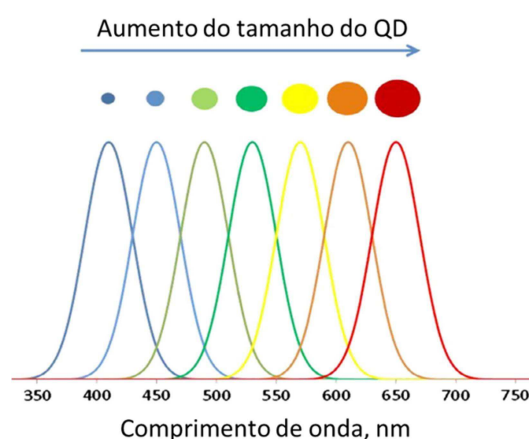
3.3.2. Quantum Dots

A incorporação de nanopartículas em sistemas de detecção analítica é uma área que tem sido intensamente investigada. Juntamente com as nanopartículas metálicas e os nanotubos de carbono, as nanopartículas semicondutoras têm atraído considerável interesse. Tais nanopartículas, denominadas de *quantum dots* (QDs), não só estão entre os materiais mais investigados para o desenvolvimento de sensores (ZHANG et al., 2005; SHI et al., 2006), como também para outros propósitos, tais como desenvolvimento de biolábeis (BRUCHEZ et al., 1998; CHAN & NIE, 1998), lasers (LOTT et al., 1997; HUFFAKER et al., 1998), diodos emissores de luz (JANG et al., 2008; SUN et al., 2007) e na medicina (BAGALKOT et al., 2007).

Conceitualmente, os QDs são nanocristais semicondutores fluorescentes que apresentam raio comparável ao raio éxciton de Bohr do material (ZIAUDEEN et al., 2013). Éxcitons são criados quando existem forças de atração fracas entre o par elétron-buraco formado no semicondutor, onde a distância natural de separação entre as cargas equivale ao raio éxciton de Bohr, que varia de material para material. Em um semicondutor tipo *bulk* (massivo), suas dimensões são maiores do que o raio éxciton, tornando seus níveis de energia contínuos. Já em semicondutores QDs, as dimensões são comparáveis ao raio éxciton, tornando as energias discretas (VASUDEVAN et al., 2015).

As propriedades eletrônicas dos materiais QDs estão entre as dos semicondutores *bulk* e as das moléculas discretas. Com a diminuição das dimensões do material (efeito quântico), o *bandgap* das nanopartículas semicondutoras aumenta em comparação ao *bandgap* dos semicondutores *bulk*, e à medida que o tamanho dos QDs é reduzido, seus *bandgaps* aumentam gradativamente. Consequentemente, a separação das cargas necessita de maior absorção de energia, e a emissão fluorescente dessas nanopartículas é cada vez mais próxima da região azul do espectro visível (Figura 10) (BASKOUTAS & TERZIS, 2006).

Figura 10. Deslocamento do pico de emissão fluorescente relacionado ao aumento do tamanho dos QDs.



FONTE: VASUDEVAN et al., 2015.

Como resultado do aumento do *bandgap*, os buracos gerados na banda de valência possuem maior poder oxidante, assim como os elétrons promovidos

para a banda de condução apresentam maior poder redutor, em relação aos semicondutores massivos. Além disso, a recombinação dos pares elétron-buraco é reduzida pela redução das dimensões do material. Portanto, materiais QDs costumam apresentar melhor eficiência de conversão foto-corrente.

Adicionalmente, em nanopartículas semicondutoras há um aumento do número de átomos presentes na superfície, fazendo com que as propriedades do material sejam mais dependentes dos átomos superficiais do que dos átomos internos à rede cristalina. O aumento do número de átomos superficiais e o aumento da energia de superfície levam a defeitos na superfície das nanopartículas, tornando esses materiais altamente reativos (WANG et al., 2009).

Uma estratégia geral para obter e manter o confinamento quântico em um material QD é o encapsulamento do material com um surfactante orgânico. Contudo, a presença do surfactante pode causar uma redução do rendimento quântico fluorescente, o que pode ser superado pelo crescimento de camadas de material inorgânico sobre o núcleo de material QD, de modo que se obtém uma estrutura de um QD *core-shell* (núcleo-camada). Tal processo resulta no aumento da eficiência fotoluminescente do material QD, em comparação ao núcleo encapsulado apenas com surfactante (VASUDEVAN et al., 2015).

Diversos materiais QDs, tais como CdSe, CdS, InAs, ZnS e CuInS₂, têm sido utilizados como fotosensibilizadores, com seus amplos espectros de absorção habilitando sistemas de detecção fotoeletroquímica a serem excitados por luz visível comum e tornando tais dispositivos mais simples (LI et al., 2015). Dentre os QDs *core-shell*, um dos mais promissores e utilizados nos anos recentes é o CdSe/ZnS, sendo empregado no desenvolvimento de diversos sensores, incluindo os fotoeletroquímicos (GILL et al., 2008; HUANG et al., 2007; TOMASULO et al., 2006; MULROONEY et al., 2009; STOLL et al., 2008).

3.3.3. Complexos de transferência de carga à base de compostos TCNX

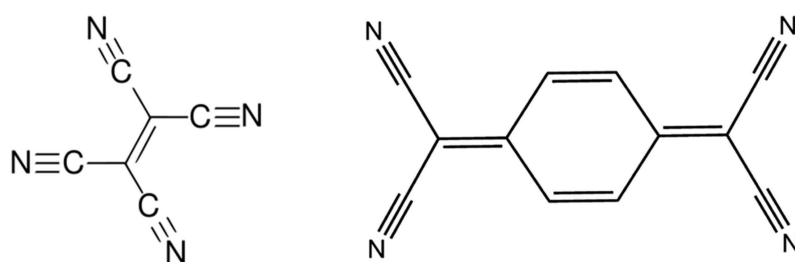
Células fotoeletroquímicas como as CSSCs e as de injeção direta de elétrons têm despertado considerável interesse nos últimos anos. Tais células funcionam por meio de bandas de absorção de transferência de carga interfacial (BATCI), as quais são formadas pelas transições de elétrons dos estados eletrônicos de um sensibilizador para a banda de condução existente no semicondutor (MACYK

et al., 2010). Tais transferências de carga interfaciais têm sido observadas na superfície de complexos de semicondutores com diversos compostos, tais como complexos ciano-metálicos (SZACILOWSKI et al., 2006; HEBDA et al., 2006; HARRIS et al., 2007) e catecol e seus derivados (LI et al., 2009; PERSSON et al., 2000; DUNCAN & PREZHDO, 2005).

Recentemente, uma nova classe de complexos de superfície tem sido reportada, a qual é formada pela interação de semicondutores com compostos bis(dicianometileno) (TCNX) (JONO et al., 2011), os quais exibem bandas de absorção de transferência de carga interfacial na região visível próxima ao infravermelho (MANZHOS et al., 2011).

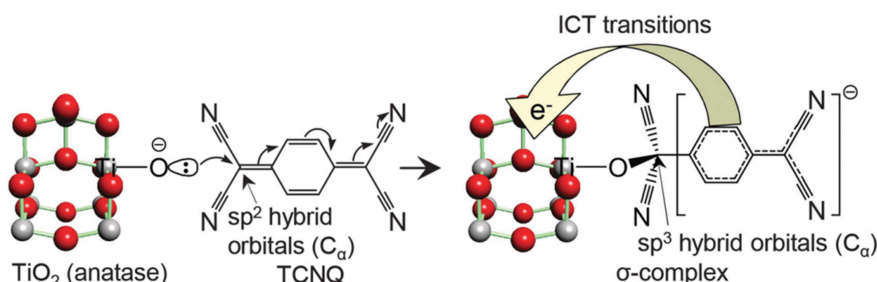
Os compostos TCNX (Figura 11) incluem o tetracianoetileno (TCNE), tetracianoquinodimetano (TCNQ) e o tetracianonaftoquinodimetano (TCNAQ), e consistem em compostos orgânicos aceitadores de elétrons (FUJISAWA et al., 2015).

Figura 11. Estruturas químicas dos compostos TCNX: a) TCNE e b) TCNQ.



Diversos estudos teóricos e experimentais têm sido relatados na literatura referentes ao mecanismo de formação dos complexos superficiais entre os compostos TCNX e semicondutor TiO_2 , bem como suas características (MANZHOS et al., 2011; FUJISAWA et al., 2015; FUJISAWA & HANAYA, 2015; JONO et al., 2015). Conforme o reportado, os complexos TiO_2 -TCNX são formados a partir da reação de adição nucleofílica de um grupo hidroxila desprotonado no TiO_2 com o TCNX, a exemplo do complexo TiO_2 -TCNQ mostrado na Figura 12.

Figura 12. Mecanismo de formação do complexo TiO_2 -TCNQ.



FONTE: FUJISAWA et al., 2015.

Devido à reação de adição nucleofílica, ocorre a formação de um complexo de ligação σ (sigma) no TiO_2 . A porção de TCNX do complexo tende a ser carregada negativamente, e por isso atua como um doador de elétrons para o semiconductor, diferentemente do caráter aceitador de elétrons do composto TCNX quando está livre (FUJISAWA et al., 2015).

O mecanismo de formação de complexos de ligação σ com o semiconductor é favorecido pela forte afinidade eletrônica do composto TCNX. Logo, compostos TCNX com alta afinidade eletrônica, como o TCNE, têm seus complexos de superfície estabilizados pela ligação sigma; já compostos TCNX com baixa afinidade eletrônica, como o TCNAQ, não formam a ligação σ e seus complexos de superfície são estabilizados apenas pelas BATCI entre ele e o semiconductor (ESUMI & MEGURO, 1982).

As propriedades interessantes desses complexos de transferência de carga têm lançado esses compostos como efetivos em aplicações como fotocatalise, reações eletroquímicas e reações de conversão fotoelétrica (FUJISAWA & HANAYA, 2015; JONO et al., 2011). Contudo, ainda são poucos os trabalhos que tenham explorado a interação entre materiais QDs e os compostos TCNX, bem como a formação de complexos de TiO_2 e compostos TCNX no desenvolvimento de sensores fotoeletroquímicos.

Neste contexto, o presente trabalho vem reportar o desenvolvimento e aplicação de dois sensores fotoeletroquímicos, explorando a interação dos semicondutores TiO_2 e CdSe/ZnS(QDs) com o tetracianoetileneto de lítio (LiTCNE), para determinação do antioxidante TBHQ em amostras oleagenosas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes e Soluções

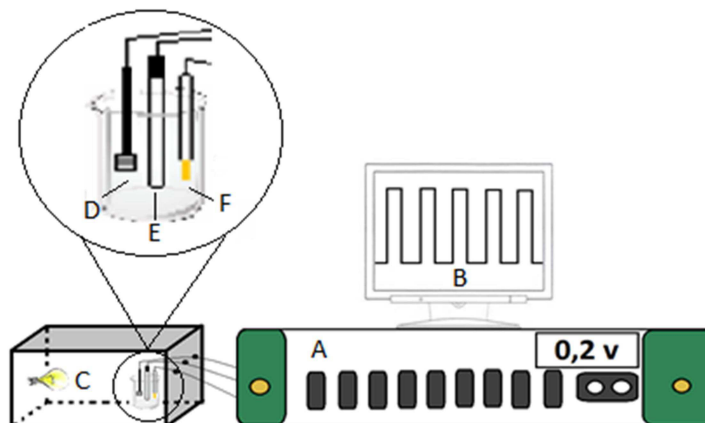
Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico e as soluções foram preparadas com água purificada em um sistema OS100LXE da GEHAKA (Gehaka Ltda, São Paulo, Brasil).

Nanopartículas de TiO_2 , CdSe/ZnS QDs tipo *core-shell*, TCNE, iodeto de lítio, TBHQ, BHA e BHT foram comprados da Sigma-Aldrich[®]. Etanol, hidróxido de sódio, N,N-dimetilformamida (DMF), clorofórmio, fosfato de sódio monobásico, ferricianeto de potássio, cloreto de potássio, sulfato de sódio, 2-[4-(2-hidroxietil)piperazina]-ácido etanossulfônico (HEPES), ácido cítrico, ácido acético, ácido bórico e ácido fosfórico foram obtidos da Vetec Química Fina Ltda. LiTCNE foi sintetizado de acordo com metodologia descrita na literatura (WEBSTER et al., 1962).

4.2. Instrumentação

As medidas fotoeletroquímicas foram realizadas com um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 128N (Metrohm Autolab B.V., Utrecht, Holanda) controlado pelo programa GPES por meio de um microcomputador. O sistema fotoeletroquímico utilizado (Figura 13) foi constituído de uma célula eletroquímica com capacidade de 5,0 mL, com entrada para três eletrodos: o eletrodo de trabalho, formado por uma placa de vidro contendo um filme de óxido de estanho e índio (ITO), o eletrodo de referência de Ag/AgCl (saturado) e como eletrodo auxiliar utilizou-se um fio de platina. Durante as medidas, a célula era mantida no interior de uma caixa contendo uma lâmpada LED de luz visível de 20 W, usado como fonte de energia de irradiação.

Figura 13. Esquema do sistema fotoeletroquímico utilizado. A) Potenciostato/galvanostato; B) Microcomputador; C) Lâmpada LED visível; D) Eletrodo de trabalho; E) Eletrodo de referência; F) Eletrodo auxiliar.



Os espectros UV-Visível dos materiais utilizados para construção dos sensores foram obtidos através de um espectrômetro AvaSpec-2048 da Avantes. Para o preparo das soluções tampão utilizou-se um pHmetro Quimis® Q400AS, ajustando-se o pH final com solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH.

4.3. Construção dos sensores fotoeletroquímicos

Foram preparados dois sensores distintos a partir da modificação do substrato de ITO com dois materiais LiTCNE/TiO₂ e CdSe/ZnS/LiTCNE. Antes de cada modificação, a superfície do ITO foi limpa por sonicação e lavado por imersão em etanol e água a fim de remover espécies adsorvidas.

4.3.1. Preparo do fotosensor LiTCNE/TiO₂/ITO

Inicialmente, preparou-se uma suspensão contendo 20 mg de nanopartículas de TiO₂ e 5 mg de LiTCNE em 2,5 mL de solvente DMF com auxílio de sonicação. Após um período de 24h, foi realizada a filtragem comum da suspensão e o sólido retido foi lavado com água e, em seguida, seco em estufa a 50 °C por 12 h, obtendo-se o compósito LiTCNE/TiO₂.

Para modificação do eletrodo de ITO, uma suspensão foi preparada misturando-se 1,0 mg do compósito formado com 50 µL de água com sonicação por

10 min. Por fim, 10 μL da suspensão modificadora foram adicionados diretamente sobre a superfície do eletrodo de ITO, sendo levado para secagem em estufa a 50 °C por 10 min. Finalmente, o fotosensor LiTCNE/TiO₂/ITO foi preparado.

4.3.2. Preparo do fotosensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO

Primeiramente, uma suspensão foi preparada misturando-se 10 mg de quantum dots tipo *core-shell* (CdSe/ZnS) a 4,3 mL de clorofórmio, da qual uma alíquota de 10 μL foi colocada sobre a superfície do eletrodo ITO limpo que foi levado para secagem em estufa a 50 °C por 10 min. Uma segunda suspensão foi preparada, misturando-se 1,0 mg de LiTCNE a 50 μL de DMF com auxílio de sonicação por 10 min. Após esse período, 10 μL da suspensão de LiTCNE foram colocados sobre a superfície do eletrodo ITO previamente modificada com o CdSe/ZnS QDs, o qual foi seco em estufa por 20 min a 50 °C para formar o fotosensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.

4.4. Estudo do comportamento eletroquímico dos sensores fotoeletroquímicos

4.4.1. Na presença e na ausência de TBHQ

As respostas dos sensores fotoeletroquímicos LiTCNE/TiO₂/ITO e CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foram avaliadas por meio de medidas cronoamperométricas na ausência e na presença de TBHQ. Estes estudos foram realizados em 0,1 mol L⁻¹ de uma solução tampão fosfato (STF) pH 7,0, cujos potenciais aplicados foram de 250 mV para o LiTCNE/TiO₂/ITO e de 100 mV para o CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.

4.4.2. Avaliação da resposta fotoeletroquímica de outros antioxidantes frente à resposta do TBHQ

As respostas de fotocorrente dos sensores fotoeletroquímicos para TBHQ foram avaliadas em comparação às de outros antioxidantes fenólicos sintéticos também utilizados em biodiesel e óleos comestíveis, BHA e BHT. O monitoramento foi realizado através de medidas cronoamperométricas em cada antioxidante em uma concentração de 0,1 mmol L⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ STF (pH 7,0), com um potencial

aplicado de 250 mV para o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO e 100 mV para o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.

4.4.3. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica dos sensores desenvolvidos e estudo espectrofotométrico

Foram realizadas medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica para investigar as propriedades de transferência de carga na superfície dos fotoeletrodos desenvolvidos, haja vista que tal técnica se constitui uma importante ferramenta para estudo das propriedades elétricas de materiais semicondutores (RETTTER & LOHSE, 2002).

As medidas foram feitas em solução 5,0 mmol L⁻¹ de ferricianeto de potássio em 0,1 mol L⁻¹ de KCl, bem como em solução de Na₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, na faixa de frequência de 10⁻² a 10⁵ Hz e amplitude de 10 mV.

Foram realizados estudos comparativos entre os materiais LiTCNE/TiO₂/ITO e TiO₂/ITO, sob iluminação LED visível, bem como entre CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO e CdSe/ZnS/ITO nas mesmas condições. Além disso, foram obtidos espectros de impedância para os eletrodos LiTCNE/TiO₂/ITO e CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO sob condições de ausência e presença de luz, para verificar a influência do recurso luminoso sobre o transporte de carga nos fotosensores.

A espectrofotometria de ultravioleta visível (UV-Vis) foi realizada a fim de caracterizar os compostos individuais TiO₂ e LiTCNE, que compõem o fotosensor LiTCNE/TiO₂/ITO bem como ambos os materiais simultaneamente (LiTCNE-TiO₂). Os espectros UV-Vis foram obtidos na faixa de comprimento de onda entre 200 a 1100 nm, utilizando-se a placa de ITO modificada por meio da adição de 10 µL da suspensão dos modificadores na superfície do eletrodo.

4.5. Otimização dos parâmetros experimentais e operacionais do sistema fotoeletroquímico

Os parâmetros experimentais e operacionais como pH, tipo de solução tampão e potencial aplicado, que exercem influência sobre a sensibilidade e resposta dos eletrodos, foram otimizados a fim de se obter um melhor desempenho

para os sistemas fotoeletroquímicos estudados. Cada um desses parâmetros serão descritos a seguir:

4.5.1. pH

A influência do pH do eletrólito na resposta dos fotosensores para TBHQ foi estudada realizando-se medidas cronoamperométricas em $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes valores de pH, sendo variado de 5,0 a 8,0 para o eletrodo LiCTNE-TiO₂/ITO ($E_{\text{aplic}} = 250 \text{ mV}$) e de 5,0 a 9,0 para o eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO ($E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV}$).

4.5.2. Solução tampão

Após a otimização do pH, o efeito do tipo de solução tampão utilizada também foi investigado. Para tal, foi realizado o monitoramento das respostas de TBHQ em ambos os fotosensores desenvolvidos, usando quatro diferentes tipos de solução tampão (fosfato, MacIlvaine, Britton-Robinson e HEPES) no pH otimizado, todas em concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

4.5.3. Potencial aplicado

O efeito do potencial aplicado (E_{aplic}) é um parâmetro importante que contribui para o aumento da fotocorrente gerada no sistema. Nesse sentido, foram realizadas medidas cronoamperométricas utilizando ambos os fotosensores LiTCNE/TiO₂/ITO e CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, monitorando-se as respostas dos mesmos em solução $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ nas condições anteriormente otimizadas para cada sensor, enquanto variava-se o potencial aplicado na faixa de 0 a 500 mV vs. Ag/AgCl (sat.).

4.6. Caracterização analítica dos sensores para a detecção de TBHQ

Após a otimização dos parâmetros experimentais e operacionais, foram construídas curvas analíticas utilizando os sensores LiTCNE/TiO₂/ITO e CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO para determinação de TBHQ em amostras reais, tanto em

biodiesel quanto em óleos comestíveis, bem como foram calculados os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ).

4.7. Avaliação da repetibilidade de medidas e da repetibilidade do preparo do sensor

A repetibilidade de medidas obtidas com os sensores desenvolvidos foi avaliada obtendo-se o desvio padrão relativo (DPR) dos valores de fotocorrente para 10 medidas sucessivas. Também foi avaliada a repetibilidade para 10 eletrodos modificados, tanto para o ITO à base de LiTCNE/TiO₂ como para o ITO à base de CdSe/ZnS/LiTCNE, preparados em dias diferentes, por meio do cálculo de DPR dos valores de fotocorrente das medidas cronoamperométricas.

4.8. Tratamento das amostras para as medidas fotoeletroquímicas

O sensor LiTCNE/TiO₂/ITO foi aplicado para determinação de TBHQ em duas amostras de biodiesel, denominadas A e B, as quais foram adquiridas em laboratório da Universidade Federal do Maranhão. As amostras A foram produzidas a partir de óleo de babaçu e as amostras B foram obtidas a partir do óleo de soja. Para isso, as amostras foram previamente preparadas diluindo-se 1,0 g de ambas as amostras em 100 mL de etanol, separadamente, sob agitação por 30 min, as quais continham TBHQ em duas diferentes concentrações – 100 e 116 mg L⁻¹ para as amostras A₁ e A₂ e 200 e 216 mg L⁻¹ para a amostra B₁ e B₂, formando-se, assim, quatro soluções amostrais distintas.

Adicionalmente, o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foi empregado para determinar TBHQ em duas amostras de óleo comestível, de soja (A₁ e A₂) e de babaçu (B₁ e B₂), preparadas seguindo a mesma metodologia descrita previamente, sendo que para essas amostras foram utilizadas concentrações de TBHQ de 10 mg L⁻¹ para as amostras A₁ e A₂ e 20 mg L⁻¹ para as amostras B₁ e B₂, formando-se também quatro soluções amostrais distintas.

4.9. Determinação de TBHQ nas amostras analisadas empregando os sensores fotoeletroquímicos e testes de adição e recuperação

A determinação da concentração de TBHQ nas amostras de biodiesel, utilizando-se o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO, foi realizada através do método de adição de padrão cujo princípio se baseia na adição de quantidades conhecidas do analito (TBHQ) às amostras contendo quantidade desconhecida de TBHQ. Assim, à medida que o sinal analítico aumenta, deduz-se quanto de analito estava presente originalmente na amostra, considerando-se que haja uma relação linear entre a concentração deste e sua resposta (fotocorrente), demonstrada por meio de uma curva analítica. A magnitude da interseção da curva com o eixo das abscissas (eixo x) corresponde à concentração original da amostra desconhecida (HARRIS, 2012).

Neste contexto, para a quantificação de TBHQ nas amostras de biodiesel, uma alíquota da solução de amostra foi adicionada à célula eletroquímica nas condições previamente otimizadas para o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO, sendo feitas adições sucessivas (50, 100, 150, 200, 300 e 400 µL) da solução padrão estoque ($1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) de TBHQ a fim de se obter a curva de adição de padrão. De modo semelhante foram realizados os testes de adição e recuperação do analito, onde a porcentagem de recuperação foi obtida pela razão entre a concentração de TBHQ total (amostra + adição do padrão) encontrada e a concentração total esperada, multiplicada por 100. Todos os testes foram feitos em triplicata para dar confiabilidade aos resultados.

Para as amostras de óleo comestível, a determinação da quantidade de TBHQ com o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foi realizada por meio do método de calibração externa, que utiliza diferentes padrões externos do analito em concentrações conhecidas. Considerando-se que o sinal de resposta é obtido em função da concentração do analito, prepara-se uma curva de calibração, a partir da qual é possível prever a concentração desconhecida do analito na amostra analisada obtendo-se seu sinal de resposta (SKOOG et al., 2006).

