



UNIVERSIDADE FEDERAL DO SUL E SUDESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS - ICE
FACULDADE DE QUÍMICA - FAQUIM

EVAIR DIAS NASCIMENTO

ESTUDO VOLTAMÉTRICO E DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DO AZO-CORANTE *PONCEAU 4R* (E-124) SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

MARABÁ/PA

2017

EVAIR DIAS NASCIMENTO

ESTUDO VOLTAMÉTRICO E DETERMINAÇÃO ELETRONALÍTICA DO AZO-CORANTE *PONCEAU 4R* (E 124) SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à banca examinadora da Faculdade de Química da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, em cumprimento com as exigências para a obtenção do grau de Licenciado em Química.

Orientador:

Prof. Dr. Thiago Mielle Brito Ferreira Oliveira

MARABÁ/PA

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca II da UNIFESSPA. CAMAR, Marabá, PA

Nascimento, Evair Dias

Estudo voltamétrico e determinação eletroanalítica do Azo-corante *Ponceau 4R* (E 124) sobre eletrodo de carbono vítreo / Evair Dias Nascimento ; orientador, Thiago Mielle Brito Ferreira Oliveira. — 2017.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Campus Universitário de Marabá, Instituto de Ciências Exatas, Faculdade de Química, Curso de Licenciatura em Química, Marabá, 2017.

1. Corantes. 2. Eletroquímica. 3. Eletrodos. I. Oliveira, Thiago Mielle Brito Ferreira, orient. II. Título.

CDD: 23. ed.: 667.29

Dedico este trabalho aos meus pais, irmão, namorada, amigos, e ao meu prof^o orientador, pelas palavras de apoio e pelo incentivo de permanecer na luta por este sonho.

AGRADECIMENTOS

À toda minha família, especialmente aos meus pais Marciana de Cristo Dias e Edivaldo Costa Nascimento e meu irmão Paulo Victor Dias Nascimento, por acreditarem em mim, me proporcionando sempre momentos felizes e me dando forças nos momentos mais difíceis da minha vida, pois morar longe de tudo e de todos que amamos é doloroso e cruel, porém, ter pessoas que nos amam mesmo a distância, nos fortalece a cada dia e, foi isso que me proporcionou conseguir concluir este sonho.

Aos meus tios, em especial, Orlando Brito que, faleceu em 2015 acreditando no meu sonho de me formar, sempre planejando a minha festa de formatura, essa minha conquista também é sua meu tio; Marinez Nascimento e Valter Melo por sempre cuidarem de mim, me acolhendo em sua residência para que eu pudesse terminar meu ensino médio, à vocês eu tenho todo meu amor e gratidão; e aos meus tios (as) Marineide Nascimento, Marivalda Nascimento, Alírio Dias, Sheila Dias, Mario Junior, Marilene Nascimento, Diana dias, Thiago Pereira, Renato Nascimento, Maria do Socorro Dias, Nilton Dias, Otoniel Dias, Marizete Nascimento, Marinalva Nascimento e Walbson Santos pelas palavras de apoio, pelos momentos felizes que vivemos juntos e por acreditarem em mim, sendo buscando formas de me incentivarem.

Aos meus avós Joana Dias, Jeronimo Dias, Osvaldina Costa e Tacino Nascimento por todo o amor que recebi durante todos esses anos, e por sempre acreditarem em mim, sempre me dizendo que me tem como orgulho, por eu ser o primeiro neto a entrar em uma universidade federal.

Aos meus primos (as) Valter Melo Junior, Rafael Melo, Wanderson Nascimento, Jorge Luiz, Juliana dias, Sandra Coelho, Willian Coelho, Manoele Coelho, Eduarda Dias, Cristiano Dias, Juliete Dias, Edimilson Brito, Daniele Brito, Gustavo Nascimento, Adriano Nascimento, Magno do Rosário, Wagner do Rosário, Kaike Melo e Ronan Melo pelos momentos felizes que vivemos juntos durante esses 04 anos que vivi distante, nos vendo somente nas férias, muito obrigado!

À minha namorada Júlia Caroline, que entrou recentemente em minha vida, porém já se faz suficiente, e assim, me faz quere-la para o resto da minha vida, pois você se tornou uma pessoa essencial nestes últimos meses, sendo esse porto seguro

admirável. Sei o quão posso contar com você, meu amor, sei que sempre estarás pronta para me ajudar, e assim, vamos construir nossa vida a dois, isso é tudo que mais quero. E por fim, muito obrigado por tudo que tens feito por mim e, nunca esqueça que meu amor por você é imensurável.

Ao meu professor e orientador Thiago Mielle, à você professor tenho toda minha admiração e respeito, por tudo que o senhor se tornou, és um excelente profissional, mais acima de tudo és um grande ser humano, de coração enorme, eu só tenho a agradecer por tudo que tens feito por mim, mesmo eu não merecendo as vezes, ao senhor meu muito obrigado!

Também não poderia de deixar de agradecer aos meus grandes mestres que passaram pela minha vida, aprendi com cada um o verdadeiro sentido de ser um professor, em especial aos Professores (as) Sebastião Cruz, Rocha Neto, Wadson, Marilene Nunes, Magson, Simone, Joana, Wagner Alencar e a todos aqueles FAQUIM/UNIFESSPA, meus sinceros agradecimentos.

Ao Thiago Alfaia, por fazer parte do meu crescimento profissional e me proporcionar um caminho que me gerou grandes conquistas.

Aos meus amigos (as) que a vida me deu Ederson Cassab, Ediane Casseb, Manoel Maria, Rodolpho Ribeiro, Jéssica Dias, Maurício Alves, Pedro Silva, Michel Monteiro, Marcos Lopes, Karleilson (Neto), José Nazareno Monteiro (Zico), Marcio Oliveira, Messyane Mayara, Orlando Júnior, Emerson Paulo, Hinckley Mendes (Nariz) e à todos que me ajudaram diretamente ou indiretamente na minha caminhada até o presente momento. Em especial ao Cleyton Amin, por tudo que tens feito por este seu amigo aqui. Sempre levarei você, não como um amigo, mas como um irmão que a vida me deu.

À Prof.^a Dr.^a Suely Castro (LEQA/UERN), pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

À cidade de Marabá-PA por me acolher de braços abertos para realização do meu sonho.

“Nunca reaja emocionalmente às críticas. Analise a si mesmo para determinar se elas são justificadas. Se forem, corrija-se. Caso contrário, continue vivendo normalmente”.

Norman Vincent Peale

RESUMO

Estudos comprovam que a presença de corantes azóicos no ambiente, mesmo em níveis traço, pode causar sérios impactos ao ecossistema. Por esta razão, métodos de análise que permitam seu monitoramento em amostras contaminadas ou nos veículos de contaminação devem ser encorajados. O presente trabalho apresenta uma metodologia eletroanalítica sensível, precisa e rápida, para detectar traços do azo-corante *Ponceau 4R* sobre eletrodo de carbono vítreo, visando sua posterior aplicação no monitoramento deste composto em efluentes da indústria de alimentos. Os resultados indicaram elevada reatividade deste corante em meio ácido (solução tampão Britton-Robinson; pH = 1,0), cujo processo redox foi rápido, de natureza reversível e governado por difusão das moléculas na interface eletrodo