Após o tratamento das amostras de óleo comestível, uma alíquota de solução de amostra foi adicionada à célula eletroquímica nas condições previamente otimizadas com o eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, sendo analisada diretamente pelo mesmo. Com a utilização de padrões externos de TBHQ em diferentes concentrações (0,6, 7,2, 25, 40, 65, 100, 130, 170, 210 e 250 µmol L⁻¹) obteve-se

uma curva de calibração, utilizada para encontrar a concentração de TBHQ em cada amostra analisada. As quantidades encontradas foram confrontadas com as quantidades de TBHQ adicionadas às amostras, obtendo-se, assim, as porcentagens de recuperação do analito.

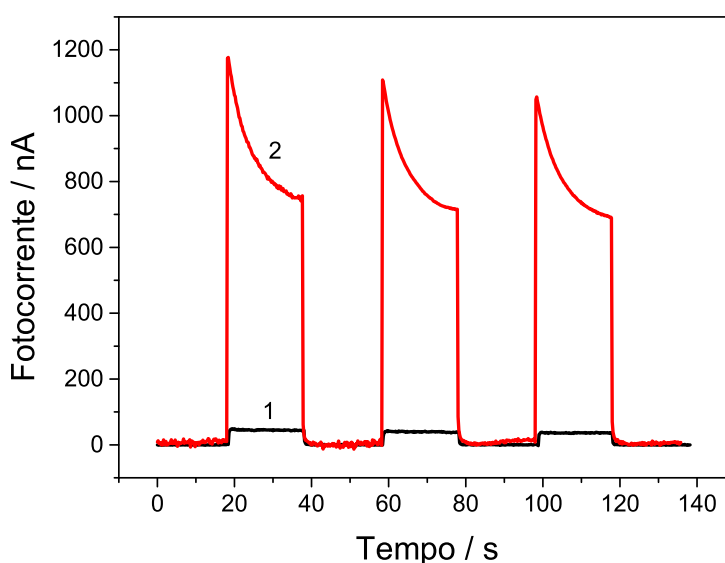
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo do comportamento eletroquímico dos sensores fotoeletroquímicos na presença e ausência de TBHQ

Com o propósito de avaliar a atividade catalítica dos materiais LiTCNE/TiO₂ e CdSe/ZnS/LiTCNE, foram obtidos cronoamperogramas com ambos os sensores na ausência e na presença de TBHQ e comparados com as respostas de fotocorrente apresentadas pelos eletrodos contendo TiO₂ e CdSe/ZnS não sensibilizados.

A Figura 14 mostra o estudo realizado com o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO na ausência (amperograma 1) e na presença (amperograma 2) de 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0). Como observado nesta figura, na ausência de TBHQ a resposta de corrente obtida com o sensor foi de 33 (± 3) nA, cerca de 25 vezes menor que a resposta de corrente obtida para o TBHQ, a qual foi 823 (± 33) nA.

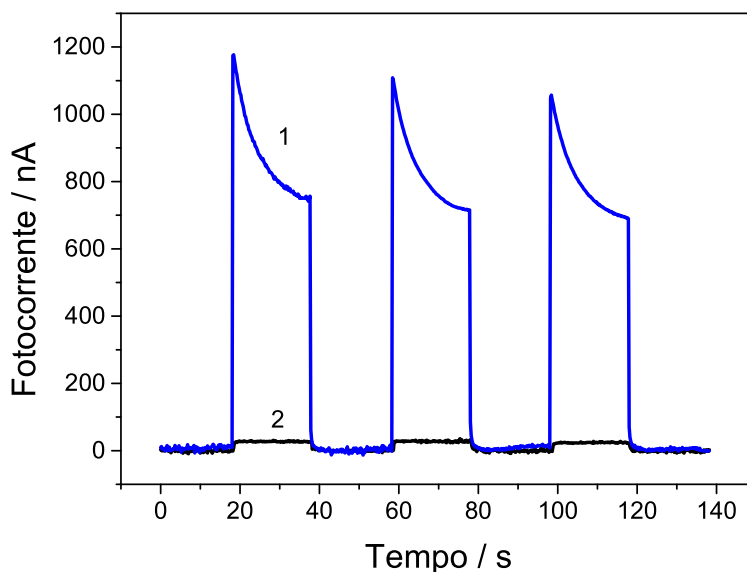
Figura 14. Respostas de fotocorrente do sensor LiTCNE/TiO₂/ITO na (1) ausência de TBHQ e na (2) presença de 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ, em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato pH 7,0. E_{aplic} = 250 mV vs. Ag/AgCl saturado.



A resposta de corrente de TBHQ obtida para o eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO foi comparada com a corrente de TBHQ na mesma concentração obtida em eletrodo

de TiO_2 não sensibilizado (Figura 15), no qual o eletrodo $\text{LiTCNE}/\text{TiO}_2/\text{ITO}$ (amperograma 1) obteve resposta cerca de 28 vezes maior do que a apresentada pelo eletrodo de TiO_2 (amperograma 2), a qual foi de $30 (\pm 1)$ nA.

Figura 15. Respostas de fotocorrente para TBHQ $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato pH 7,0 em (1) sensor $\text{LiTCNE}/\text{TiO}_2/\text{ITO}$ e em (2) sensor TiO_2/ITO . $E_{\text{aplic}} = 250 \text{ mV vs. Ag/AgCl saturado}$.



De modo semelhante para o sensor $\text{CdSe}/\text{ZnS}/\text{LiTCNE}/\text{ITO}$, foram registrados cronoamperogramas na ausência (Figura 16, amperograma 1) e na presença (Figura 16, amperograma 2) de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato, pH 7,0. Na ausência de TBHQ, a fotocorrente apresentada pelo sensor foi de $6,28 (\pm 0,32)$ nA, enquanto na presença de TBHQ a resposta apresentada pelo sensor foi muito superior, cerca de cem vezes maior, cujo valor de corrente foi de $669 (\pm 11)$ nA.

Figura 16. Respostas de fotocorrente do sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO na (1) ausência de TBHQ e na (2) presença de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ, em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0. $E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV}$ vs. Ag/AgCl saturado.

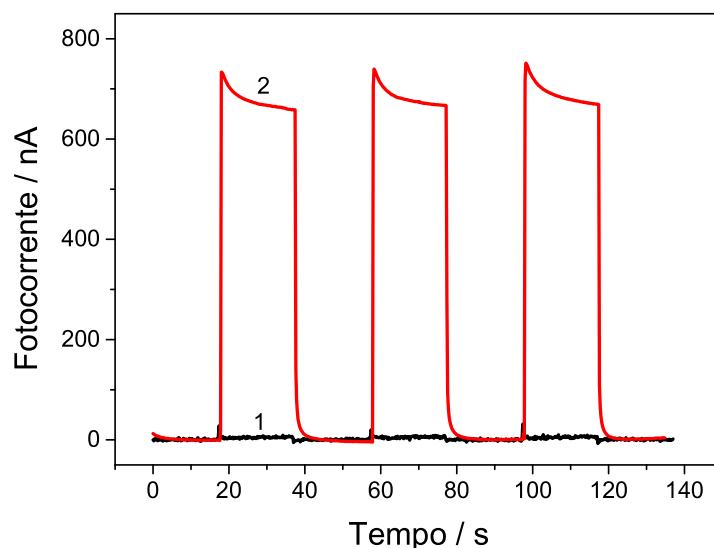
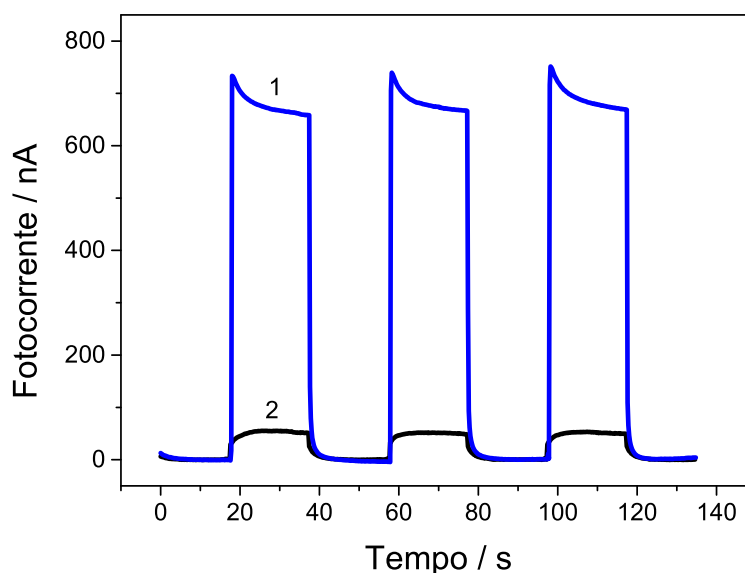


Figura 17. Respostas de fotocorrente para $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato pH 7,0 em (1) sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO e em (2) sensor CdSe/ZnS/ITO. $E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV}$ vs. Ag/AgCl saturado.



A Figura 17 mostra os cronoamperogramas obtidos para as respostas de fotocorrente de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato pH 7,0, apresentadas pelos eletrodos de CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO (amperograma 1) e os QDs CdSe/ZnS não sensibilizados (amperograma 2). Conforme o estudo realizado,

o eletrodo contendo os QDs sensibilizados com o LiTCNE obteve melhor resposta de corrente para o TBHQ, cerca de 13 vezes superior à resposta apresentada apenas pelos QDs, cujo valor obtido foi de $52 (\pm 2)$ nA.

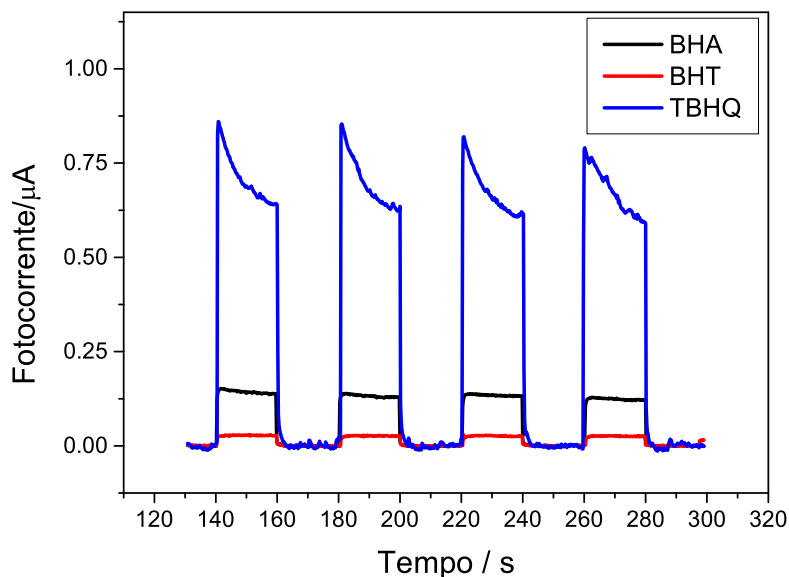
De acordo com os resultados observados, a presença de TBHQ foi fundamental para a resposta de fotocorrente anódica gerada em ambos os sensores fotoeletroquímicos, uma vez que a molécula age doando elétrons para o complexo de transferência de carga e amplifica, por meio do processo de transferência eletrônica, a eficiência do processo fotoeletroquímico promovendo melhor separação das cargas fotogeradas nos sensores (WANG et al., 2009; WANG et al., 2014). Além disso, a sensibilização dos semicondutores TiO_2 e CdSe/ZnS QDs com o LiTCNE possibilitou melhor eficiência na conversão foto-corrente, uma vez que o mesmo age transferindo elétrons para o semicondutor após a excitação com a luz visível e permite, assim, melhor separação das cargas elétron-buraco formadas (WANG et al., 2009).

5.2. Avaliação da resposta fotoeletroquímica de outros antioxidantes frente à resposta do TBHQ

As respostas de fotocorrente do TBHQ em ambos os sensores construídos foram também comparadas com as respostas de outros dois antioxidantes fenólicos sintéticos, BHA e BHT, que comumente são adicionados em amostras de biodiesel e de óleo comestível, muitas das vezes em combinação com o TBHQ.

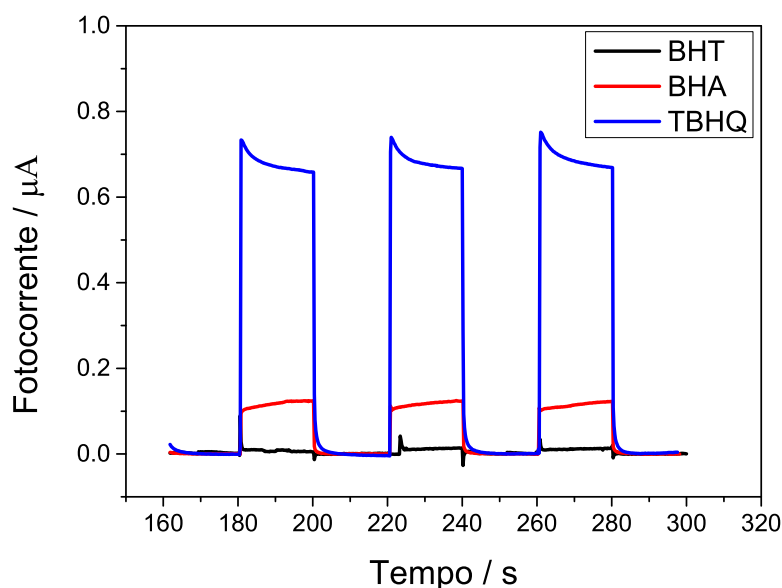
O monitoramento das respostas de fotocorrente dos antioxidantes BHA e BHT, bem como do TBHQ, foi realizado inicialmente com o eletrodo LiTCNE/ TiO_2 /ITO, cujos cronoamperogramas obtidos estão apresentados na Figura 18. Todos os antioxidantes testados estavam na mesma concentração ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato, pH 7,0 ($E_{\text{aplic}} = 250 \text{ mV}$). Como pode ser observado, as respostas de fotocorrente dos demais antioxidantes foram muito inferiores à do TBHQ, indicando o caráter seletivo do sensor LiTCNE/ TiO_2 /ITO frente a este antioxidante em relação aos demais compostos estudados.

Figura 18. Efeito das fotocorrentes dos antioxidantes BHA e BHT na fotocorrente do TBHQ, em eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO.



O mesmo estudo foi realizado posteriormente utilizando o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO (Figura 19), monitorando-se as respostas de fotocorrente dos antioxidantes BHA, BHT e TBHQ nas mesmas concentrações e condições anteriores, aplicando-se potencial de 100 mV. Os cronoamperogramas obtidos demonstram que, assim como no estudo anterior, a resposta de TBHQ apresentada pelo sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foi muito elevada em comparação às respostas de BHA e BHT, indicando de modo semelhante a seletividade deste sensor frente ao TBHQ.

Figura 19. Efeito das fotocorrentes dos antioxidantes BHA e BHT sobre a resposta do fotocorrente do TBHQ, em eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.



Acredita-se que a interação do TBHQ com os sensores seja maior, em comparação com os demais antioxidantes estudados, devido à sua estrutura e seu mecanismo de oxidação. A estrutura fenólica do TBHQ apresenta dois sítios de transferência de elétrons, acompanhada da transferência de prótons (H^+), nos dois grupos hidroxila da molécula (como demonstrado na Figura 5), enquanto BHA e BHT apresentam apenas um grupo hidroxila em cada molécula (DU et al., 2014). Além disso, a estrutura do BHT apresenta dois grupos terc-butil próximos ao sítio de oxidação da molécula (OH), provocando um impedimento estérico que dificulta a sua oxidação, sendo sua taxa de transferência eletrônica ainda menor que a de BHA. Assim, o TBHQ age como um doador de elétrons mais eficiente para o sensor fotoeletroquímico do que os demais antioxidantes estudados, possibilitando maior geração de fotocorrente anódica.

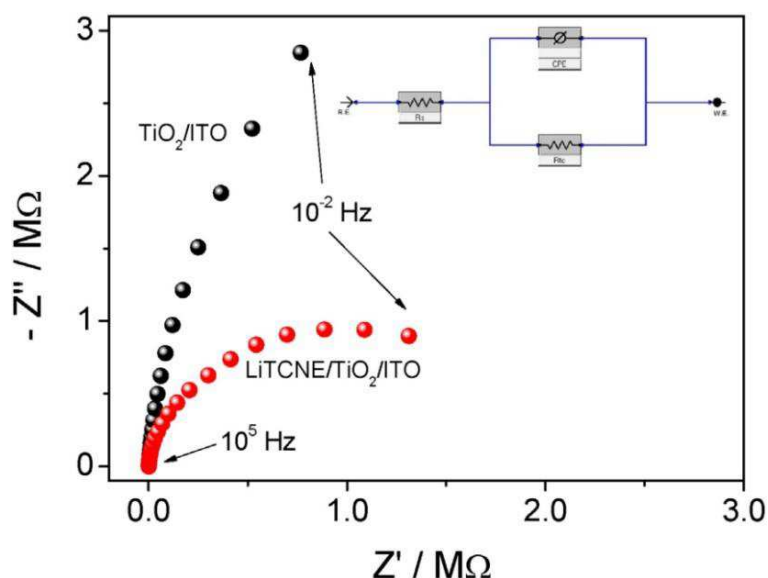
5.3. Caracterização dos materiais que compõem o sensor por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica e estudo espectrofotométrico com radiação Ultravioleta visível (UV-vis)

Estudos de espectroscopia de impedância eletroquímica têm sido realizados de forma muito eficiente para determinar a contribuição dos eletrodos nos processos catalíticos em sistemas eletroquímicos, investigando a dinâmica de

cargas transportadas na interface eletrodo/solução (RIBEIRO et al., 2015). Por isso, tal técnica foi utilizada para caracterizar o processo de transferência de cargas nos sensores fotoeletroquímicos desenvolvidos.

A Figura 20 mostra os diagramas de Nyquist obtidos para os fotoeletrodos LiTCNE/TiO₂/ITO e TiO₂/ITO não sensibilizado, sob iluminação LED visível em 0,1 mol L⁻¹ de uma solução Na₂SO₄. Os diâmetros dos semicírculos extrapolados no diagrama representam as resistências à transferência de carga dos eletrodos. Desse modo, pode-se verificar que o valor de resistência apresentado pelo sensor LiTCNE/TiO₂/ITO foi cerca de 10 vezes menor do que o valor apresentado pelo sensor à base de TiO₂ não sensibilizado.

Figura 20. Espectros de impedância eletroquímica para os fotoeletrodos LiTCNE/TiO₂/ITO e TiO₂/ITO em solução 0,1 mol L⁻¹ de Na₂SO₄ sob iluminação LED visível.

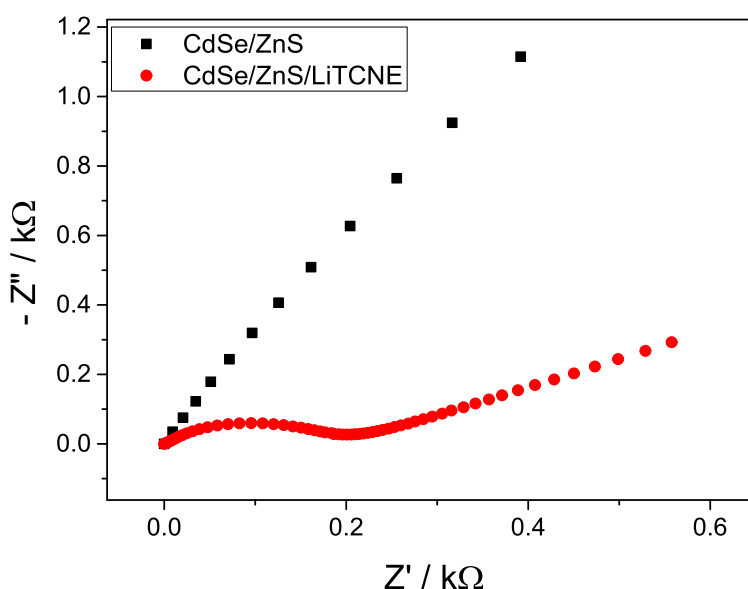


De acordo com esta figura, a resistência apresentada por ambos os sensores foi elevada, na ordem de 10⁶ de magnitude, devido à ausência de espécies redox em solução que potencializam a transferência de elétrons. Assim, o estudo possibilitou investigar a transferência das cargas geradas nos sensores após a absorção da luz, isto é, os pares elétron-buraco gerados no semicondutor e a transferência de elétrons para o eletrodo de ITO. Como a resistência foi menor observada para o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO do que para o TiO₂/ITO, isso sugere uma

maior transferência de elétrons para o eletrodo e separação mais efetiva das cargas fotogeradas no TiO_2 quando o mesmo foi sensibilizado com o LiTCNE.

A Figura 21 mostra um estudo semelhante realizado com os sensores CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO e CdSe/ZnS/ITO não sensibilizado, sob iluminação LED visível em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ferricianeto de potássio em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Desta vez, a presença do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ potencializa a transferência de elétrons para o eletrodo e reduz a resistência observada pelos sensores. Como pode ser observado, a resistência à transferência de carga apresentada pelo sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foi muito inferior – cerca de 62 vezes menor, à apresentada pelo sensor contendo CdSe/ZnS não sensibilizado. Tal resultado indica que a sensibilização dos QDs com o LiTCNE possibilitou maior eficiência de separação das cargas fotogeradas por meio das transferências de carga interfaciais existentes.

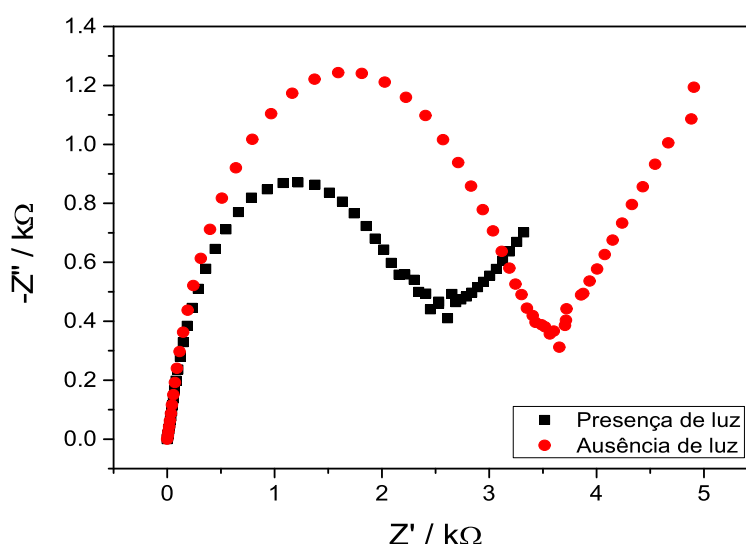
Figura 21. Espectros de impedância eletroquímica para os fotoeletrodos CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO e CdSe/ZnS/ITO sob iluminação LED visível em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl de uma solução contendo 5 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$.



Um estudo adicional foi realizado com o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de Na_2SO_4 (Figura 22), na ausência (curva vermelha) e na presença (curva preta) de luz LED visível, sob potencial de circuito aberto. De acordo com os diagramas de Nyquist obtidos, a resistência à transferência de carga apresentada pelo sensor na presença de luz foi cerca de 1,4 vezes menor do que a resistência mostrada na ausência de luz. Tal estudo mostra que o recurso luminoso

potencializa o processo de transferência de cargas para o eletrodo, uma vez que mais cargas são geradas e separadas sob absorção de luz.

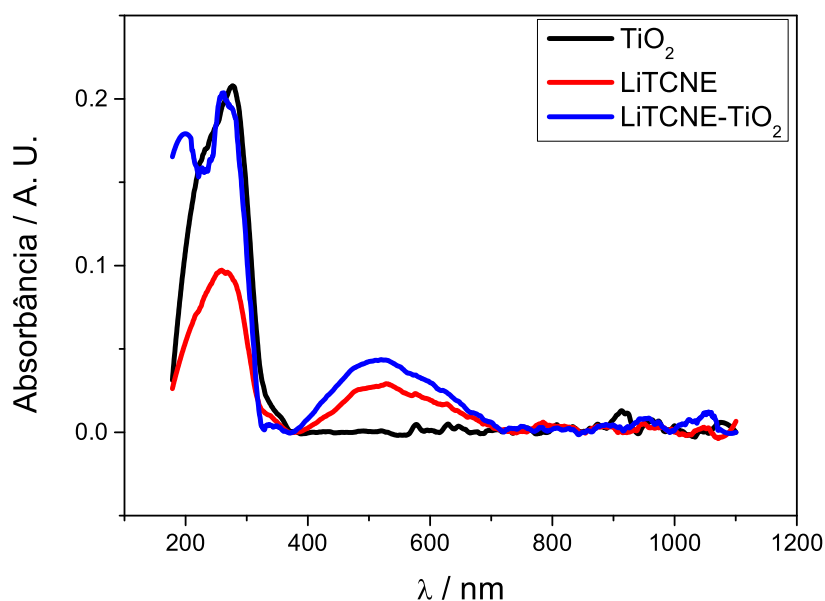
Figura 22. Espectros de impedância eletroquímica para o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO em potencial de circuito aberto na ausência e na presença de luz LED visível.



Adicionalmente, espectros UV-Visível foram obtidos com o objetivo de caracterizar a formação do complexo LiTCNE/TiO₂/ITO a partir das bandas de absorção observadas para os seus constituintes TiO₂ e LiTCNE (Figura 23). Como observado nesta figura, as nanopartículas de TiO₂ apresentam um limite óptico em cerca de 325 nm, atribuído à forte absorção na região ultravioleta resultante do largo *bandgap* desse semiconductor. Por sua vez, o composto LiTCNE mostra duas bandas de absorção, sendo o maior observado próximo à região de absorção do TCNE puro, 284 nm, que corresponde às transições eletrônicas dominadas pela contribuição HOMO→LUMO.

Com a sensibilização das nanopartículas de TiO₂ com o LiTCNE, há o surgimento de outra região de absorção na região entre 400-600 nm, compreendendo as transições eletrônicas HOMO→LUMO do complexo de transferência de carga na forma Ti(OH)₃-O-TCNE⁻ (MANZHOS et al., 2011). Desse modo, os espectros obtidos confirmam a formação do complexo de transferência de carga no compósito LiTCNE/TiO₂/ITO.

Figura 23. Espectros UV-Visível para os compostos TiO_2 , LiTCNE e LiTCNE/ TiO_2 .



5.4. Otimização dos parâmetros experimentais e operacionais do sistema fotoeletroquímico

5.4.1. pH

A influência do pH da solução na resposta fotoeletroquímica do sensor LiTCNE/ TiO_2 /ITO foi investigada, monitorando-se a fotocorrente para $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de uma solução de TBHQ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato em diferentes valores de pH (5,0 a 8,0), sob potencial aplicado de 250 mV vs Ag/AgCl. Como mostrado na Figura 24, a resposta fotoeletroquímica do sensor aumenta à medida que o pH aumenta de 5,0 para 7,0, e depois disso, diminui até chegar em pH 8,0. Portanto, o pH 7,0 foi fixado para todas as medidas sucessivas realizadas com o sensor LiTCNE/ TiO_2 /ITO.

Figura 24. Influência do pH da solução na resposta de fotocorrente de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em sensor LiTCNE/TiO₂/ITO. $E_{\text{aplic}} = 250 \text{ mV vs. Ag/AgCl sat.}$

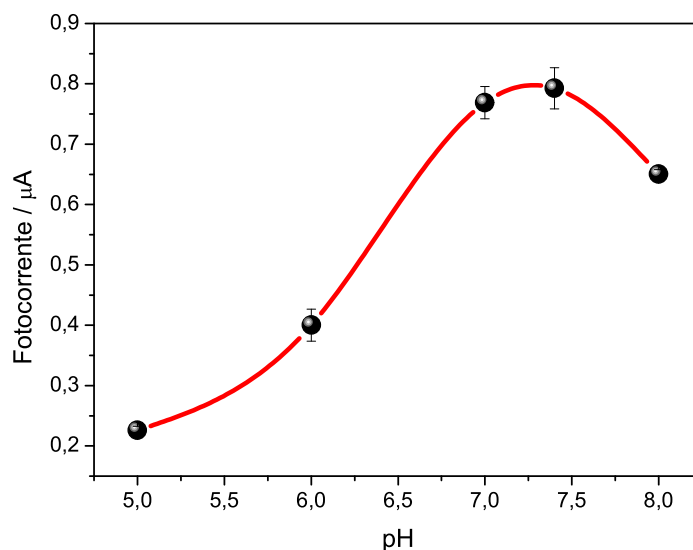
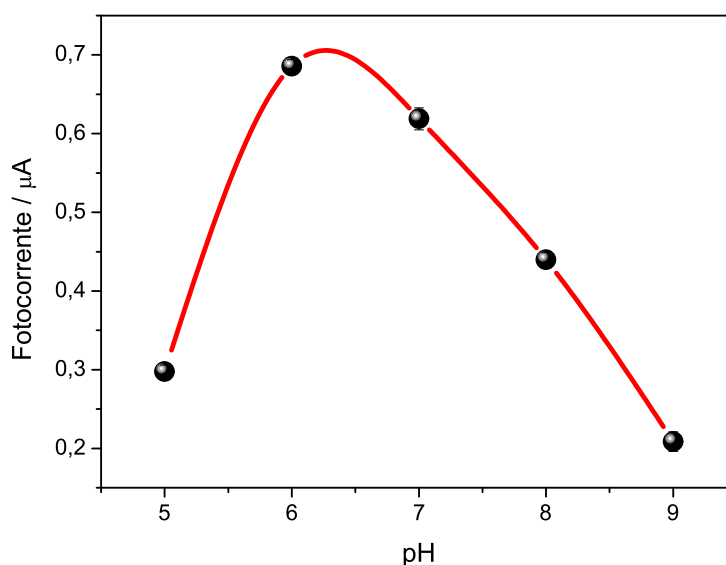


Figura 25. Influência do pH da solução na resposta de fotocorrente de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO. $E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV vs. Ag/AgCl sat.}$



De modo semelhante, a resposta do sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foi investigada monitorando-se a fotocorrente para $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ na faixa de pH de 5,0 a 9,0, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato, sob potencial aplicado de 100 mV vs. Ag/AgCl. Assim, a Figura 25 mostra a variação da resposta do sensor fotoeletroquímico com a mudança de pH da solução, onde observou-se que a resposta de TBHQ aumentou com o aumento do pH de 5,0 para 6,0, diminuindo em

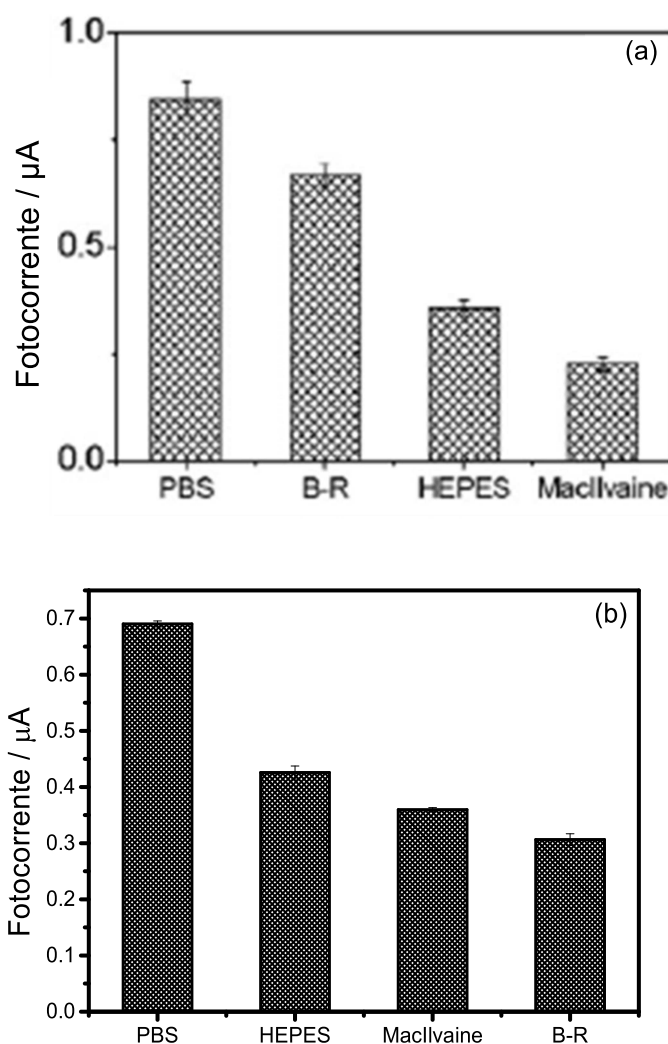
seguida até o pH 9,0. Assim, o pH 6,0 foi escolhido para todas as demais medidas utilizando o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.

Um aspecto comum a ambos os estudos é que a fotocorrente de oxidação do TBHQ foi maior em meios mais ácidos, e diminuiu gradativamente em valores de pH básicos. Uma vez que o pKa do TBHQ é 10,0, uma maior quantidade de moléculas desse antioxidante está protonada em soluções de pH mais baixo. Como a reação de oxidação do TBHQ envolve a perda de prótons, tal mecanismo é favorecido em meios mais ácidos, o que explica os valores de pH otimizados (WANG et al., 2016).

5.4.2. Solução tampão

Soluções tampão fosfato, MacIlvaine, HEPES e Britton-Robinson, todas preparadas em concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foram utilizadas para avaliar qual desses eletrólitos proporcionaria a melhor resposta para os sensores fotoeletroquímicos propostos. Para o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO, as soluções foram preparadas em pH 7,0, e as respostas de corrente de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em cada solução estão mostradas na Figura 26a. Quanto ao sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, as soluções tampão foram preparadas em pH 6,0, e as respostas de corrente de TBHQ estão apresentadas na Figura 26b. Neste contexto, para ambos os sensores, a melhor resposta de fotocorrente para o TBHQ foi alcançada utilizando-se solução tampão fosfato, que foi utilizada para os experimentos subsequentes com ambos os eletrodos. Tais resultados podem estar associados ao menor tamanho dos íons fosfato em solução que causa maior mobilidade iônica, assim como maior facilidade de transferência de carga na interface eletrodo/solução.

Figura 26. Influência do tipo de solução tampão sobre a fotocorrente para $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ no: (a) sensor LiTCNE/TiO₂/ITO ($E_{\text{aplic}} = 250 \text{ mV}$) e (b) sensor CdSe/ZnSQ/LiTCNE/ITO ($E_{\text{aplic}} = 100 \text{ mV}$).

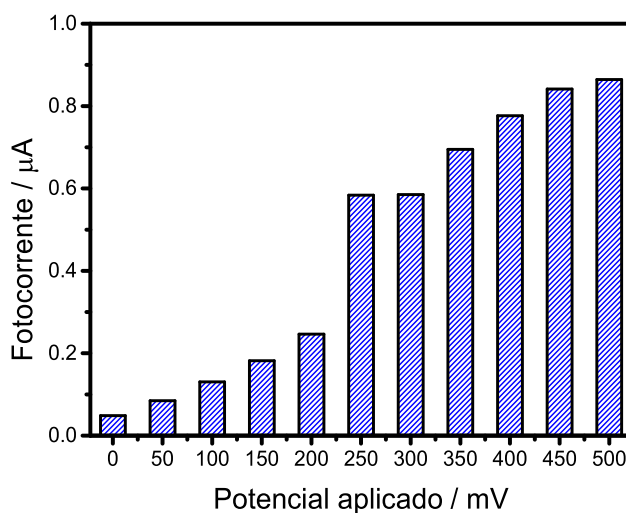


5.4.3. Potencial aplicado

O potencial aplicado ao sistema fotoeletroquímico também foi estudado, pois configura-se como um parâmetro muito importante para o aumento da sensibilidade do sistema eletroquímico. Para o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO, foi verificada a influência do potencial na fotocorrente para $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ, variando-se este parâmetro de 0 a 500 mV vs. Ag/AgCl. Neste sentido, como mostrado na Figura 27, a resposta do sensor fotoeletroquímico aumentou de 0 a 450 mV, tornando-se constante até o potencial de 500 mV. Logo, o potencial de 450 mV

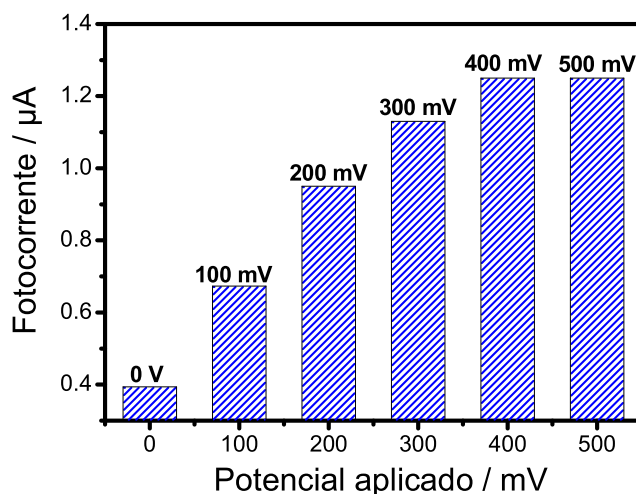
foi escolhido para as medidas posteriores utilizando o fotoeletrodo de LiTCNE/TiO₂/ITO.

Figura 27. Influência do potencial aplicado na resposta de 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato, pH 7,0, com o eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO.



A influência do potencial aplicado na resposta para 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ com o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foi investigada variando-se o potencial na mesma faixa estudada para o eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO (Figura 28). A partir disso, foi possível observar que a resposta fotoeletroquímica aumentou gradativamente à medida que o potencial aumentou de 0 a 400 mV, tornando-se constante em potenciais maiores. Portanto, o potencial de 400 mV foi fixado para todas as medidas subsequentes realizadas com o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.

Figura 28. Influência do potencial aplicado na resposta de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBHQ em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0, em eletrodo de CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO.



É importante ressaltar que para medidas amperométricas, o potencial aplicado é um parâmetro diretamente relacionado com a sensibilidade do sistema analítico, que facilita a transferência de elétrons entre a superfície do eletrodo e o analito (PORTERFIELD, 2007). Os valores mais elevados de potencial fixados como valores ótimos para os sensores fotoeletroquímicos desenvolvidos indicam o máximo de oxidação de TBHQ permitido para os sistemas, isto é, os potenciais que possibilitam a oxidação da maior quantidade possível de moléculas de TBHQ nas superfícies dos eletrodos.

5.5. Caracterização analítica dos sensores fotoeletroquímicos para a detecção de TBHQ

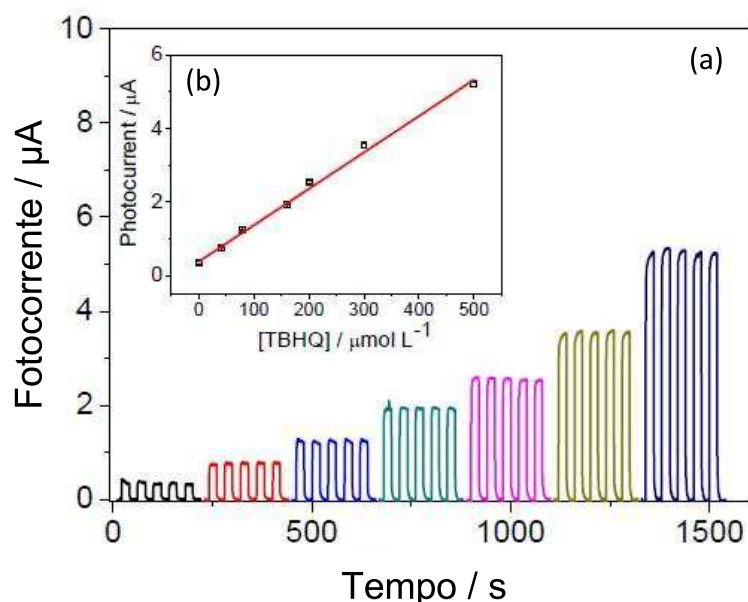
A fim de se construir uma curva analítica final para a determinação de TBHQ em amostras reais utilizando-se os sensores fotoeletroquímicos propostos, foram obtidos cronoamperogramas em amplas faixas lineares de trabalho sob as condições experimentais previamente otimizadas para os sensores.

O eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO, nas condições otimizadas, apresentou resposta de TBHQ linear no intervalo de concentração de $0,4$ a $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 29a), descrita através da curva analítica (Figura 29b) que pode ser escrita como:

$$I_{\text{fotocorrente}} (\mu\text{A}) = 0,370 (\pm 0,050) + 0,010 (\pm 0,003) [\text{TBHQ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

cujo coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,996, para $n = 7$.

Figura 29. (a) Respostas de fotocorrente de TBHQ em eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO nas condições otimizadas, nas concentrações de 0,4 a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (b) Curva analítica obtida. $E_{\text{aplic}} = 450 \text{ mV vs. Ag/AgCl sat.}$



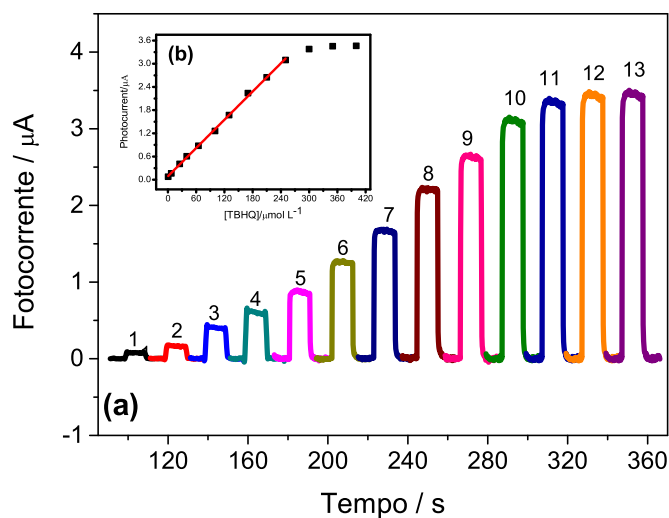
O limite de detecção (LD) foi determinado de acordo com as recomendações da IUPAC (CURRIE, 1995), utilizando-se a expressão $3\sigma_{bl}/b$, onde σ_{bl} é o desvio padrão de 10 amperogramas do branco e b é o coeficiente de regressão angular da curva analítica, correspondente à sensibilidade. Como σ_{bl} obteve um valor de $3,33 \times 10^{-4} \mu\text{A}$, o valor de LD encontrado para o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO foi de $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Quanto ao eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, o mesmo apresentou uma resposta linear para o TBHQ, nas condições otimizadas, na faixa de concentração de $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ (ou 600 a 250.000 nmol L^{-1}) (Figura 30a). A relação das fotocorrentes com a concentração de TBHQ é demonstrada pela curva analítica da Figura 30b, que pode ser descrita pela expressão:

$$I_{\text{fotocorrente}} (\mu\text{A}) = 0,084 (\pm 0,016) + 0,012 (\pm 0,001) [\text{TBHQ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

para a qual o valor de R^2 foi de 0,999, para $n = 10$.

Figura 30. (a) Respostas de fotocorrente de TBHQ nas condições otimizadas em eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, nas concentrações de 0,6 a 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (b) Curva analítica obtida. $E_{\text{aplic}} = 400 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$.



O LD foi então determinado através do valor da sensibilidade da curva analítica obtida e do desvio padrão das medidas do branco ($8,4 \times 10^{-4} \mu\text{A}$). O valor calculado com este sensor foi $0,21 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Os baixos valores de LD e as amplas faixas lineares de resposta para ambos os sensores propostos foram melhores ou semelhantes a muitos trabalhos reportados na literatura para determinação de TBHQ, os quais também utilizaram sensores eletroquímicos (Tabela 1). É importante ressaltar que foi a primeira vez que sensores fotoeletroquímicos foram desenvolvidos para a determinação desse analito.

Tabela 1. Comparação dos parâmetros analíticos de diferentes sensores para determinação de TBHQ.

Eletrodo	Técnica	Faixa linear $\mu\text{mol L}^{-1}$	LD $\mu\text{mol L}^{-1}$	Referência
Au-SnO₂/GNs-NTCPUs	VPD	0.05 – 230	0.058	Du et al., 2014
NTCPM/ECV	VOQ	4 – 100	0.032	Cardoso et al., 2015
AuNPs/ECV	VVL	1 – 16.8	0.047	Lin et al., 2013
ESP/NTCPM	VVL	0.5 – 10	0.341	Caramit et al., 2013
Pt:PPy:NiPcTs	VPD	20 – 140 120 – 220	7.4 25	De la Fuente et al., 1999
BDD	VPD	1.2 – 602	3.3	Goulart et al., 2014
EGPM	VOQ	1.05 – 10.10	0.0343	De Araujo et al., 2011
GN/Ch/ECV	VPD	0.40 – 120	0.14	Wang et al., 2016
QDs/LiTCNE/ITO	FEQ	0.6 – 250	0.21	Esse trabalho
LiTCNE/TiO₂/ITO	FEQ	0,4 - 500	0,10	Esse trabalho

5.6. Avaliação da repetibilidade de medidas e da repetibilidade do preparo dos sensores

A repetibilidade de 10 medidas sucessivas foi verificada através de determinações da fotocorrente para 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ nas condições otimizadas para cada sensor fotoeletroquímico. O desvio padrão relativo (DPR) das medidas (Tabelas 2 e 3) foi utilizado como parâmetro para avaliar a precisão do método desenvolvido para ambos os sensores (LiTCNE/TiO₂/ITO e CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO).

Tabela 2. Avaliação da repetibilidade das medidas obtidas com eletrodo LiTCNE/TiO₂/ITO em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato, pH 7,0, contendo 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ.

Medida	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I_{fotoc} (μA)	1,66	1,70	1,67	1,64	1,65	1,71	1,70	1,71	1,67	1,77
Média das medidas = 1,69					DPR = 2,18%					

Tabela 3. Avaliação da repetibilidade das medidas obtidas com eletrodo CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato, pH 6,0 contendo 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ.

Medida	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I _{fotoc} (μA)	1,17	1,19	1,18	1,21	1,20	1,22	1,19	1,19	1,21	1,19
Média das medidas = 1,20					DPR = 1,41%					

Dez eletrodos foram modificados da mesma maneira, considerando cada sensor desenvolvido nas condições otimizadas a fim de se avaliar a repetibilidade do preparo dos sensores. Nesse sentido, cronoamperogramas foram obtidos em solução 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ, e o DPR das fotocorrentes registradas (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4. Avaliação da repetibilidade do preparo do sensor LiTCNE/TiO₂/ITO. Medidas obtidas em solução 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ nas condições otimizadas.

Medida	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I _{fotoc} (μA)	1,66	1,67	1,66	1,69	1,68	1,68	1,75	1,85	1,88	1,97
Média das medidas = 1,75					DPR = 6,39%					

Tabela 5. Avaliação da repetibilidade do preparo do sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO. Medidas obtidas em solução 0,1 mmol L⁻¹ de TBHQ nas condições otimizadas.

Medida	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I _{fotoc} (μA)	1,16	1,17	1,19	1,18	1,21	1,21	1,20	1,22	1,24	1,25
Média das medidas = 1,20					DPR = 2,42%					

Os pequenos valores de DPR encontrados na avaliação da repetibilidade de medidas e do preparo dos sensores podem estar relacionados com a facilidade de fixação dos compósitos na superfície do eletrodo ITO, bem como à simplicidade de modificação do mesmo, conduzindo a uma elevada precisão dos fotosensores propostos.

5.7. Determinação de TBHQ em amostras de biodiesel e amostras de óleos comestíveis e Testes de adição e recuperação

O sensor fotoeletroquímico LiTCNE/TiO₂/ITO foi por fim aplicado para determinação de TBHQ em amostras de biodiesel, utilizando o método de adição de padrão a fim de eliminar o efeito de matriz. As amostras de biodiesel foram analisadas pelo sensor inicialmente sem a adição de TBHQ, uma vez que foi verificado que essas amostras não continham o analito, e em seguida fez-se a adição deste em duas diferentes concentrações, obtendo-se curvas analíticas para cada amostra analisada. Em seguida relacionou-se as quantidades de TBHQ adicionadas com seus respectivos valores de fotocorrente. A extrapolação das curvas definiu, no eixo das abscissas, as concentrações de TBHQ em cada amostra analisada.

A quantidade determinada de TBHQ em cada amostra de biodiesel é apresentada na Tabela 6. Essas quantidades foram confrontadas com as quantidades iniciais adicionadas às amostras, através da razão entre a concentração de TBHQ total encontrada e a concentração total esperada multiplicada por 100, para a obtenção dos respectivos valores de recuperação. A Tabela 6 também mostra uma comparação entre o método proposto e o método convencional espectrofotométrico aplicado para as amostras de biodiesel, onde aplicando-se o teste *t* de Student, em um nível de confiança de 95%, foi possível observar que não houve diferença estatística entre o método convencional e o fotoeletroquímico.

Tabela 6. Valores de concentração de TBHQ encontrados nas amostras de biodiesel empregando sensor LiTCNE/TiO₂/ITO e porcentagens de recuperação.

Amostras	[TBHQ]adic. (mg L ⁻¹)	Método Fotoeletroquímico		Método Espectrofotométrico	
		[TBHQ]encont. (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	[TBHQ]encont. (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Biodiesel de óleo de babaçu	0	-	-	-	-
A₁	100	97,0 (± 0,2)	97,0	97,5 (± 0,3)	97,5
A₂	116	114,0 (± 0,1)	98,2	113,0 (± 0,2)	97,4
Biodiesel de óleo de soja	0	-	-	-	-
B₁	200	196,0 (± 0,1)	98,0	198,0 (± 0,3)	99,0
B₂	216	209,0 (± 0,3)	96,8	208,0 (± 0,5)	96,3

O sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO foi empregado para determinação de TBHQ em amostras de óleo vegetal comestível, utilizando dessa vez método de calibração externa. As amostras de óleo, de modo semelhante às de biodiesel, foram inicialmente analisadas sem a adição de TBHQ, e em seguida, fazendo-se a adição de duas diferentes concentrações de TBHQ e, posteriormente analisadas. A curva analítica utilizada para quantificação de TBHQ nas amostras de óleo, empregando-se o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, está apresentada na Figura 30, bem como as quantidades de TBHQ determinadas pelo mesmo sensor nessas amostras estão apresentadas na Tabela 7. De modo similar às amostras de biodiesel, as quantidades de TBHQ encontradas nas amostras foram relacionadas com as quantidades de TBHQ previamente adicionadas a essas mesmas amostras com valores de recuperação apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Valores de concentração de TBHQ encontrados nas amostras de óleo vegetal empregando o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO e porcentagens de recuperação.

Amostras	[TBHQ]adicionada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	[TBHQ]encontrada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Óleo de babaçu	0	-	-
A ₁	60,00	59,90	99,83
A ₂	120,00	117,90	98,25
Óleo de soja	0	-	-
B ₁	60,0	59,30	98,83
B ₂	120,00	119,00	99,17

Como observado nas Tabelas 6 e 7, os sensores fotoeletroquímicos permitiram uma boa recuperação de TBHQ nas amostras analisadas, com valores de recuperação variando de 96,8 a 98,2% para o sensor LiTCNE/TiO₂/ITO e de 98,25 a 99,83% para o sensor CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, atestando a exatidão dos métodos desenvolvidos.

6. CONCLUSÃO

Este trabalho demonstrou o desenvolvimento de dois sensores pioneiros na determinação de antioxidante TBHQ em amostras de biodiesel e de óleo vegetal, configurando-se como alternativas viáveis para detecção do analito pelo método fotoeletroquímico. A modificação do eletrodo ITO foi realizada de forma simples e efetiva, o que garantiu uma grande estabilidade para os fotosensores desenvolvidos.

Ambos os sensores foram capazes de promover processos oxidativos eletrocatalíticos do TBHQ, evidenciado pelo aumento da fotocorrente em comparação aos demais eletrodos modificados com TiO_2 e CdSe/ZnS QDs .

Verificou-se também a importância da presença de TBHQ para a eficiência do processo de conversão foto-corrente, bem como da sensibilização dos semicondutores TiO_2 e QDs com o LiTCNE mostrada pelo estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica os quais possibilitaram uma maior eficiência na separação das cargas fotogeradas que sustentam o processo fotoeletroquímico.

A partir dos espectros UV-Visível obtidos para o sensor LiTCNE/ TiO_2 /ITO e seus componentes, também foi possível verificar a formação do complexo de transferência de carga entre o dióxido de titânio e o LiTCNE, confirmando o sucesso da modificação deste semicondutor pela metodologia aplicada.

A otimização dos parâmetros experimentais proporcionou a obtenção de baixos LD, de notórias sensibilidades e de amplas faixas lineares de resposta para o TBHQ pelos sensores fotoeletroquímicos, com valores para tais parâmetros semelhantes ou ainda melhores do que diversos sensores descritos na literatura.

A modificação dos sensores proporcionou boa repetibilidade das medidas e no próprio preparo dos eletrodos, refletindo-se nos baixos valores de DPR encontrados, que podem estar relacionados à habilidade de fixação dos compósitos à superfície eletródica, bem como à simplicidade de modificação do ITO, indicando que os sensores desenvolvidos apresentam elevada precisão.

Os sistemas fotoeletroquímicos desenvolvidos também foram considerados exatos pelos ótimos resultados obtidos para os estudos de adição e recuperação do TBHQ em todas as amostras analisadas para ambos os sensores, empregando-se os métodos de quantificação. Além disso, os sensores também se mostraram seletivos para o TBHQ, uma vez que se confirmou que os antioxidantes

fenólicos normalmente encontrados em biodiesel e óleos vegetais não apresentaram interferência na resposta do TBHQ.

Portanto, considerando as figuras de mérito obtidas pelos sensores LiTCNE/TiO₂/ITO e CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO, é possível considerar os métodos fotoeletroquímicos propostos como de fácil execução, rápidos, precisos, exatos, seletivos e sensíveis para determinação de TBHQ em amostras reais, incluindo análises de controle de qualidade de produtos alimentícios e combustíveis. Por fim, espera-se que os sensores desenvolvidos possam ser aplicados também para determinação deste antioxidante em outras matrizes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNALDO, J. S.; BASTOS, J. B. V.; CRESSONI, J. C., VISWANATHAN, G. M. Células solares de TiO₂ sensibilizado por corante. **Rev. Bras. Ens. Fís.**, v. 28, n. 1, p. 77-84, 2006.

AMMAWATH, W.; MAN, Y. B. C.; BAHARIN, B. S.; RAHMAN, R. B. A. A new method for determination of tert-butylhydroquinone (TBHQ) in RBD palm olein with FTIR spectroscopy. **Journal of Food Lipids**, v. 11, p. 266-277, 2004.

ANDREO, D. Efeito antioxidante do extrato de gengibre (*Gengiber officinale*) em óleo de soja submetido ao aquecimento. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto – SP, 2007.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 23, 2005. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916-/388729/Microsoft%2BWord%2B%2BResolu%25C3%25A7%25C3%25A3o%2BRDC%2Bn%25C2%25BA%2B23%2Bde%2B15%2Bde%2Bfevereiro%2Bde%2B2005.pdf/f656ac16-30b8-456a-8f93-27f3394f4762>>. Acessado em 09 de julho de 2017.

ARAUJO, T. A.; BARBOSA, A. M. J.; VIANA, L. H.; FERREIRA, V. S. Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples. **Fuel**, v. 90, p. 707-712, 2011.

BAGALKOT, V.; ZHANG, L.; LEVY-NISSENBAUM, E.; JON, S.; KANTOFF, P. W.; LANGER, R.; FAROKHZAD, O. C. Quantum dot-aptamer conjugates for synchronous cancer imaging, therapy, and sensing of drug delivery based on bi-fluorescence resonance energy transfer. **Nano Lett.**, v. 7, p. 3065–3070, 2007.

BAI, J.; ZHOU, B. Titanium dioxide nanomaterials for sensor applications. **Chem. Rev.**, v. 114, p. 10131–10176, 2014.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: Fundamentals and Applications**. Nova York: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

BARD, A. Photoelectrochemistry. **Science**, v. 207, n. 4427, p. 139-144, 1980.

BARROSO, M.F.; DE-LOS-SANTOS-ÁLVAREZ, N.; DELERUE-MATOS, C.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Towards a reliable technology for antioxidant capacity and oxidative damage evaluation: electrochemical (bio)sensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 30, p.1–12, 2011.

BASKOUTAS, S.; TERZIS, A. F. Size-dependent band gap of colloidal quantum dots. **J. Appl. Phys.**, v. 99, p. 13708–13708, 2006.

BATISTA, L. N.; SILVA, V. F.; FONSECA, M. G.; PISSURNO, E. C. G.; DARODA, R. J.; CUNHA, V. S.; KUNIGAMI, C. N.; DE SANTA MARIA, L. C. Easy to use spectrophotometric method for determination of aromatic diamines in biodiesel samples. **Microchem. J.**, v. 106, p. 17-22, 2013.

BERGER, K. G.; HAMILTON, R. J. Em: HAMILTON, R. J. **Developments in Oils and Fats**. Londres: Chapman & Hall, 1995.

BERRIOS, M.; GUTIÉRREZ, M. C.; MARTÍN, M. A.; MARTÍN, A. Obtaining biodiesel from spanish used frying oil: issues in meeting the EN 14214 biodiesel standard. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, p. 312-318, 2010.

BORSATO, D.; CINI, J. R. M.; SILVA, H. C.; COPPO, R. L.; ANGILELLI, K. G.; MOREIRA, I.; MAIA, E. C. R. Oxidation kinetics of biodiesel from soybean mixed with synthetic antioxidants BHA, BHT and TBHQ: determination of activation energy. **Fuel Processing Technology**, v. 127, p. 111-116, 2014.

BOTTERWECK, A. A. M.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHN, R. A.; KLEINJANS, J.; VAN DEN BRANDT, P. A. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: Results from analyses in the Netherlands cohort study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 599-605, 2000.

BOUAID, A.; MARTINEZ, M.; ARACIL, J. A comparative study of the production of ethyl esters from vegetable oils as a biodiesel fuel optimization by factorial design. **Chemical Engineering Journal**, v. 134, p. 93-99, 2007.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electroanalysis**. Oxford: Oxford University Press, 1998.

BRUCHEZ, M.; MORONNE, M.; GIN, P.; WEISS, S.; ALIVISATOS, A. P. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. **Science**, v. 281, p. 2013-2016, 1998.

CALIXTO, C. D. Óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e avaliação de antioxidantes naturais no biodiesel etílico de soja. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

CAPITÁN-VALLVEY, L. F.; VALENCIA, M. C.; NICOLÁS, E. A. Monoparameter sensors for the determination of the antioxidants butylated hydroxyanisole and n-propyl gallate in foods and cosmetics by flow injection spectrophotometry. **The Analyst**, v. 126, p. 897-902, 2001.

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

CARDOSO, R. M.; MONTES, R. H. O.; LIMA, A. P.; DORNELLAS, R. M.; NOSSOL, E.; ROCHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Multi-walled carbon nanotubes: Size-dependent electrochemistry of phenolic compounds. **Electrochimica Acta**, v. 176, p. 36-43, 2015.

CARLSSON, A. S. Plant oils as feedstock alternatives to petroleum – A short survey of potential oil crop platforms. **Biochimie**, v. 91, p. 665-670, 2009.

CEBALLOS, C. FERNANDÉZ, H. Synthetic antioxidants in edible oils by square-wave voltammetry on ultramicroelectrodes. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 77, n. 7, p. 731-735, 2000.

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

CHAN, W. C.; NIE, S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. **Science**, v. 281, p. 2016–2018, 1998.

CHAPPEL, S.; ZABAN, A. Nanoporous SnO₂ electrodes for dye-sensitized solar cells: improved cell performance by the synthesis of 18 nm SnO₂ colloids. **Sol Energy Mat and Sol Cells**, v. 71, n. 2, p. 141-152, 2002.

CHOI, H.-G.; MIN, J.; LEE, W. H.; CHOI, J. W. Adsorption behavior and photoelectric response characteristics of bacteriorhodopsin thin films fabricated by self-assembly technique. **Colloid Surface B**, v. 23, n. 4, p. 327-337, 2002.

CORSINI, M. S.; JORGE, N. Estabilidade oxidativa de óleos vegetais utilizados em frituras de mandioca palito congelada. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 1, p. 27-32, 2006.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Pure and Applied Chemistry**, v. 67, n. 10, p. 1699-1723, 1995.

DE ARAUJO, T. A.; BARBOSA, A. M. J.; VIANA, L. H.; FERREIRA, V. S. Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidante, in soybean biodiesel samples. **Fuel**, v. 90, p. 707-712, 2011.

DE GUZMAN, R.; TANG, H.; SALLEY, S. Synergistic effects of antioxidants on the oxidative stability of soybean oil and poultry fat-based biodiesel. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 86, p. 459-467, 2009.

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

DEVADOSS, A.; SUDHAGAR, P.; TERASHIMA, C.; NAKATA, K.; FUJISHIMA, A. Photoelectrochemical biosensors: new insights into promising photoelectrodes and signal amplification strategies. **J. Photochem. Photobiol. C**, v. 24, p. 43–63, 2015.

DU, Y.; GAO, X.; YE, X.; ZHENG, Z.; FENG, Q.; WANG, C.; WU, K. Composition and architecture-engineered Au–SnO₂/GNs-SWCNTs nanocomposites as ultrasensitive and robust electrochemical sensor for antioxidant additives in foods. **Sensors and Actuators B**, v. 203, p. 926–934, 2014.

DUNCAN, W. R.; PREZHDO, O. V. Electronic structure and spectra of catechol and alizarin in the gas phase and attached to titanium. **J. Phys. Chem. B**, v. 109, p. 365-373, 2005.

DUNN, R. O. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). **Fuel Processing Technology**, v. 86, p. 1071-1085, 2005.

EMERTON, V.; CHOI, E. **Essential guide to food additives**. Cambridge: Leatherhead Publishing, 2008.

ESUMI, K.; MEGURO, K. Adsorption of electron acceptors on titania. **Bull. Chem. Soc. Jpn.**, v. 55, p. 1647-1648, 1982.

ETACHERI, V.; DI VALENTI, C.; SCHNEIDER, J.; BAHNEMANN, D.; PILLAI, S. C. Visible-light activation of TiO₂ photocatalysts: advances in theory and experiments. **J. Photochem. Photobiol. C**, v. 25, p. 1–29, 2015.

FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. G.; SUNDRALINGAM, S.; SUTTON, D. A. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. **Trans. Faraday Soc.**, v. 38, p. 348-356, 1942.

FERRARI, C. K. B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Rev. Nutr. Campinas**, v. 11, n. 1, p. 3-14, 1998.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCARBIO, A. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v. 28, p. 19-23, 2005.

FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 106-111, 2009.

FRANKEL, E. N. Lipid Oxidation. **Prog. Lipid Res.**, v. 19, p. 1-22, 1980.

FUJISAWA, J.; HANAYA, M. Extremely strong organic-metal oxide electronic coupling caused by nucleophilic addition reaction. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 17, p. 16285-16293, 2015.

FUJISAWA, J.; NAGATA, M.; HANAYA, M. Charge-transfer complex versus σ -complex formed between TiO₂ and bis(dicyanomethylene) electron acceptors. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 17, p. 27343-27356, 2015.

GILL, R.; BAHSHI, L.; FREEMAN, I.; WILLNER, I. Optical detection of glucose and acetylcholine esterase inhibitors by H₂O₂-sensitive CdSe/ZnS quantum dots. **Angew. Chem.**, v. 120, p. 1700–1703, 2008.

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

GRÄTZEL, M. Photoelectrochemical cells. **Nature**, v. 414, p. 338-344, 2001.

GUAN, Y.; CHU, Q.; FU, L.; WU, T.; YE, J. Determination of phenolic antioxidants by micellar electrokinetic capillary chromatography with electrochemical detection. **Food Chemistry**, v. 94, p. 157-162, 2006.

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

GUO, Q. Q.; JI, S. J.; YUE, Q. L.; WANG, L.; LIU, J. F.; JIA, J. B. Antioxidant sensors based on iron diethylenetriaminepentaacetic acid, hematin, and hemoglobin modified TiO₂ nanoparticle printed electrodes. **Anal. Chem.**, v. 81, p. 5381–5389, 2009.

HAAS, M. J.; SCOTT, K. M.; ALLEMAN, T. L.; MCCORMICK, R. L. Engine performance of biodiesel fuel prepared from soybean soapstock a high quality renewable fuel produced from a waste feedstock. **Energy Fuels**, v. 15, n. 5, p. 1207-1212, 2001.

HAGFELDT, A.; BOSCHLOO, G.; SUN, L.; KLOO, L.; PETTERSSON, H. Dye-sensitized solar cells. **Chem. Rev.**, v. 110, p. 6595–6663, 2010.

HAGHIGHI, B.; GORTON, L.; RUZGAS, T.; JONSON, L. J. Characterization of graphite electrodes modified with laccase from *Trametes versicolor* and their use for bioelectrochemical monitoring of phenolic compounds in flow injection analysis. **Anal. Chim. Acta**, v. 487, p. 3–14, 2003.

HAO, P.-P.; NI, J.-R.; SUN, W.-L.; HUANG, W. Determination of tertiary butylhydroquinone in edible vegetable oil by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1732-1737, 2007.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

HARRIS, J. A.; TROTTER, K.; BRUNSCHWIG, B. S. Interfacial electron transfer in metal cyanide-sensitized TiO₂ nanoparticles. **J. Phys. Chem. B**, v. 111, p. 6695-6702, 2007.

HEBDA, M.; STOCHEL, G.; SZACIŁOWSKI, K.; MACYK, W. Optoelectronic switches based on wide band gap semiconductors. **J. Phys. Chem. B**, v. 110, p. 15275-15283, 2006.

HUANG, C. P.; LI, Y. K.; CHEN, T. M. A highly sensitive system for urea detection by using CdSe/ZnS core-shell quantum dots. **Biosens. Bioelectron.**, v. 22, p. 1835-1838, 2007.

HUFFAKER, D. L.; PARK, G.; ZOU, Z.; SHCHEKIN, O. B.; DEPPE, D. G. Im room temperature GaAs-based quantum-dot laser. **Appl. Phys. Lett.**, v. 73, p. 2564-2566, 1998.

IGNATOV, S.; SHISHNIASHVILI, D.; GE, B.; SCHELLER, F.W.; LISDAT, F. Amperometric biosensor based on a functionalized gold electrode for the detection of antioxidants. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 17, p. 191-199, 2002.

IKEDA, A.; NKASU, M.; OGASAWARA, S.; NAKANISHI, H.; NAKAMURA, M.; KIKUCHI, J. Photoelectrochemical sensor with porphyrin-deposited electrodes for determination of nucleotides in water. **Organic Letters**, v. 11, p. 1163-1166, 2009.

JANG, H. S.; YANG, H.; KIM, S. W.; HAN, J. Y.; LEE, S. G.; JEON, D. Y. White light-emitting diodes with excellent color rendering based on organically capped CdSe quantum dots and Sr₃SiO₅: Ce³⁺, Li⁺ phosphors. **Adv. Mater.**, v. 20, p. 2696-2702, 2008.

JIN, W.; KONG, J.; WANG, H.; WU, J.; LU, T.; JIANG, J. Protective effect of tertbutylhydroquinone on cerebral inflammatory response following traumatic brain injury in mice. **Injury**, v. 42, n. 7, p. 714-718, 2011.

JONO, R.; FUJISAWA, J.; SEGAWA, H.; YAMASHITA, K. The origin of the strong interfacial charge-transfer absorption in the surface complex between TiO₂ and dicyanomethylene compounds. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 15, p. 18584-18588, 2015.

JONO, R.; FUJISAWA, J.; SEGAWA, H.; YAMASHITA, K. Theoretical study of the surface complex between TiO₂ and TCNQ showing interfacial charge-transfer transitions. **J. Phys. Chem. Lett.**, v. 2, p. 1167-1170, 2011.

JORGE, N.; GONCALVES, L. A. G. Aditivos utilizados em óleos e gorduras de frituras. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 1, p. 40-47, 1998.

KADOMA, Y.; ITO, S.; ATSUMI, T.; FUJISAWA, S. Mechanisms of cytotoxicity of 2- or 2, 6-di-tert-butylphenols and 2-methoxyphenols in terms of inhibition rate constant and a theoretical parameter. **Chemosphere**, v. 74, p. 626-632, 2009.

KARAVALAKIS, G.; HILARI, D.; GIVALOU, L.; KARONIS, D.; STOURNAS, S. Storage stability and ageing effect of biodiesel blends treated with different antioxidants. **Energy**, v. 36, p. 369-374, 2011.

KASHANIAN, S.; DOLATABADI, J. E. N. DNA binding studies of 2-tertbutylhydroquinone (TBHQ) food additive. **Food Chemistry**, v. 116, n. 3, p. 743-747, 2009.

KATOH, R.; FURUBE, A.; TAMAKI, Y. YOSHIJHARA, T.; MURAI, M.; HARA, K.; MURATA, S. Microscopic imaging of the efficiency of electron injection from excited sensitizer dye into nanocrystalline ZnO film. **J Photochem Photobio A**, v. 166, n. 1, p. 69-74, 2004.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual do Biodiesel**. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 2006.

KRUMMEL, D. Lipídeos. Em: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Roca, 1998.

LENZMAN, F.; KRUEGER, J.; BURNSIDE, S.; BROOKS, K.; GRATZEL, M.; GAL, D.; RUHLE, S.; CAHEN, D. Surface photovoltage spectroscopy of dye- sensitized solar cells with TiO₂, Nb₂O₅, and SrTiO₃ nanocrystalline photoanodes: Indication for electron injection from higher excited dye states. **J Phys Chem B**, v. 105, n. 27, p. 6347-6352, 2001.

LI, F.; XU, J. M.; ZHANG, D. Progress in study of organic solar cell. **Energ. Environ.**, v. 4, p. 52—54, 2007.

LI, H. B.; LI, J.; XU, Q.; HU, X. Y. Poly(3-hexylthiophene)/TiO₂ nanoparticle-functionalized electrodes for visible light and low potential photoelectrochemical sensing of organophosphorus pesticide chlopyrifos. **Analytical Chemistry**, v. 83, p. 9681-9686, 2011.

LI, S.-C.; WANG, J.; JACOBSON, P.; GONG, X.-Q. SELLONI, A.; DIEBOLD, U. Correlation between bonding geometry and bandgap states at organic-inorganic interfaces: catechol on rutile TiO₂ (110). **J. Am. Chem. Soc.**, v. 131, p. 980-984, 2009.

LI, X.; YANG, Q.; SUA, H.; CHEN, L.; HE, X.; HU, C.; XI, Y. CdS/CdSe core/shell nanowall arrays for high sensitive photoelectrochemical sensors. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 630, p. 94–99, 2015.

LI, Y.; LI, W.; ZHOU, H.; WANG, F.; CHEN, Y.; WANG, Y.; YU, C. A facile method for the sensing of antioxidants based on the redox transformation of polyaniline. **Sensors and Actuators B**, v. 208, p. 30–35, 2015.

LIN, X.; NI, Y.; KOBOT, S. Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants. **Analytica Chimica Acta**, v. 765, p. 54-62, 2013.

LINSEBIGLER, A. L.; LU, G.; YATES-Jr, J. T. Photocatalysis on TiO₂ surfaces: principles, mechanisms and selected results. **Chemical Reviews**, v. 95, p. 735-758, 1995.

LISDAT, F.; SCHAFER, D.; KAPP, A. Quantum dots on electrodes-new tools for Bioelectroanalysis. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 405, p. 3739–3752, 2013.

LIU, J.; ROUSSEL, C.; LAGGER, G.; TACCHINI, P.; GIRAULT, H. H. Antioxidant sensors based on DNA-modified electrodes. **Anal. Chem.**, v. 77, p. 7687–7694, 2005.

LIU, J.; SU, B.; LAGGER, G.; TACCHINI, P.; GIRAULT, H. H. Antioxidant redox sensors based on DNA modified carbon screen-printed electrodes. **Anal. Chem.**, v. 78, p. 6879–6884, 2006.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.

LOTT, J. A.; LEDENTSOV, N. N.; USTINOV, V. M.; EGOROV, A. Y.; ZHUKOV, A. E.; KOP'EV, P. S.; BIMBERG, D. Vertical cavity lasers based on vertically coupled quantum dots. **Electron. Lett.**, v. 33, p. 1150–1151, 1997.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Atividade antioxidante do extrato de sementes de limão (*citrus limon*) adicionado ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada. **Química Nova**, v. 32, p. 946-949, 2009.

MACYK, W.; SZACIŁOWSKI, K.; STOCHEL, G.; BUCHALSKA, M.; KUNCEWICZ, J.; LABUZ, P. Titanium (IV) complexes as direct TiO₂ photosensitizers. **Coord. Chem. Rev.**, v. 254, p. 2687-2701, 2010.

MANZHOS, S.; JONO, R.; YAMASHITA, K.; FUJISAWA, J.; NAGATA, M.; SEGAWA, H. Study of interfacial charge-transfer bands and electron recombination in the surface complexes of TCNE, TCNQ and TCNAQ with TiO₂. **J. Phys. Chem. C**, v. 115, p. 21487-21493, 2011.

MEHER, L. C.; VIDYA, S. D.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 10, p. 248-268, 2006.

MULROONEY, R. C.; SINGH, N.; KAUR, N.; CALLAN, J. F. An “off-on” sensor for fluoride using luminescent CdSe/ZnS quantum dots. **Chem. Commun.**, v. 6, p. 686–688, 2009.

NAGAI, F.; OKUBO, T.; USHIYAMA, K.; SATOH, K. KANO, I. Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in calf thymus DNA treated with tertbutylhydroquinone, a major metabolite of butylated hydroxyanisole. **Toxicology Letters**, v. 89, n. 2, p. 163-167, 1996.

NAWAR, W. W. Lipids. Em: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3^a ed. Nova York: Marcel Dekker, 2000.

NIU, S. Y.; PENG, K.; KOU, J. Introduction to the photoelectric materials of nanostructure (in Chinese). **J Liaoning Normal Univ (Nat Sci Ed)**, v. 26, n. 1, p. 63-67, 2003.

NOGUEIRA, A. F. Células solares de Grätzel com eletrólito polimérico. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, 2001.

O'REGAN, B.; GRÄTZEL, M. A low cost, high efficiency solar cell based on dye-sensitized colloidal TiO₂ films. **Nature**, v. 353, p. 737-740, 1991.

OKUBO, T.; NAGAI, F.; USHIYAMA, K.; KANO, I. Contribution of oxygen radicals to DNA cleavage by quinone compounds derived from phenolic antioxidants, tert-butylhydroquinone and 2,5-di-tert-butylhydroquinone. **Toxicology Letter**, v. 90, p. 11-18, 1997.

OKUBO, T.; YOKOYAMA, Y.; KANO, K.; KANO, I. Cell death induced by the phenolic antioxidant tert-butylhydroquinone and its metabolite tertbutylquinone in human

monocytic leukemia U937 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 679-688, 2003.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PALOMARES, E.; CLIFFORD, J. N.; HAQUE, S. A.; LUTZ, T.; DURRANT, J. R. Control of charge recombination dynamics in dye sensitized solar cells by the use of conformally deposited metal oxide blocking layers. **J Am Chem Soc**, v. 125, n. 2, p. 475-482, 2003.

PARENTE, E. J. S. **Biodiesel**: uma aventura tecnológica num país engraçado. Fortaleza: Unigráfica, 2003.

PÉREZ-ROJAS, J. M.; GUERRERO-BELTRÁN, C. E.; CRUZ, C.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, D. J.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, C. M.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. Preventive effect of tert-butylhydroquinone on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 10, p. 2631-2637, 2011.

PERSON, P.; BERGSTROM, B.; LUNELL, S. Quantum chemical study of photoinjection processes in dye-sensitized TiO₂ nanoparticles. **J. Phys. Chem. B.**, v. 104, p. 10348-10351, 2000.

PORTERFIELD, D. M. Measuring metabolism and biophysical flux in the tissue, cellular and sub-cellular domains: Recent developments in self-referencing amperometry for physiological sensing. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, n. 7, p. 1186-1196, 2007.

QUADROS, D. P. C.; CHAVES, E. S.; SILVA, J. S. A.; TEIXEIRA, L. S. G; CURTIUS, A. J.; PEREIRA, P. A. P. Contaminantes em biodiesel e controle de qualidade. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 5, p. 376-384, 2011.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RETTTER, U.; LOHSE, H. Electrochemical impedance spectroscopy. Em: SCHOLZ, F. **Electroanalytical methods**: guide to experiments and applications. Berlim: Springer Verlag, 2002.

RIBEIRO, D. V.; SOUZA, C. A. C.; ABRANTES, J. C. C. Use of Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) to monitoring the corrosion of reinforced concrete. **Rev. IBRACON Estrut. Mater.**, v. 8, n. 4, p. 529-546, 2015.

RYU, K. Effect of antioxidants on the oxidative stability and combustion characteristics of biodiesel fuels in an indirect-injection (IDI) diesel engine. **Journal of Mechanical Science and Technology**, v. 23, p. 3105-3113, 2009.

RYU, K. The characteristics of performance and exhaust emissions of a diesel engine using a biodiesel with antioxidants. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 578-582, 2010.

SAAD, B.; SING, Y. Y.; NAWI, M. A.; HASHIM, N.; ALI, A. S. M.; SALEH, M. I.; SULAIMAN, S. F.; TALIB, K. M.; AHMAD, K. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. **Food Chemistry**, v. 105, p. 389-394, 2007.

SALINAS, R. D. **Alimentos e nutrição**: introdução a bromatologia. 3ªed., Porto Alegre: Artmed, 2002.

SCHAICH, K. M. Lipid Oxidation: Theoretical Aspects. Em: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. Nova York: John Wiley, 2005.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.**, v. 112, p. 930-940, 2010.

SHI, L.; DE PAOLI, V.; ROSENZWEIG, N. ROSENZWEIG, Z. Synthesis and application of quantum dots FRET-based protease sensors. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 128, p. 10378–10379, 2006.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Thomson, 2006.

STOLL, C.; GEHRING, C.; SCHUBERT, K.; ZANELLA, M.; PARAK, W. J.; LISDAT, F. Photoelectrochemical signal chain based on quantum dots on gold – sensitive to superoxide radicals in solution. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, p.260-265, 2008.

SUN, Q.; WANG, Y. A.; LI, L. S.; WANG, D.; ZHU, T.; XU, J.; LI, Y. Bright, multicoloured light-emitting diodes based on quantum dots. **Nat. Photon.**, v. 1, p. 717–722, 2007.

SZACIŁOWSKI, K.; MACYK, W.; STOCHEL, G. Synthesis, structure and photoelectrochemical properties of the TiO₂–Prussian blue nanocomposite. **J. Mater. Chem.**, v. 16, p. 4603-4611, 2006.

TAKEMOTO, E.; TEIXEIRA FILHO, J. GODOY, H. T. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1189-1194, 2009.

TANG, H.; DE GUZMAN, R. C.; SALLEY, S. O.; NG, S. K. The oxidative stability of biodiesel: effects of FAME composition and antioxidant. **Lipid Technology**, v. 20, p. 249-252, 2008.

THOMAS, A.; VIKRAMAN, A. E.; THOMAS, D.; KUMAR, K. G. Voltammetric sensor for the determination of TBHQ in coconut oil. **Food Anal. Methods**, v. 8, p. 2028-2034, 2015.

TOMASULO, M.; YILDIZ, I.; KAANUMALLE, S. L.; RAYMO, F. M. PH-sensitive ligand for luminescent quantum dots. **Langmuir**, v. 22, p. 10284–10290, 2006.

VASUDEVAN, D.; GADDAM, R. R.; TRINCHI, A.; COLE, I. Core-shell quantum dots: properties and applications. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 636, p. 395-404, 2015.

WANG, G. L.; XU, J. J.; CHEN, H. Y. Selective detection of trace amount of Cu²⁺ using semiconductor nanoparticles in photoelectrochemical analysis. **Nanoscale**, v. 2, p. 1112-1114, 2010.

WANG, G. L.; XU, J. J.; CHEN, H. Y. Progress in the studies of photoelectrochemical sensors. **Science in China B**, v. 52, p. 1789-1800, 2009.

WANG, G.-L.; JIAO, H.-J.; LIU, K.-L.; WU, X.-M.; DONG, Y.-M.; LI, Z.-J.; ZHANG, C. A novel strategy for the construction of photoelectrochemical sensors based on quantum dots and electron acceptor: The case of dopamine detection. **Electrochemistry Communications**, v. 41, p. 47–50, 2014.

WANG, G.-L.; LIU, K.-L.; DONG, Y.-M.; LI, Z.-J.; ZHANG, C. In situ formation of p-n junction: a novel principle for photoelectrochemical sensor and its application for mercury (II) ion detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 827, p. 34-39, 2014.

WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. 2^a ed. Nova York: John Wiley & Sons, Inc., 2000.

WANG, L.; MA, W.; GAN, S.; HAN, D.; ZHANG, Q.; NIU, L. Engineered photoelectrochemical platform for rational global antioxidant capacity evaluation based on ultrasensitive sulfonated graphene-TiO₂ nanohybrid. **Anal. Chem.**, v. 86, p. 10171–10178, 2014.

WANG, P.; HAN, C.; ZHOU, F.; LU, J.; HAN, X.; WANG, Z. Electrochemical determination of tert-butylhydroquinone and butylated hydroxyanisole at choline functionalized film supported graphene interface. **Sensors and Actuators B**, v. 224, p. 885-891, 2016.

WEBSTER, O. W.; MAHLER, W.; BENSON, R. E. Chemistry of tetracyanoethylene anion radical. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 84, p. 3678-3684, 1962.

XIU-QIN, L.; CHAO, J.; YAN-YAN, S.; MIN-LI, Y.; XIAO-GANG, C. Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. **Food Chemistry**, v. 113, p. 692-700, 2009.

YAAKOB, Z.; NARAYANAN, B. M.; PADIKKAPARAMBIL, S.; UNNI, K. S.; AKBAR, P. M. A review on the oxidation stability of biodiesel. **Renewable Sustainable Energy Rev.**, v. 35, p. 136-153, 2014.

YOTSUMOTO-NETO, S.; LUZ, R. C. S.; DAMOS, F. S. Visible LED light photoelectrochemical sensor for detection of L-Dopa based on oxygen reduction on TiO₂ sensitized with iron phthalocyanine. **Electrochem. Commun.**, v. 62, p. 1-4, 2016.

YU, X. L.; WANG, S. M.; XU, Z. X.; LI, J. B. Progress on the study of photoelectrical functional organic dyes and their application. **Dyestuffs Color**, v. 4, n. 2, p. 63-80, 2004.

YUE, X.; SONG, W.; ZHU, W.; WANG, J.; WANG, Y. In situ surface electrochemical co-reduction route towards controllable construction of AuNPs/ERGO electrochemical sensing platform for simultaneous determination of BHA and TBHQ. **Electrochimica Acta**, v. 182, p. 847-855, 2015.

ZHANG, C. Y.; YE, H. C.; KUROKI, M. T.; WANG, T. H. Single-quantum-dot-based DNA nanosensor. **Nat. Mater.**, v. 4, p. 826-831, 2005.

ZHANG, X.; LI, S.; JIN, X.; ZHANG, S. A new photoelectrochemical aptasensor for the detection of thrombin based on functionalized graphene and CdSe nanoparticles multilayers. **Chem. Commun.**, v. 47, p. 4929-4931, 2011.

ZHAO, W. W.; WANG, J.; XU, J. J.; CHEN, H. Y. Energy transfer between CdS quantum dots and Au nanoparticles in photoelectrochemical detection. **Chem. Commun.**, v. 47, p. 10990-10992, 2011.

ZIAUDEEN, S. A.; GADDAM, R. R.; PALLAPOTHU, P. K.; SUGUMAR, M. K.; RANGARAJAN, J. Supra gap excitation properties of differently confined PbS-nano structured materials studied with opto-impedance spectroscopy. **J. Nanophotonics**, v. 7, p. 073-075, 2013.

ZOU, Y. P.; HUO, L. J.; LI, Y. F. Research progress on conjugated polymer luminescent and photovoltaic materials. **Chin Polym Bull**, v. 8, p. 146-173, 2008.

ANEXOS



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Electroanalytical Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jelechemDevelopment of a photoelectrochemical sensor for detection of TBHQ antioxidant based on LiTCNE-TiO₂ composite under visible LED light

Thatyara Oliveira Monteiro, Sakae Yotsumoto Neto, Flávio Santos Damos*, Rita de Cássia Silva Luz*

Department of Chemistry, Federal University of Maranhão, 65080-805 São Luís, MA, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 November 2015

Received in revised form 10 May 2016

Accepted 10 May 2016

Available online 12 May 2016

Keywords:

Photoelectrochemical sensor

Visible LED light

LiTCNE/TiO₂

TBHQ, BHA, BHT

ABSTRACT

In this work, a novel photoelectrochemical sensor for detection of *tert*-butylhydroquinone (TBHQ) based on anatase titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles sensitized with lithium tetracyanoethylene (LiTCNE/TiO₂) was developed. The LiTCNE/TiO₂ photoelectrochemical sensor showed high anodic photocurrent to TBHQ under visible LED light irradiation in comparison to pure anatase TiO₂ nanoparticles or pure LiTCNE. The LiTCNE/TiO₂ composite shows a photocurrent to TBHQ about 28 times higher than that observed to TiO₂ nanoparticles and 4-fold higher than that observed to LiTCNE modified electrode. The LiTCNE/TiO₂ composite showed a low charge transfer resistance in comparison to their individual components. Under optimized conditions, the photoelectrochemical sensor shows a linear response range from 0.4 up to 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ with a sensitivity of 0.01 $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ and limit of detection of 100 nmol L^{-1} for the detection of TBHQ. The photoelectrochemical sensor showed high photocurrent to TBHQ in comparison to photocurrent response to butylated hydroxyanisole (BHA) and butyl-hydroxytoluene (BHT). The present LiTCNE/TiO₂ photoelectrochemical sensor was successfully applied to biodiesel samples, with recovery values between 96.8% and 98.2%. The results obtained were found to be similar to those obtained using the spectrophotometric method with agreement at 95% confidence level.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Biodiesel is a renewable and biodegradable fuel which is mixed with petroleum-derived diesel at several proportions to be used in diesel engines [1]. In addition, the biodiesel is a less pollutant fuel in comparison to diesel oil due to its lower levels of carbon monoxide emissions, sulfur compounds, and particulate matter [2]. However, the biodiesel can oxidize in the presence of air, leading to the formation of corrosive acids and deposits which can damage diesel engine components during storage [3]. The antioxidant compounds play a significant role in retarding the biodiesel oxidation reactions in order to maintain the good biodiesel quality [4]. The addition of antioxidants such as *tert*-butylhydroquinone (TBHQ), butylated hydroxyanisole (BHA), and butyl-hydroxytoluene (BHT) into biodiesel has been reported by many research groups in order to enhance the stability of this fuel [5].

In this sense, a number of materials have been proposed to development of sensors for antioxidants determination, such as enzymes [6], redox proteins [7], semiconducting nanoparticles [8], graphene [9], metal nanoparticles [10], DNA-modified electrodes [11], and photoactive nanomaterials [12]. Thus, sensors based on various signal

transduction principles have been used for the determination of antioxidants including electrochemical [6–9], colorimetric [13], optical [14], and photoelectrochemical [15].

The photoelectrochemical sensors have opened new perspectives in sensor area since they can operate with low noise and background current due to the separation between the excitation light source and the photocurrent detector [15,16]. Pioneering works in the development of photoelectrochemical sensors have opened new perspectives in application of novel materials with excellent photoelectrochemical properties including the promising quantum dots [17–19] and titanium dioxide (TiO₂) [20–21]. Over the past decades, TiO₂ has been applied in many promising areas ranging from photovoltaics, photocatalysis, to photoelectrochemical sensors [22–24]. TiO₂ is an interesting material for photoelectrochemical applications since it is chemically stable, abundant, non-toxic, and cost-effective [16,22]. However, TiO₂ shows wide bandgap which results in a strong absorbance in the UV region as well as it shows low electron mobility and sluggish kinetics of holes [16,24].

The seminal work of O'Regan and Gratzel [25] in 2001 and further advances in dye-sensitized photocatalysts have shown that the sensitization of titanium oxide allows a more efficient utilization of incoming solar and room light improving the sensitivity of TiO₂-based devices to visible light [23,24]. A number of dyes such as water-soluble [meso-tetrakis(4-sulfonatophenyl) porphyrin] iron(III) monochloride

* Corresponding authors.

E-mail addresses: flavio.damos@yahoo.com (F.S. Damos), rita_rcsluz@yahoo.com.br (R.C.S. Luz).

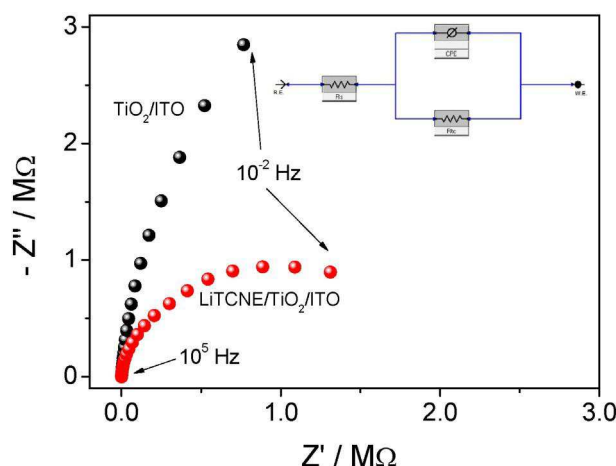


Fig. 1. Nyquist plots for LiTCNE/TiO₂/ITO and TiO₂/ITO photoelectrodes in 0.1 mol L⁻¹ Na₂SO₄ aqueous solution electrolyte recorded at under visible LED light.

(FeTPPS) [26], carboxyl functionalized CdS nanoparticles [27], plasmonic nanostructures [28], iron phthalocyanine [29], and metal nanoparticles [30] have been exploited as TiO₂ sensitizers.

Recent works have shown the potentiality of charge transfer complexes in developing of organic-inorganic hybrid materials by combining titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles with bis(dicyanomethylene) (TCNX) electron acceptors such as tetracyanoethylene (TCNE), 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane (TCNQ), and tetracyanoanthraquinodimethane (TCNAQ) [31–33]. These compounds can form surface complexes with TiO₂ nanoparticles giving composite materials with new visible light absorption bands due to interfacial charge-transfer transitions from the TCNX compounds to the conduction band of TiO₂ [31–33].

The aim of the present work is the development of a novel photoelectrochemical sensor based on indium tin oxide modified with anatase TiO₂ nanoparticles sensitized with lithium tetracyanoethylene (LiTCNE/TiO₂) for TBHQ detection exploiting visible LED light. The photoelectrochemical sensor showed a wide linear range, good stability, and selective to TBHQ. The proposed photoelectrochemical sensor based on LiTCNE/TiO₂ shows potential applications in the practical determination of TBHQ in biodiesel samples. To the best of our knowledge, this is the first photoelectrochemical sensor for TBHQ determination exploiting the interaction between LiTCNE and anatase TiO₂ nanoparticles under visible LED light.

2. Experimental

2.1. Reagents and chemicals

All chemicals were of analytical grade and used without further purification steps. Anatase TiO₂ nanoparticles, lithium iodide, tetracyanoethylene, TBHQ, BHA, and BHT were purchased from Sigma-Aldrich. Ethanol, sodium hydroxide, sodium chloride, potassium chloride, dimethylsulphoxide, N, N-dimethylformamide, hydrochloric acid, citric acid and monobasic sodium phosphate were obtained from Vetec Química Fina LTDA. The synthesis of LiTCNE was performed according to the literature [34]. All solutions were prepared with water purified in an OS100LXE system from GEHAKA Company (Gehaka Ltd., São Paulo, SP, Brazil).

2.2. Photoelectrochemical measurements

Photoelectrochemical measurements were carried out with an Autolab PGSTAT 128N potentiostat/galvanostat (Metrohm Autolab B.V., Utrecht, the Netherlands) controlled by GPES software. The photoelectrochemical measurements were carried out in a three-electrode system composed of indium tin oxide (ITO) as working electrode,

Pt wire as counter electrode, and Ag/AgCl (saturated) as reference electrode. Electrochemical impedance spectroscopy measurements were performed in 0.5 mol L⁻¹ K₂SO₄ solution from 10⁻² Hz up to 10⁵ Hz under AC amplitude of 10 mV. All photoelectrochemical measurements were performed with a low cost commercial 20 W LED light as the irradiation energy.

2.3. Construction of the LiTCNE/TiO₂ photoelectrochemical sensor

Firstly, the indium tin oxide substrate was firstly sonicated and copiously washed by immersing in ethanol and water to remove any adsorbed species. Secondly, a suspension was prepared by mixing 20 mg of anatase TiO₂ nanoparticles and 5 mg LiTCNE in 2.5 mL of DMF with the aid of sonication. After that, the solution was filtered and the solid washed with water, and then, it was dried at 50 °C for 12 h. Then, 1.0 mg of the LiTCNE/TiO₂ composite was mixed with 50 μL of water with the aid of sonication for 10 min. Finally, 10 μL of this suspension was placed directly onto the photoelectrode substrate and allowed to dry at 50 °C for 10 min to form LiTCNE/TiO₂ photoelectrochemical sensor.

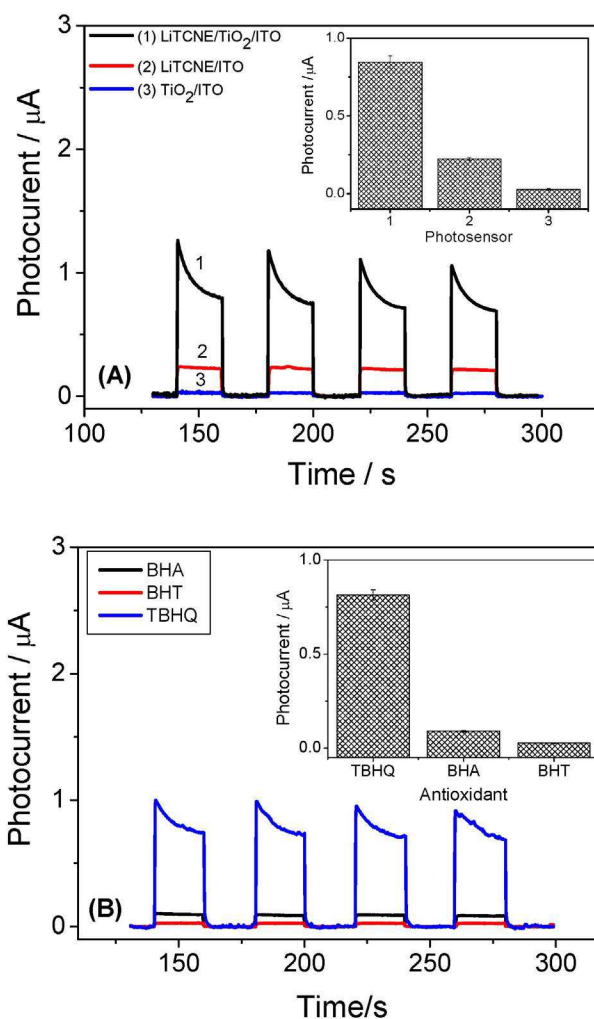


Fig. 2. (A) Photocurrent response of LiTCNE/TiO₂/ITO (1), LiTCNE/ITO (2), and TiO₂/ITO (3). Inset: Plot obtained from Fig. 2A. (B) Effect of BHA and BHT on the photocurrent of TBHQ. Inset: Plot obtained from Fig. 2B. Experiments carried in 0.1 phosphate buffer solution (pH 7.0) containing 100 μmol L⁻¹ TBHQ, 100 μmol L⁻¹ BHA and 100 μmol L⁻¹ BHT. E_{app} = 0.25 V vs Ag/AgCl.

2.4. Preparation and analysis of biodiesel samples

1.0 g of biodiesel samples were diluted in 100.0 mL of pure ethanol containing TBHQ at two different concentrations and vigorously agitated for 30 min. An aliquot of each sample solution was diluted in 5.0 mL of 0.1 mol L^{-1} phosphate, $\text{pH} = 7.0$, and the solution was analyzed with the photoelectrochemical sensor in five replicates. The resulting sample was then directly analyzed with sensor. The TBHQ present in the biodiesel samples was quantified using the standard addition method.

3. Results and discussion

3.1. Electrochemical characteristics of the LiTCNE/TiO₂ composite photoelectrochemical sensor

Fig. 1 shows Nyquist plots for the LED light illuminated TiO₂/ITO and LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor measured in aqueous 0.1 mol L^{-1} Na₂SO₄ solution in the frequency range $10^5 \text{ Hz} - 10^{-2} \text{ Hz}$. Although the high charge transfer resistance values for both photo-electrodes due to the absence of an electron-donor molecule in the solution, the charge-transfer resistance value for the LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor under LED light was 10-fold lower than that to TiO₂/ITO photoelectrode. The lower charge transfer resistance to LiTCNE-sensitized TiO₂ suggests a more effective separation of photogenerated electron-hole pair or a faster interfacial charge transfer to the electron donor/acceptor with the composite LiTCNE/TiO₂ material [35,36].

Fig. 2A shows the photocurrents to $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ of TBHQ in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution on: LiTCNE/TiO₂/ITO composite (1); LiTCNE/ITO (2); and TiO₂/ITO nanoparticles (3). The photocurrent values were $0.83 (\pm 0.06) \text{ } \mu\text{A}$, $0.23 (\pm 0.01) \text{ } \mu\text{A}$, and $0.03 (\pm 0.01) \text{ } \mu\text{A}$, respectively (inset of Fig. 2A). Therefore, the LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor showed a photocurrent about 28-fold

higher than that to TiO₂/ITO and about 4-fold higher than that to LiTCNE/ITO under visible LED light, which indicates the high capability of the composite in photo-generate electrons and holes improving the photoelectrochemical efficiency. In addition, a control experiment to the LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor showed a photocurrent in the absence of TBHQ donor molecule about $33 \pm 3 \text{ nA}$, which suggests that the photocurrent efficiency can be amplified by the electron-transfer process from the TBHQ molecule to LiTCNE/TiO₂ composite.

Fig. 2B shows the photocurrent of BHA and BHT on the proposed photoelectrochemical sensor. The photocurrent response of the LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor was evaluated by monitoring the photocurrent at 0.25 V vs Ag/AgCl. As can be seen, the photocurrents to foreign compounds were very lower than that observed to TBHQ (inset of Fig. 2B) indicating the high selectivity of photoelectrochemical sensor toward TBHQ. We believe that a higher number of hydroxyl groups available in TBHQ structure can promote a more favorable interaction between the anti-oxidant and TiO₂. Besides, the response of BHA was higher than that obtained to BHT, which can be due to the hydroxyl group under steric hindering in BHT molecule.

The mechanism of the LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor improvement for the detection of TBHQ under visible LED light illumination is proposed as follows and the schematic diagram is presented in Fig. 3. Herein, the LiTCNE/TiO₂ hybrid material strongly absorbs visible LED light such as electrons and holes are generated [31–33], such as the TBHQ can act as an electron donor to trap holes in the LiTCNE/TiO₂ composite improving the photosensor response.

3.2. Optimization of the LiTCNE/TiO₂ photoelectrochemical sensor response

The effects of solution pH, buffer solution, and applied potential were investigated in order to find the best experimental conditions for TBHQ determination. In this sense, the response of the photoelectrochemical

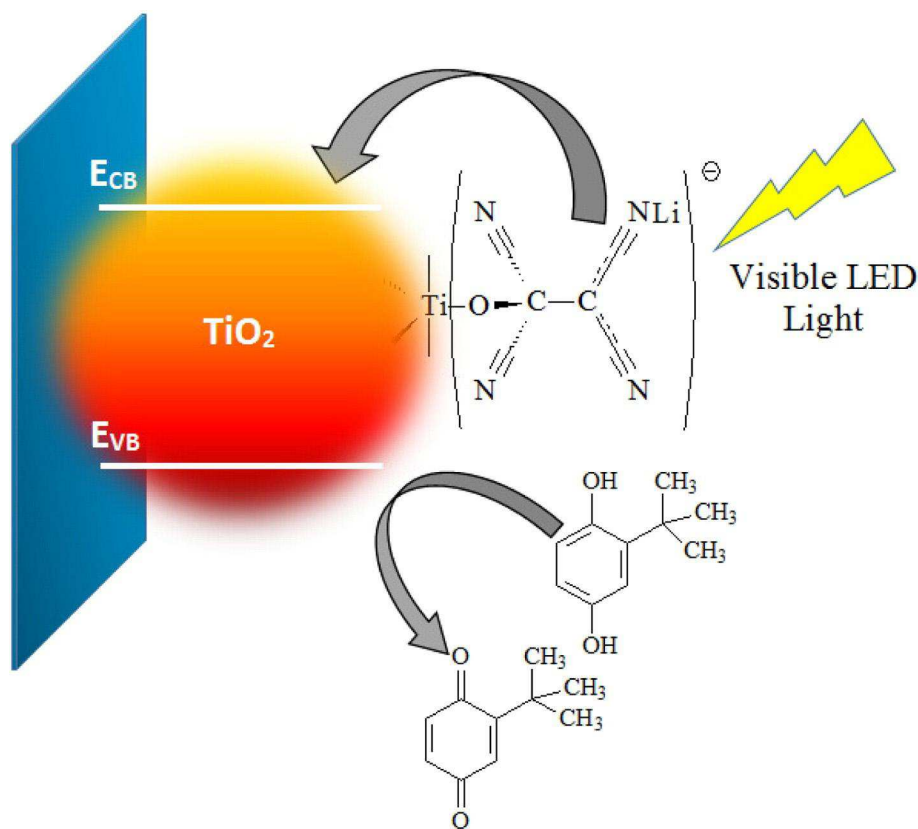


Fig. 3. Proposed mechanism for the photoelectrochemical detection of TBHQ.

sensor to TBHQ was investigated in phosphate buffer solution with pH ranging from 5.0 up to 8.0 under an applied potential of 0.25 V vs Ag/AgCl_(sat). The photoelectrochemical sensor response increases in the pH ranging from 5.0 up to 7.0, after that, the response decreases until pH 8.0 (Fig. 4(A)). Taking into account that the pKa of TBHQ is about 10.0, the antioxidant is protonated in all investigated pH range (5.0–8.0). In addition, the photoelectrochemical oxidation of TBHQ can produce *tert*-butylbenzoquinone (TBBQ) such as the photoelectrochemical process involves the release of protons which is beneficial to TBHQ

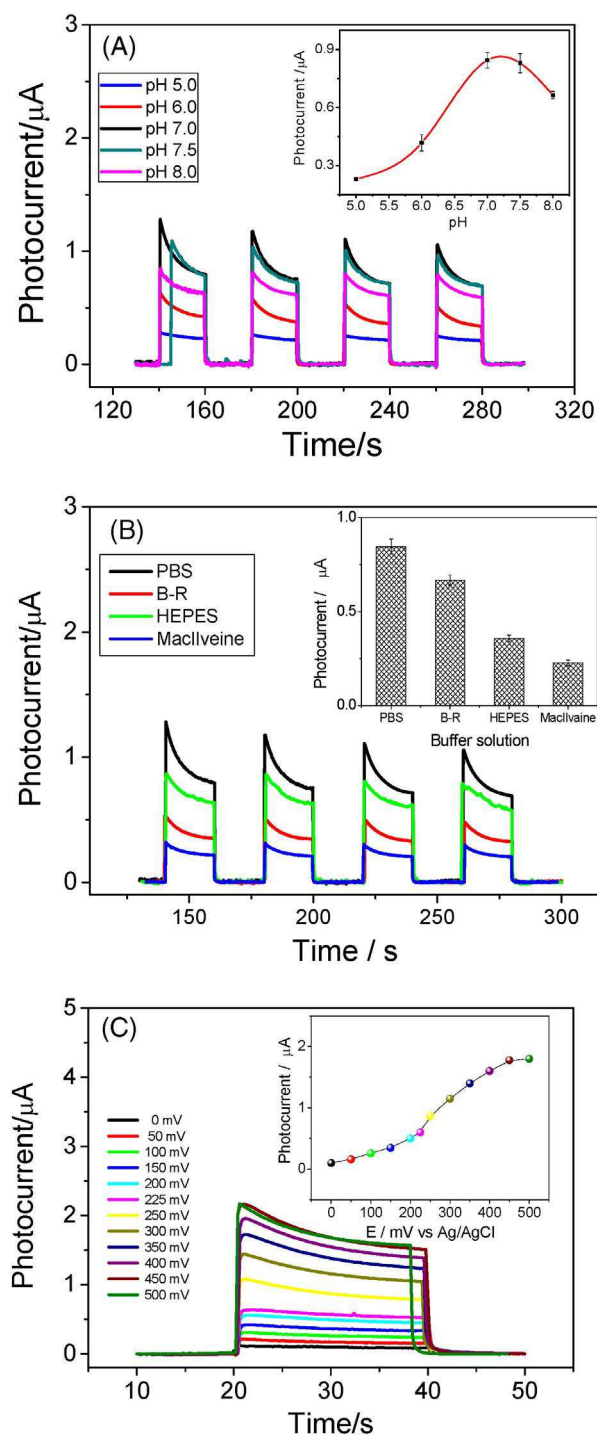


Fig. 4. (A) Influence of pH and (B) buffer solution on the photosensor response for $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ TBHQ. Measurements were carried out in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution. $E_{\text{app}} = 0.25 \text{ V}$ vs Ag/AgCl. (C) Effect of the applied potential on the photocurrent for $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ TBHQ. Measurements were carried out in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution.

oxidation from pH 8.0 to 7.0. However, the photoelectrochemical sensor showed a low stability at acid conditions which has resulted in a decrease of the photocurrent to TBHQ oxidation from pH 7.0 to 5.0. Therefore, all subsequent measurements were carried out in phosphate buffer solution at pH 7.0.

It was verified that the type of buffer solution also influence the photocurrent obtained for TBHQ, such as the effects of four different buffer solutions were also investigated (Fig. 4(B)). In this sense, the photocurrent of the photoelectrochemical sensor was measured in Phosphate, McIlvaine, HBS-EP and Hepes. The values of photocurrent to $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ TBHQ obtained in phosphate were higher than those obtained in McIlvaine, HBS-EP and Hepes solutions, such as the phosphate buffer was chosen for further experiments.

Taking into account that the effect of the applied potential on the photocurrent is an important parameter which contributes to the enhancement of the photocurrent, it was also verified. In this sense, the applied potential was varied from 0 mV up to 500 mV to phosphate buffer solution (pH 7.0) containing $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ of TBHQ while the LiTCNE/TiO₂/ITO response was monitored (Fig. 4(C)). The photoelectrochemical response increased from 0 V to 450 mV and then becomes almost constant until 500 mV, therefore the best photoelectrochemical sensor response was achieved in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution (pH 7.0) under an applied potential of 450 mV vs Ag/AgCl_(sat).

3.3. Analytical performance of the LiTCNE/TiO₂/ITO sensor

Fig. 5 shows the photocurrent response obtained for LiTCNE/TiO₂/ITO under 450 mV in 0.1 mol L^{-1} in phosphate buffer solution (pH 7.0) containing TBHQ at several concentrations. As can be seen in inset (A) of Fig. 5, the photoelectrochemical sensor showed a linear response range to TBHQ from $0.4 \mu\text{mol L}^{-1}$ to $500 \mu\text{mol L}^{-1}$, which can be expressed according to the following equation:

$$I_{\text{photocurrent}} (\mu\text{A}) = 0.370 (\pm 0.050) + 0.010 (\pm 0.003) [\text{TBHQ}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

with a correlation coefficient of 0.995 (for $n = 7$).

A detection limit (LD) of 100 nmol L^{-1} was determined using the equation $\text{LD} = 3 \sigma_{\text{bl}} / \text{slope}$, where σ_{bl} is the standard deviation of the blank response which is obtained from 10 replicate measurements of the blank solution and *slope* is the slope of the analytical curve. The linear range of response and limit of detection were analyzed in

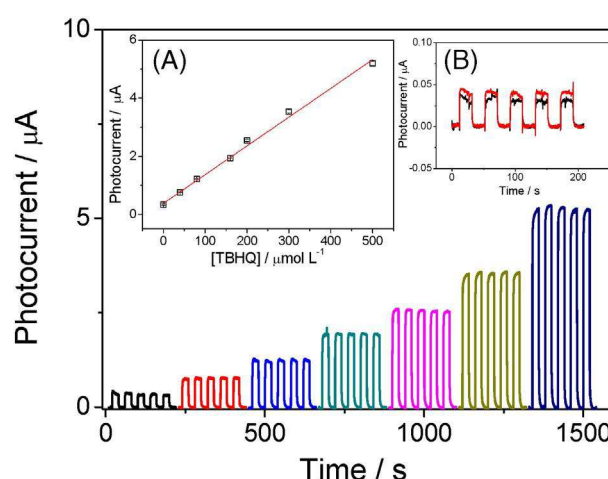


Fig. 5. Photocurrent response to TBHQ obtained under optimized conditions to concentrations between 0.4 and $500 \mu\text{mol L}^{-1}$. Inset (A): Analytical curve. $E_{\text{app}} = 0.45 \text{ V}$ vs Ag/AgCl. Inset (B): Photocurrent responses for LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution (black line) and 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution in presence of biodiesel ethanol solution (red curve). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

Table 1
Comparison of some analytical parameters of sensors for determination of TBHQ.

Electrode	Technique	Linear range $\mu\text{mol L}^{-1}$	LOD $\mu\text{mol L}^{-1}$	Reference
AuNPs/ERGO/GCE	LSV	0.60–42.20	0.31	[37]
Au–SnO ₂ /GNs-SWCNTs electrode	DPV	0.05–230	0.058	[38]
SPE-MWCNT	LSV	0.5–10	0.341	[39]
HMDE	SWV	1.05–10.10	0.0343	[40]
BDD	DPV	1.2–602	3.3	[41]
Pt:PPy:NiPcTs	DPV	20–140 120–220	7.4 25	[42]
MWCNT/GCE	SWV	4–100	0.032	[43]
AuNPs/GE	LSV	1–16.8	0.047	[44]
LiTCNE/TiO ₂ /ITO	Photoelectrochemical	0.4–500	0.10	This work

NR: Not reported; AuNPs/ERGO/GCE: gold nanoparticles/electrochemical reduced graphene oxide; Au–SnO₂/GNs-SWCNTs electrode: Au–SnO₂/graphene (GNs) – single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) nanocomposite; SPE-MWCNT: multi-walled carbon nanotube screen-printed; HMDE: Hanging mercury-drop electrode; BDD: boron doped diamond electrode; GCE: glassy carbon electrode; Pt:PPy:NiPcTs: polypyrrole electrode modified with a nickel phthalocyanine complex; MWCNT/GE: multiwalled carbon nanotube modified gold electrode; AuNPs/GCE: Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles; LSV: linear sweep voltammetry; SWV: square wave voltammetry; DPV: differential pulse voltammetry.

comparison to electrochemical sensors to TBHQ reported in the literature (Table 1) [37–44]. As can be seen, the LiTCNE/TiO₂ photoelectrochemical sensor shows a linear range of response about of three magnitude orders and a limit of detection of 100 nmol L^{−1}, which is comparable to the best electrochemical sensors to TBHQ. The inset (B) of Fig. 5 shows that the photocurrent of the LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor in the absence of TBHQ donor molecule is very low (black line), which suggests that the photocurrent efficiency can be amplified by the electron-transfer process from the TBHQ molecule to LiTCNE/TiO₂ composite. A control experiment carried out to LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor shows a low interference of ethanol on the photocurrent response (inset B of Fig. 5, red line).

In order to check the stability of the photoelectrochemical sensor successive measurements of the sensor photocurrent to 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TBHQ in 0.1 mol L^{−1} phosphate buffer solution at pH 7.0 were carried out. After 100 measurements the photocurrent shows a decrease of only 5% in respect to the first measurement of the photocurrent. Ten photoelectrochemical sensors were prepared in order to study the repeatability of the electrode preparation procedure and the measurements of the photocurrent to each one were performed. The relative standard deviation value of photocurrents was lower than 7%.

3.4. Application in biodiesel samples and recovery tests

The TBHQ concentrations for two different biodiesel samples were determined by measuring the photocurrent using the LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor under the previously optimized experimental conditions. The TBHQ determinations were realized in biodiesel samples solubilized in appropriated ethanol amount without previous treatment by the standard addition method. The determination of

TBHQ in biodiesel samples was taken in 0.1 mol L^{−1} phosphate buffer, pH 7.0 containing the sample. Initially, the sample of biodiesel was analyzed (Table 2) without the presence of TBHQ to make sure it revealed no signals of either TBHQ or other compounds that might interfere with the readings. After that, the samples were spiked with TBHQ at concentrations: 100 and 116 mg L^{−1} to sample A and 200 and 216 mg L^{−1} to sample B. Table 2 shows a comparison between the proposed and a comparative method for biodiesel samples. Applying a paired Student's *t*-test to compare these methods, we could observe that, at the 95% confidence level, there was no statistical difference between the spectrophotometric and the proposed method. The recovery values were found between 96.8% and 98.2% for photoelectrochemical method and between 96.3% and 98.5% for the comparative method, showing good agreement with the spiked value, which suggests that the proposed photoelectrochemical sensor can be successfully applied to quantify TBHQ in biodiesel samples.

4. Conclusion

In conclusion, the present work describes the pioneering development of a photoelectrochemical sensor for determination of TBHQ based on LiTCNE/TiO₂ composite material exploiting visible LED light. The constructed sensor exhibited wide linear range, low limit of detection, and high stability and repeatability for the determination of TBHQ. The LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor was able to detect TBHQ at 0.25 V vs Ag/AgCl without the interference of BHA and BHT. Additional advantages such as simplicity and low cost could be also obtained with the proposed photoelectrochemical sensor. In this sense, it can be concluded that the LiTCNE/TiO₂/ITO photoelectrochemical sensor is a sensitive, precise, robust and stable sensor for TBHQ determination in biodiesel samples.

Acknowledgements

The authors are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Maranhão (FAPEMA, Processes Nos. 00738/2014 and 00753/14), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processes Nos. 486998/2012 and 303045/2012), and Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanalítica (INCTBio) for financial support.

References

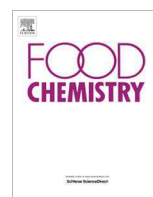
- [1] A.C. Pinto, L.L.N. Guarieiro, M.J.C. Rezende, N.M. Ribeiro, E.A. Torres, W.A. Lopes, P.A. de P. Pereira, J.B. de Andrade, Biodiesel: an overview, *J. Braz. Chem. Soc.* 16 (2005) 1313–1330.
- [2] I.M. Atadashi, M.K. Aroua, A. Aziz, High quality biodiesel and its diesel engine application: a review, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14 (2010) 1999–2008.
- [3] E.S. Almeida, F.M. Portela, R.M.F. Sousa, D. Daniel, M.G.H. Terrones, E.M. Richter, R.A.A. Munõz, Behaviour of the antioxidant *tert*-butylhydroquinone on the storage stability and corrosive character of biodiesel, *Fuel* 90 (2011) 3480–3484.
- [4] R.O. Dunn, Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel), *Fuel Process. Technol.* 86 (2005) 1071–1085.
- [5] E.C.R. Maia, D. Borsato, I. Moreira, K.R. Spacino, P.R.P. Rodrigues, A.L. Gallina, Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants, *Fuel Process. Technol.* 92 (2011) 1750–1755.

Table 2
Recovery values of TBHQ obtained for two biodiesel samples (n = 5).

Samples	[TBHQ] ^a added/mg L ^{−1}	[TBHQ] expected/mg L ^{−1}	Photoelectrochemical method		Spectrophotometric method [45]	
			[TBHQ] ^a found/mg L ^{−1}	Recovery (%)	[TBHQ] ^a found/mg L ^{−1}	Recovery (%)
A	0	0	–	–	–	–
	100	100	97.0 (±0.2)	97.0	97.5 (±0.3)	97.5
	116	116	114.0 (±0.1)	98.2	113.0 (±0.2)	97.4
B	0	–	–	–	–	–
	200	200	196.0 (±0.1)	98.0	198.0 (±0.3)	99.0
	216	216	209.0 (±0.3)	96.8	208.0 (±0.5)	96.3

^a Values obtained after considering the dilution factor for samples.

- [6] B. Haghighi, L. Gorton, T. Ruzgas, L.J. Jönsson, Characterization of graphite electrodes modified with laccase from *Trametes versicolor* and their use for bioelectrochemical monitoring of phenolic compounds in flow injection analysis, *Anal. Chim. Acta* 487 (2003) 3–14.
- [7] S. Ignatov, D. Shishniashvili, B. Ge, F.W. Scheller, F. Lisdat, Amperometric biosensor based on a functionalized gold electrode for the detection of antioxidants, *Biosens. Bioelectron.* 17 (2002) 191–199.
- [8] Q.Q. Guo, S.J. Ji, Q.L. Yue, L. Wang, J.F. Liu, J.B. Jia, Antioxidant sensors based on iron diethylenetriaminepentaacetic acid, hematin, and hemoglobin modified TiO₂ nanoparticle printed electrodes, *Anal. Chem.* 81 (2009) 5381–5389.
- [9] P. Wang, C. Han, F. Zhou, J. Lu, X. Han, Z. Wang, Electrochemical determination of tert-butylhydroquinone and butylated hydroxyanisole at choline functionalized film supported graphene interface, *Sensors Actuators B Chem.* 224 (2016) 885–891.
- [10] J. Liu, C. Roussel, G. Lagger, P. Tacchini, H.H. Girault, Antioxidant sensors based on DNA-modified electrodes, *Anal. Chem.* 77 (2005) 7687–7694.
- [11] J. Liu, B. Su, G. Lagger, P. Tacchini, H.H. Girault, Antioxidant redox sensors based on DNA modified carbon screen-printed electrodes, *Anal. Chem.* 78 (2006) 6879–6884.
- [12] L. Wang, W. Ma, S. Gan, D. Han, Q. Zhang, L. Niu, Engineered photoelectrochemical platform for rational global antioxidant capacity evaluation based on ultrasensitive sulfonated graphene-TiO₂ nanohybrid, *Anal. Chem.* 86 (2014) 10171–10178.
- [13] S.D. Çekiç, A.N. Avan, S. Uzunboy, R. Apak, A colourimetric sensor for the simultaneous determination of oxidative status and antioxidant activity on the same membrane: *N,N*-dimethyl-*p*-phenylene diamine (DMPD) on Nafion, *Anal. Chim. Acta* 865 (2015) 60–70.
- [14] R. Apak, S.D. Çekiç, A. Çetinkaya, H. Filik, M. Hayvalı, E. Kılıç, Selective determination of catechin among phenolic antioxidants with the use of a novel optical fiber reflectance sensor based on indophenol dye formation on nano-sized TiO₂, *J. Agric. Food Chem.* 60 (2012) 2769–2777.
- [15] F. Lisdat, D. Schäfer, A. Kapp, Quantum dots on electrodes—new tools for bioelectroanalysis, *Anal. Bioanal. Chem.* 405 (2013) 3739–3752.
- [16] A. Devadoss, P. Sudhagar, C. Terashima, K. Nakata, A. Fujishima, Photoelectrochemical biosensors: new insights into promising photoelectrodes and signal amplification strategies, *J. Photochem. Photobiol. C* 24 (2015) 43–63.
- [17] V. Pardo-Yissar, E. Katz, J. Wasserman, I. Willner, Acetylcholine esterase-labeled CdS nanoparticles on electrodes: photoelectrochemical sensing of the enzyme inhibitors, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 622–633.
- [18] C. Stoll, C. Gehring, K. Schubert, M. Zanella, W.J. Parak, F. Lisdat, Photoelectrochemical signal chain based on quantum dots on gold—sensitive to superoxide radicals in solution, *Biosens. Bioelectron.* 24 (2008) 260–265.
- [19] I. Willner, F. Patolsky, J. Wasserman, Photoelectrochemistry with controlled DNA-cross-linked CdS nanoparticle arrays, *Angew. Chem. Int. Ed.* 40 (2001) 1861–1864.
- [20] H. Zhao, D. Jiang, S. Zhang, K. Catterall, R. John, Development of a direct photoelectrochemical method for determination of chemical oxygen demand, *Anal. Chem.* 76 (2004) 155–160.
- [21] M.F. Suárez, A. Mills, R.G. Egdell, R.G. Compton, Anodic stripping voltammetry with photochemical preconcentration at nanocrystalline TiO₂ films: detection of Ag⁺ and Hg²⁺, *Electroanalysis* 12 (2000) 413–419.
- [22] J. Bai, B. Zhou, Titanium dioxide nanomaterials for sensor applications, *Chem. Rev.* 114 (2014) 10131–10176.
- [23] A. Hagfeldt, G. Boschloo, L. Sun, L. Kloo, H. Pettersson, Dye-sensitized solar cells, *Chem. Rev.* 110 (2010) 6595–6663.
- [24] V. Etacheri, C. Di Valentin, J. Schneider, D. Bahnemann, S.C. Pillai, Visible-light activation of TiO₂ photocatalysts: advances in theory and experiments, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* 25 (2015) 1–29.
- [25] B. O'Regan, M. Grätzel, A low-cost, high-efficiency solar cell based on dye-sensitized colloidal TiO₂ films, *Nature* 353 (1991) 737–740.
- [26] W. Tu, Y. Dong, J. Lei, H. Ju, Low-potential photoelectrochemical biosensing using porphyrin-functionalized TiO₂ nanoparticles, *Anal. Chem.* 82 (2010) 8711–8716.
- [27] D. Fan, D. Wu, J. Cui, Y. Chen, H. Ma, Y. Liu, Q. Wei, B. Du, An ultrasensitive label-free immunosensor based on CdS sensitized Fe-TiO₂ with high visible-light photoelectrochemical activity, *Biosens. Bioelectron.* 74 (2015) 843–848.
- [28] D. Wang, Y. Li, G.L. Puma, C. Wang, P. Wang, W. Zhang, Q. Wang, Dye-sensitized photoelectrochemical cell on plasmonic Ag/AgCl @ chiral TiO₂ nanofibers for treatment of urban wastewater effluents, with simultaneous production of hydrogen and electricity, *Appl. Catal. B Environ.* 168–169 (2015) 25–32.
- [29] S. Yotsumoto-Neto, R.C.S. Luz, F.S. Damos, Visible LED light photoelectrochemical sensor for detection of L-Dopa based on oxygen reduction on TiO₂ sensitized with iron phthalocyanine, *Electrochem. Commun.* 62 (2016) 1–4.
- [30] J.S. Zhong, Q.Y. Wang, Y.F. Yu, Solvothermal preparation of Ag nanoparticles sensitized TiO₂ nanotube arrays with enhanced photoelectrochemical performance, *J. Alloys Compd.* 620 (2015) 168–171.
- [31] J. Fujisawa, M. Nagata, M. Hanaya, Charge-transfer complex versus r-complex formed between TiO₂ and bis(dicyanomethylene) electron acceptors, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 (2015) 27343–27356.
- [32] S. Manzhos, R. Jono, K. Yamashita, J. Fujisawa, M. Nagata, H. Segawa, Study of interfacial charge transfer bands and electron recombination in the surface complexes of TCNE, TCNQ and TCNAQ with TiO₂, *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 21487–21493.
- [33] R. Jono, J. Fujisawa, H. Segawa, K. Yamashita, Theoretical study of the surface complex between TiO₂ and TCNQ showing interfacial charge-transfer transitions, *J. Phys. Chem. Lett.* 2 (2011) 1167–1170.
- [34] O.W. Webster, W. Mahler, R.E. Benson, Chemistry of tetracyanoethylene anion radical, *J. Am. Chem. Soc.* 84 (1962) 3678–3684.
- [35] W.H. Leng, Z. Zhang, J.Q. Zhang, C.N. Cao, Investigation of the kinetics of a TiO₂ photoelectrocatalytic reaction involving charge transfer and recombination through surface states by electrochemical impedance spectroscopy, *Phys. Chem. B* 109 (2005) 15008–15023.
- [36] X.F. Cheng, W.H. Leng, D.P. Liu, Y.M. Xu, J.Q. Zhang, C.N. Cao, Electrochemical preparation and characterization of surface-fluorinated TiO₂ nanoporous film and its enhanced photoelectrochemical and photocatalytic properties, *J. Phys. Chem. C* 112 (2008) 8725–8734.
- [37] X. Yue, W. Song, W. Zhu, J. Wang, Y. Wang, In situ surface electrochemical co-reduction route towards controllable construction of AuNPs/ERGO electrochemical sensing platform for simultaneous determination of BHA and TBHQ, *Electrochim. Acta* 182 (2015) 847–855.
- [38] Y. Du, X. Gao, X. Ye, Z. Zheng, Q. Feng, C. Wang, K. Wu, Composition and architecture-engineered Au-SnO₂/GNS-SWCNTs nanocomposites as ultrasensitive and robust electrochemical sensor for antioxidant additives in foods, *Sensors Actuators B Chem.* 203 (2014) 926–934.
- [39] R.P. Caramit, A.G.F. Andrade, J.B.G. de Souza, T.A. de Araujo, L.H. Viana, M.A.G. Trindade, V.S. Ferreira, A new voltammetric method for the simultaneous determination of the antioxidants TBHQ and BHA in biodiesel using multi-walled carbon nanotube screen-printed electrodes, *Fuel* 105 (2013) 306–313.
- [40] T.A. de Araujo, A.M.J. Barbosa, L.H. Viana, V.S. Ferreira, Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples, *Fuel* 90 (2011) 707–712.
- [41] L.A. Goulart, A.R.L. Teixeira, D.A. Ramalho, A.J. Terezo, M. Castilho, Development of an analytical method for the determination of tert-butylhydroquinone in soybean biodiesel, *Fuel* 115 (2014) 126–131.
- [42] C. de la Fuente, J.A. Acuña, M.D. Vázquez, M.L. Tascón, P. Sánchez Batanero, Voltammetric determination of the phenolic antioxidants 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole and tert-butylhydroquinone at a polypyrrole electrode modified with a nickel phthalocyanine complex, *Talanta* 49 (1999) 441–452.
- [43] A. Thomas, A.E. Vikraman, D. Thomas, K.G. Kumar, Voltammetric sensor for the determination of TBHQ in coconut oil, *Food Anal. Methods* 8 (2015) 2028–2034.
- [44] X. Lina, Y. Nia, S. Kokot, Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants, *Anal. Chim. Acta* 765 (2013) 54–62.
- [45] C.S.P. Sastry, S. Gopala Rao, B.S. Sastry, New spectrophotometric methods for the determination of di-*t*-butyl hydroquinone, *Food Chem.* 46 (1993) 101–103.



Analytical Methods

Photoelectrochemical determination of tert-butylhydroquinone in edible oil samples employing CdSe/ZnS quantum dots and LiTCNE



Thatyara Oliveira Monteiro, Auro Atsushi Tanaka, Flávio Santos Damos, Rita de Cássia Silva Luz*

Department of Chemistry, Federal University of Maranhão, 65080-805 São Luís, MA, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 September 2016
 Received in revised form 12 January 2017
 Accepted 16 January 2017
 Available online 18 January 2017

Keywords:

Photoelectrochemical sensor
 CdSe/ZnS quantum dot
 TBHQ detection
 LiTCNE
 Edible oil

ABSTRACT

A novel photoelectrochemical sensor was developed for determination of tert-butyl-hydroquinone (TBHQ) in edible vegetable oils, based on CdSe/ZnS core-shell quantum dots sensitized with lithium tetracyanoethylenide (LiTCNE). The CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor presented a TBHQ photocurrent about 13-fold higher and a charge transfer resistance 62-fold lower than observed for a CdSe/ZnS sensor. The photoelectrochemical sensor showed selectivity to TBHQ, with a high photocurrent for this antioxidant compared to the photocurrent responses for other phenolic antioxidants. The CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor presented a linear range from 0.6 to 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sensitivity of 0.012 $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$, and a limit of detection of 0.21 $\mu\text{mol L}^{-1}$ for TBHQ, under optimized experimental conditions. The sensor was successfully employed in the analysis of edible oil samples, with recoveries of between 98.25% and 99.83% achieved.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Oils and fats are foods consisting mainly of lipids whose chemical characteristics make them liable to oxidation processes involving radical chain reactions. This leads to food rancidity and the formation of chemicals such as aldehydes, ketones, and carboxylic acids, affecting food quality and endangering human health (Saad et al., 2007). The addition of synthetic antioxidants is widely used to prevent the oxidative deterioration of oils and fats during storage and processing (Hao, Ni, Sun, & Huang, 2007). Important phenolic antioxidants include tert-butyl-hydroquinone (TBHQ), butyl-hydroxyanisole (BHA), butyl-hydroxytoluene (BHT), pyrogallol, and propyl gallate, which offer high performance, low cost, wide availability, and high stability compared to natural antioxidants (Xiu-Qin, Chao, Yan-Yan, Min-Li, & Xiao-Gang, 2009; Freitas & Fatibello-Filho, 2010; Lin, Ni, & Kokot, 2013a, 2013b).

However, relationships have been found between the excessive use of synthetic phenolic antioxidants and the impairment of food quality and public health, due to their toxicological and mutagenic effects (Prabakar & Narayanan, 2010). Although it is approved for use in some countries, regulatory agencies have established a maximum limit in food of 200 mg TBHQ kg^{-1} (Perrin & Meyer, 2002), making it necessary to monitor the amounts of this antioxidant in foods. The analytical techniques commonly used to quantify

TBHQ and other phenolic antioxidants in foodstuffs are conventional instrumental methods, such as chromatographic (Amlashi, Hadjmohammadi, & Nazari, 2014; Guo, Xie, Yan, Wan, & Wu, 2006) and spectroscopic (Capitán-Vallvey, Valencia, & Nicolás, 2001) techniques which are sensitive and selective. However, such techniques are expensive. It is therefore desirable to identify alternative methods that offer similar performance.

Photoelectrochemistry is a newly developed methodology that has increasingly attracted interest in chemical analysis (An et al., 2010; Chen, Zhang, Li, & Li, 2010; Li, Li, Xu, & Hu, 2011; Zhang, Li, Jin, & Zhang, 2011; Zhao, Zhang, Xu, & Chen, 2012). It presents the characteristics and advantages of fluorescence and electrochemical sensors (Ikeda et al., 2009), such as a low background signal, high sensitivity, simple and inexpensive instrumentation, portability, and easy miniaturization (Wang et al., 2012; 2014). In a photoelectrochemical process, photo-to-current conversion results from the excitation of electrons and charge transfer of a photoelectrochemically active material after absorbing light, generating photocurrent (Wang, Xu, & Chen, 2009). In photoelectrochemical sensing, the physical and chemical interactions between irradiated photoelectrochemically active materials and analytes lead to detectable changes in the photocurrent generated. This detection mechanism has many promising analytical applications (Ikeda et al., 2009; Wang et al., 2013, 2014; Haddour, Chauvin, Gondran, & Cosnier, 2006; Monteiro, Yotsumoto Neto, Damos, & Luz, 2016).

* Corresponding author.

E-mail address: rita.luz@ufma.br (R.C.S. Luz).

The charge separation and transfer mechanism is one of the main factors affecting the performance of a photoelectrochemical system (Li et al., 2015). It is therefore important to select photoelectrochemically active materials that provide enhanced photo-to-current conversion efficiency. Nanostructured semiconductor materials, such as quantum dots (QD), have attracted considerable interest for use in sensors and in the development of analytical systems. These substances possess valuable electronic, optical, and size-dependent and shape-dependent catalytic properties. The formation of electron-hole pairs during photoexcitation results in the generation of photocurrent (Stoll et al., 2008). QD materials such as CdSe, CdS, InAs, and CuInS₂ can be used as photosensitizers, with their broad absorption spectra enabling photoelectrochemical sensing systems to be excited by ordinary white light, hence making these detection systems simpler (Li et al., 2015).

Despite considerable attention paid to the use of QD materials in photoelectrochemical assays, there have been few investigations concerning the development of photoelectrochemical sensors based on interactions between QD and electron acceptors in solution (Katz, Zayats, Willner, & Lisdar, 2006; Wang, Xu, & Chen, 2010; Riedel, Gobel, Abdelmonem, Parak, & Lisdar, 2013). Organic materials including bis(cyanomethylene) compounds (TCNX) such as TCNE and TCNQ are electron acceptors and exhibit strong interfacial charge transfer interactions with inorganic semiconductors, as reported in recent studies (Manzhos et al., 2011; Jono, Fujisawa, Segawa, & Yamashita, 2013; Fujisawa, 2015; Fujisawa & Hanaya, 2015). The useful features of these materials include charge transfer at visible light wavelengths, enabling the capture of lower energy photons, hence avoiding loss of energy. As a result, these compounds are effective in applications such as photocatalysis, electrochemical reactions, and photoelectric conversion reactions (Fujisawa & Hanaya, 2015; Jono, Fujisawa, Segawa, & Yamashita, 2011).

The present work describes the development of a novel and selective photoelectrochemical sensor based on an indium tin oxide electrode modified with CdSe/ZnS core-shell quantum dots sensitized with lithium tetracyanoethylenide (LiTCNE) for determination of TBHQ in edible oil samples, using LED visible light as energy source. The new photoelectrochemical sensor presented good stability and sensitivity, as well as selectivity towards TBHQ.

2. Experimental

2.1. Reagents and chemicals

All chemicals were analytical grade and were used without further purification. CdSe/ZnS core-shell quantum dots, lithium tetracyanoethylenide, TBHQ, BHT, BHA, pyrogallol (PG), and propyl gallate (PPG) were purchased from Sigma-Aldrich. Sodium hydroxide, monobasic sodium phosphate, ethanol, N,N-dimethylformamide (DMF), chloroform, citric acid, sodium sulfate, potassium chloride, acetic acid, boric acid, and phosphoric acid were purchased from Vetec Química Fina Ltda (Brazil). All solutions were prepared with water purified using an OS10LXE system (Gehaka, São Paulo, Brazil).

2.2. Photoelectrochemical measurements

Photoelectrochemical measurements were performed with an Autolab PGSTAT 128N potentiostat/galvanostat (Metrohm Autolab B.V., Utrecht, The Netherlands) controlled by GPES software. A three-electrode system consisted of indium tin oxide (ITO) as the working electrode, a Pt wire as the counter electrode, and Ag/AgCl_{sat} as the reference electrode. An inexpensive commercial 20 W LED light was used as the radiation source. Electrochemical

impedance spectroscopy measurements were carried out in 0.1 mol L⁻¹ KCl solution containing 5 mmol L⁻¹ Fe(CN)₆^{3-/4-}, from 10⁻² Hz up to 10⁵ Hz, with AC amplitude of 10 mV.

2.3. Construction of the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor

Firstly, the ITO substrate was washed by immersion and sonication in ethanol and water in order to remove adsorbed species. A suspension was then prepared by mixing 10 mg of CdSe/ZnS core-shell quantum dots with 4.3 mL of chloroform, after which 10 µL was placed directly onto the indium tin oxide substrate and allowed to dry at 50 °C for 10 min. In the next step, a second suspension was prepared by mixing 1.0 mg of LiTCNE with 50 µL of DMF, under sonication for 10 min. Finally, a 10 µL aliquot of this suspension was placed onto the photoelectrode substrate that had been previously modified with quantum dots and allowed to dry at 50 °C for 20 min, forming the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor.

2.4. Treatment of edible oil samples

A 1 g quantity of edible oil was placed in a 250 mL Erlenmeyer flask together with 100 mL of pure ethanol containing TBHQ at different concentrations (60 and 120 µmol L⁻¹), followed by vigorous agitation for 30 min. After complete dissolution of the oil, an aliquot of the solution was added to 5.0 mL of 0.1 mol L⁻¹ phosphate buffer solution (pH 6.0) and the resulting solution was then directly analyzed with the photosensor. The TBHQ present in the edible oil samples was quantified using external calibration. The vegetable oil samples were purchased at a local supermarket.

3. Results and discussion

3.1. Electrochemical characteristics of the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor

Fig. 1A shows the Nyquist plots obtained for the CdSe/ZnS, LiTCNE, and CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrodes under visible LED light. It can be seen that CdSe/ZnS/LiTCNE presented the smallest semicircular diameter, which was about 62-fold lower than for the CdSe/ZnS photoelectrode. This was indicative of lower charge transfer resistance when the CdSe/ZnS material was sensitized by LiTCNE, suggesting that the photogenerated charge separation efficiency was improved due to the occurrence of interfacial charge transfer. Similar features can be seen in the Nyquist plots for the CdSe/ZnS/LiTCNE sensor under dark and light conditions (Fig. 1B). The charge transfer resistance of the CdSe/ZnS/LiTCNE photosensor under LED light was 1.4-fold lower than for the same sensor in the dark, demonstrating that the separation of electron-hole pairs and charge transport in the sensor were more effective under illumination.

The photocurrent responses of the different sensors (CdSe/ZnS/ITO, LiTCNE/ITO, and CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO) to 0.1 mmol L⁻¹ of TBHQ in 0.1 mol L⁻¹ phosphate buffer are shown in Fig. 2A. As can be seen, the CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO photosensor presented a photocurrent about 13-fold higher than that for CdSe/ZnS/ITO, with values of 0.669 (±0.011) µA and 0.052 (±0.002) µA, respectively. This demonstrated the improvement in photoelectrochemical efficiency when the CdSe/ZnS core-shell quantum dots were sensitized by LiTCNE, due to the interfacial charge transfer interactions occurring among them.

Fig. 2B shows the effects on the TBHQ photocurrent caused by other antioxidant species (BHA, BHT, PG and PPG) that are frequently added to edible oils, using the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor. The potential applied to evaluate the

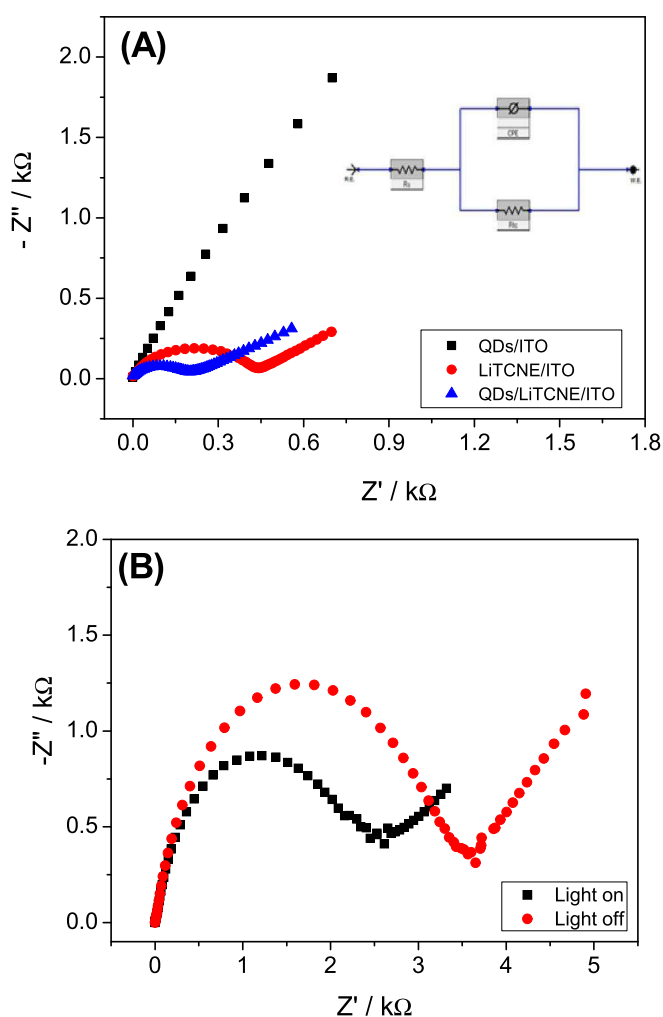


Fig. 1. (A) Nyquist plots recorded under visible LED light for the photoelectrodes in 0.1 mol L^{-1} KCl solution containing aqueous $5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe}[(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ electrolyte solution: (a) CdSe/ZnS/ITO, (b) LiTCNE/ITO, and (c) CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO. (B) Nyquist plots for the CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO photosensor in aqueous $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ solution containing $5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe}[(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, recorded at open circuit potential in the dark (red line) and under visible LED light (black line). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

photocurrent response of the sensor was $+100 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$. It can be seen that the photocurrent responses of the other compounds were considerably lower than the response obtained for TBHQ, for which the photocurrent value was 4-fold higher than the value obtained for PG (the potential interferent that showed the highest response).

The sensing mechanism of the CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO photoelectrode for the detection of TBHQ under visible LED light is proposed in the schematic diagram presented in Fig. 3. As shown, CdSe/ZnS and LiTCNE form a material that absorbs visible LED light, exhibiting interfacial charge transfer and improved electron-hole pair separation, with TBHQ providing electrons to the CdSe/ZnS valence band, hence increasing the photocurrent response.

3.2. Optimization of the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor response

Determination of the optimum experimental conditions for TBHQ detection using the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor considered the effects of pH, buffer solution and applied potential. The influence of pH on the response of the photosensor

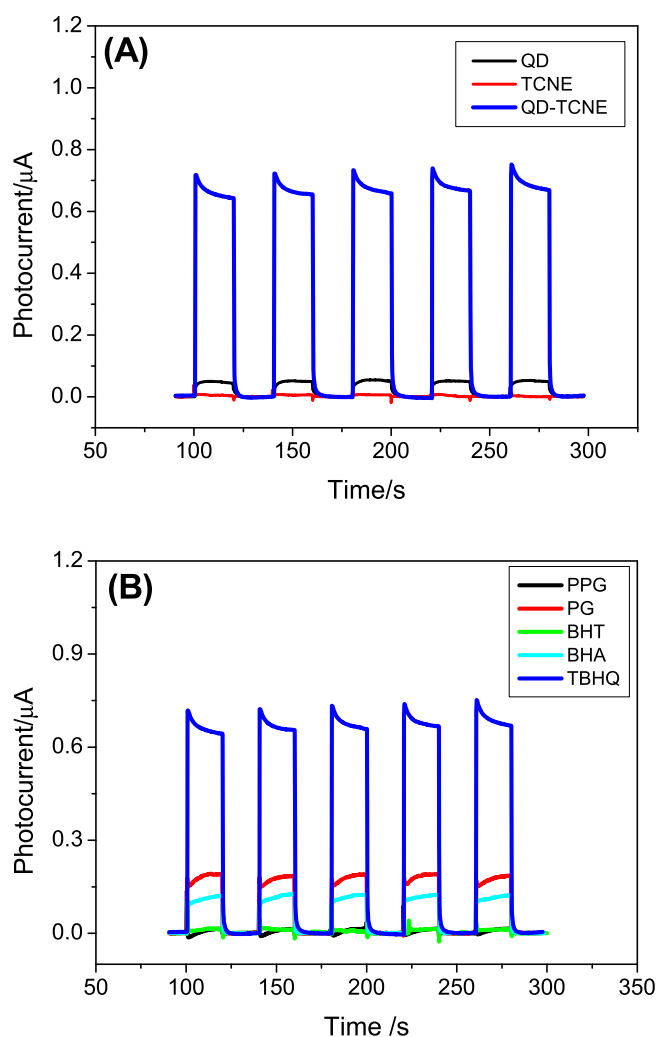


Fig. 2. (A) Photocurrent response of (1) CdSe/ZnS/ITO, (2) LiTCNE/ITO, and (3) CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO. Inset: Plot obtained from Fig. 2A. (B) Effect of PG, PPG, BHT, BHA, and TBHQ on the photocurrent of TBHQ. Inset: Plot obtained from Fig. 2B. Experiments carried out in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution (pH 7.0). $[\text{TBHQ}] = 0.1 \text{ mmol L}^{-1}$. $E_{\text{app}} = +100 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$.

to TBHQ is shown in Fig. 4A for measurements carried out using phosphate buffer solution with pH ranging from 5.0 to 9.0, at an applied potential of $+100 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$. The CdSe/ZnS/LiTCNE sensor response increased between pH 5.0 and 6.0, and then decreased as the pH was increased up to 9.0. A solution pH of 6.0 was therefore selected for use in the subsequent measurements.

The buffer solution also affected the response of the photoelectrochemical sensor (Fig. 4B). The TBHQ photocurrent was measured in four different buffer solutions (phosphate, McIlvaine, Britton-Robinson and HEPES), and the highest response to TBHQ was obtained using phosphate buffer. Therefore, the phosphate buffer solution at pH 6.0 was chosen for further measurements.

The applied potential influences sensor performance as well as the analyte photocurrent response. This parameter was evaluated in the range from 0 V to $+500 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$, using the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor in 0.1 mmol L^{-1} TBHQ in phosphate buffer solution (pH 6.0). The sensor response increased between 0 V and $+400 \text{ mV}$ (Fig. S1A), then remained constant up to $+500 \text{ mV}$. Hence, an applied potential of $+400 \text{ mV}$, phosphate buffer solution, and solution pH of 6.0 were considered the best conditions for determination of TBHQ using the proposed photoelectrochemical sensor.

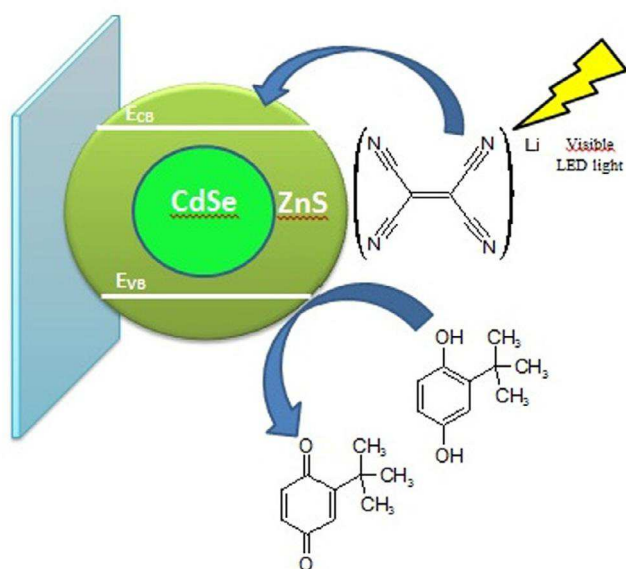


Fig. 3. Proposed mechanism for the photoelectrochemical detection of TBHQ.

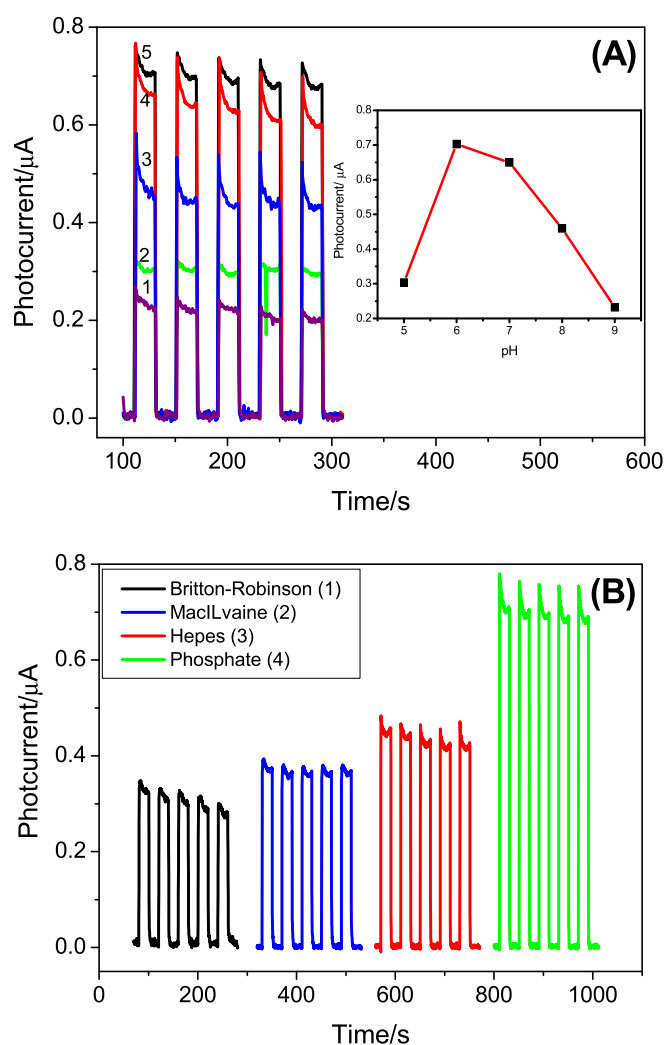


Fig. 4. Influence of (A) pH and (B) buffer solution on the photosensor response for TBHQ. Measurements were carried out in 0.1 mol L⁻¹ phosphate buffer solution. $E_{app} = +100$ mV vs. Ag/AgCl.

The CdSe/ZnS/LiTCNE sensor presented a good repeatability for determination of 0.1 mmol L⁻¹ TBHQ in phosphate buffer (pH 6.0) at an applied potential of +400 mV. The photosensor response was monitored as a function of analysis time for fifteen determinations of TBHQ on the same working day (Fig. S1B). The TBHQ photocurrent values presented a relative standard deviation of only 2.20%. Additionally, a series of five sensors prepared on different days showed responses with a relative standard deviation of 3.42% suggesting a good reproducibility. These results indicate that the CdSe/ZnS/LiTCNE sensor shows good repeatability, reproducibility and stability.

3.3. Analytical performance of the CdSe/ZnS/LiTCNE photosensor

The CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO photocurrent response obtained for TBHQ at several concentrations, under optimized conditions, is shown in Fig. 5A. The linear range for TBHQ was between 0.6 and 250 μmol L⁻¹, for which the response could be described by the equation:

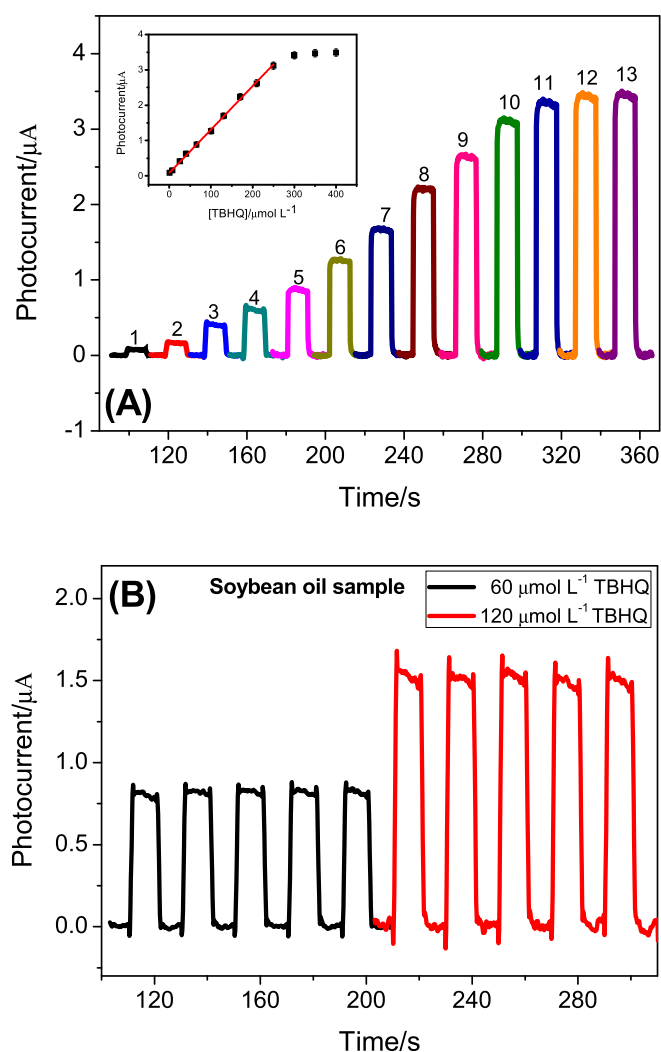


Fig. 5. (A) Photocurrent response obtained under optimized conditions for TBHQ at concentrations between 0.6 and 400 μmol L⁻¹. Inset: Plot of Photocurrent vs [TBHQ] = (1) 0.6; (2) 7.2; (3) 25; (4) 40; (5) 65; (6) 100; (7) 130; (8) 170; (9) 210; (10) 250; (11) 300; (12) 350; and (13) 400 μmol L⁻¹. (B) Photocurrent responses for the oil samples containing 60 and 120 μmol L⁻¹ TBHQ. Measurements were carried out under the optimized experimental conditions. $E_{app} = +400$ mV vs. Ag/AgCl.

Table 1
Recoveries of TBHQ obtained for two edible oil samples (n = 5).

Samples	[TBHQ] added $\mu\text{mol L}^{-1}$	[TBHQ] found $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recovery (%)
Babassu oil	0	–	–
	60.00	59.90	99.83
	120.00	117.90	98.25
Soybean oil	0	–	–
	60.0	59.30	98.83
	120.00	119.00	99.17

$$I_{\text{photocurrent}}/\mu\text{A} = 0.084(\pm 0.016) + 0.012(\pm 0.001)[\text{TBHQ}](\mu\text{mol L}^{-1}),$$

with a correlation coefficient of 0.9996 (n = 10).

The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were calculated using the slope of the analytical curve and the standard deviation (σ_{bl}) of ten measurements of a blank solution, according to the equations: $3\sigma_{bl}/\text{slope}$ and $10\sigma_{bl}/\text{slope}$, respectively. The LOD and LOQ determined were 0.21 and 0.70 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. Table S1 compares the limit of detection obtained with the values reported in the literature for other electrochemical sensors employed for the determination of TBHQ, together with the linear ranges. It can be seen that the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrochemical sensor presented a low limit of detection and a wide linear range that were comparable to the best values obtained previously for electrochemical sensors employed for the determination of TBHQ (Caramit et al., 2013; Cardoso et al., 2015; De Araujo, Barbosa, Viana, & Ferreira, 2011; De la Fuente, Acuña, Vázquez, Tascón, & Batanero, 1999; Du et al., 2014; Goulart, Teixeira, Ramalho, Terezo, & Castilho, 2014; Wang et al., 2016; Yue et al., 2013).

3.4. Application using edible oil samples and recovery tests

Determination of TBHQ was carried out using two different edible oil samples solubilized in ethanol without any previous treatment. External calibration was employed, with measurement of the CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO photocurrent response to TBHQ under the optimized experimental conditions (Fig. 5B). Firstly, a vegetable oil sample was analyzed to confirm that there was no signal corresponding to TBHQ or any potential interferent. Samples containing TBHQ at two different concentrations (60 and 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$) were then analyzed and the recovery values were calculated (Table 1). The recoveries obtained using the proposed photoelectrochemical sensor ranged from 98.25 to 99.83%, indicative of satisfactory accuracy and precision. These results demonstrated that the photoelectrochemical technique using the CdSe/ZnS/LiTCNE photoelectrode could be successfully employed for the determination of TBHQ in vegetable oil samples.

4. Conclusions

A photoelectrochemical sensor was successfully developed for detection and quantification of the TBHQ antioxidant present in edible oils. The technique is simple, fast, and does not require any sample pretreatment. The sensitizing of CdSe/ZnS quantum dots with LiTCNE improved the photoelectrochemical response, enabling the detection of TBHQ at low concentrations. The CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO sensor presented excellent stability, a wide linear range, a low limit of detection, and selectivity towards TBHQ in the presence of other potentially interfering antioxidants. The CdSe/ZnS/LiTCNE/ITO photoelectrochemical sensor can therefore be considered a sensitive, selective, robust, precise, and stable sensor for the detection of TBHQ in vegetable oil samples.

Acknowledgments

The authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) and INCTBio, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Bioanalítica – Brazil by financial support.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.089>.

References

- Amlashi, N. E., Hadjmohammadi, M. R., & Nazari, S. S. S. J. (2014). Water-contained surfactant-based vortex-assisted microextraction method combined with liquid chromatography for determination of synthetic antioxidants from edible oil. *Journal of Chromatography A*, 1361, 9–15.
- An, Y., Tang, L., Jiang, X., Chen, H., Yang, M., Jin, L., ... Zhang, W. (2010). A photoelectrochemical immunosensor based on Au-doped TiO₂ nanotube arrays for the detection of α -synuclein. *Chemistry A European Journal*, 16, 14439–14446.
- Capitán-Vallvey, L. F., Valencia, M. C., & Nicolás, E. A. (2001). Monoparameter sensors for the determination of the antioxidants butylated hydroxyanisole and n-propyl gallate in foods and cosmetics by flow injection spectrophotometry. *Analyst*, 126, 897–902.
- Caramit, R. P., Andrade, A. G. F., Souza, J. B. G., Araujo, T. A., Viana, L. H., Trindade, M. A. G., & Ferreira, V. S. (2013). A new voltammetric method for the simultaneous determination of the antioxidants TBHQ and BHA in biodiesel using multi-walled carbon nanotube screen-printed electrodes. *Fuel*, 105, 306–313.
- Cardoso, R. M., Montes, R. H. O., Lima, A. P., Dornellas, R. M., Nossol, E., Richter, E. M., & Munoz, R. A. A. (2015). Multi-walled carbon nanotubes: Size-dependent electrochemistry of phenolic compounds. *Electrochimica Acta*, 176, 36–43.
- Chen, D., Zhang, H., Li, X., & Li, J. (2010). Biofunctional titania nanotubes for visible-light-activated photoelectrochemical biosensing. *Analytical Chemistry*, 82, 2253–2261.
- De Araujo, T. A., Barbosa, A. M. J., Viana, L. H., & Ferreira, V. S. (2011). Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples. *Fuel*, 90, 707–712.
- De la Fuente, C., Acuña, J. A., Vázquez, M. D., Tascón, M. L., & Batanero, P. S. (1999). Voltammetric determination of the phenolic antioxidants 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole and tert-butylhydroquinone at a polypyrrole electrode modified with a nickel phthalocyanine complex. *Talanta*, 49, 441–452.
- Du, Y., Gao, X., Ye, X., Zheng, Z., Feng, Q., Wang, C., & Wu, K. (2014). Composition and architecture-engineered Au-SnO₂/GNs-SWCNTs nanocomposites as ultrasensitive and robust electrochemical sensor for antioxidant additives in foods. *Sensors and Actuators B*, 203, 926–934.
- Freitas, K. H. G., & Fatibello-Filho, O. (2010). Simultaneous determination of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in food samples using a carbon composite electrode modified with Cu₃(PO₄)₂ immobilized in polyester resin. *Talanta*, 81, 1102–1108.
- Fujisawa, J. (2015). Large impact of reorganization energy on photovoltaic conversion due to interfacial charge-transfer transitions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17, 12228–12237.
- Fujisawa, J., & Hanaya, M. (2015). Extremely strong organic–metal oxide electronic coupling caused by nucleophilic addition reaction. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17, 16285–16293.
- Goulart, L. A., Teixeira, A. R. L., Ramalho, D. A., Terezo, A. J., & Castilho, M. (2014). Development of an analytical method for the determination of tert-butylhydroquinone in soybean biodiesel. *Fuel*, 115, 126–131.
- Guo, L., Xie, M.-Y., Yan, A.-P., Wan, Y.-Q., & Wu, Y.-M. (2006). Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC–MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386, 1881–1887.
- Haddour, N., Chauvin, J., Gondran, C., & Cosnier, S. (2006). Photoelectrochemical immunosensor for label-free detection and quantification of anti-cholera toxin antibody. *Journal of the American Chemical Society*, 128, 9693–9698.
- Hao, P.-P., Ni, J.-R., Sun, W.-L., & Huang, W. (2007). Determination of tertiary butylhydroquinone in edible vegetable oil by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. *Food Chemistry*, 105, 1732–1737.
- Ikeda, A., Nkasu, M., Ogasawara, S., Nakanishi, H., Nakamura, M., & Kikuchi, J. (2009). Photoelectrochemical sensor with porphyrin-deposited electrodes for determination of nucleotides in water. *Organic Letters*, 11, 1163–1166.
- Jono, R., Fujisawa, J., Segawa, H., & Yamashita, K. (2011). Theoretical study of the surface complex between TiO₂ and TCNQ showing interfacial charge-transfer transitions. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2, 1167–1170.
- Jono, R., Fujisawa, J., Segawa, H., & Yamashita, K. (2013). The origin of the strong interfacial charge-transfer absorption in the surface complex between TiO₂ and dicyanomethylene compounds. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15, 18584–18588.

- Katz, E., Zayats, M., Willner, I., & Lisdat, F. (2006). Controlling the direction of photocurrents by means of CdS nanoparticles and cytochrome c-mediated biocatalytic cascades. *Chemical Communications*, 13, 1395–1397.
- Li, H., Li, J., Xu, Q., & Hu, X. (2011). Poly(3-hexylthiophene)/TiO₂ nanoparticle-functionalized electrodes for visible light and low potential photoelectrochemical sensing of organophosphorus pesticide chlorpyrifos. *Analytica Chimica Acta*, 83, 9681–9686.
- Li, X., Yang, Q., Hua, H., Chen, L., He, X., Hu, C., & Xi, Y. (2015). CdS/CdSe core/shell nanowall arrays for high sensitive photoelectrochemical sensors. *Journal of Alloys and Compounds*, 630, 94–99.
- Lin, X., Ni, Y., & Kokot, S. (2013a). A novel electrochemical sensor for the analysis of betaagonists: The poly(acid chrome blue K)/graphene oxide-nafion/glassy carbon electrode. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 508–517.
- Lin, X., Ni, Y., & Kokot, S. (2013b). Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants. *Analytica Chimica Acta*, 765, 54–62.
- Manzhos, S., Jono, R., Yamashita, K., Fujisawa, J., Nagata, M., & Segawa, H. (2011). Study of interfacial charge transfer bands and electron recombination in the surface complexes of TCNE, TCNQ, and TCNAQ with TiO₂. *The Journal of Physical Chemistry C*, 115, 21487–21493.
- Monteiro, T. O., Yotsumoto Neto, S., Damos, F. S., & Luz, R. C. S. (2016). Development of a photoelectrochemical sensor for detection of TBHQ antioxidant based on LITCNE-TiO₂ composite under visible LED light. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 774, 36–41.
- Perrin, C., & Meyer, L. (2002). Quantification of synthetic phenolic antioxidants in dry foods by reversed-phase HPLC with photodiode array detection. *Food Chemistry*, 77, 93–100.
- Prabakar, S. J. R., & Narayanan, S. S. (2010). Flow injection analysis of BHA by NiHCF modified electrode. *Food Chemistry*, 118, 449–455.
- Riedel, M., Gobel, G., Abdelmonem, A. M., Parak, W. J., & Lisdat, F. (2013). Photoelectrochemical sensor based on quantum dots and sarcosine oxidase. *ChemPhysChem*, 14, 2338–2342.
- Saad, B., Sing, Y. Y., Nawi, M. A., Hashim, N. H., Ali, A. S. M., Saleh, M. I., ... Ahmad, K. (2007). Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. *Food Chemistry*, 105, 389–394.
- Stoll, Ch., Gehring, C., Schubert, K., Zanella, M., Prak, W. J., & Lisdat, F. (2008). Photoelectrochemical signal chain based on quantum dots on gold—Sensitive to superoxide radicals in solution. *Biosensors and Bioelectronics*, 24, 260–265.
- Wang, P., Dai, W., Ge, L., Yan, M., Ge, S., & Yu, J. (2013). Visible light photoelectrochemical sensor based on Au nanoparticles and molecularly imprinted poly(o-phenylenediamine)-modified TiO₂ nanotubes for specific and sensitive detection chlorpyrifos. *Analyst*, 138, 939–945.
- Wang, P., Han, C., Zhou, F., Lu, J., Han, X., & Wang, Z. (2016). Electrochemical determination of *tert*-butylhydroquinone and butylated hydroxyanisole at choline functionalized film supported graphene interface. *Sensors and Actuators B*, 224, 885–891.
- Wang, G.-L., Jiao, H.-J., Liu, K.-L., Wu, X.-M., Dong, Y.-M., Li, Z.-J., & Zhang, C. (2014). A novel strategy for the construction of photoelectrochemical sensors based on quantum dots and electron acceptor: The case of dopamine detection. *Electrochemistry Communications*, 41, 47–50.
- Wang, K., Wu, J., Liu, Q., Jin, Y., Yan, J., & Cai, J. (2012). Ultrasensitive photoelectrochemical sensing of nicotinamide adenine dinucleotide based on graphene-TiO₂ nanohybrids under visible irradiation. *Analytica Chimica Acta*, 745, 131–136.
- Wang, G., Xu, J., & Chen, H. (2009). Progress in the studies of photoelectrochemical sensors. *Science in China Series B: Chemistry*, 52, 1789–1800.
- Wang, G.-L., Xu, J.-J., & Chen, H.-Y. (2010). Selective detection of trace amount of Cu²⁺ using semiconductor nanoparticles in photoelectrochemical analysis. *Nanoscale*, 2, 1112–1114.
- Xiu-Qin, L., Chao, J., Yan-Yan, S., Min-Li, Y., & Xiao-Gang, C. (2009). Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. *Food Chemistry*, 113, 692–700.
- Yue, Z., Lisdat, F., Parak, W. J., Hickey, S. G., Tu, L., Sabir, N., ... Bigall, N. C. (2013). Quantum-dot-based photoelectrochemical sensors for chemical and biological detection. *Applied Materials and Interfaces*, 5, 2800–2814.
- Zhang, X., Li, S., Jin, X., & Zhang, S. (2011). A new photoelectrochemical aptasensor for the detection of thrombin based on functionalized graphene and CdSe nanoparticles multilayers. *Chemical Communications*, 47, 4929–4931.
- Zhao, W.-W., Zhang, L., Xu, J.-J., & Chen, H.-Y. (2012). Cell surface carbohydrates evaluation via a photoelectrochemical approach. *Chemical Communications*, 48, 9456–9458.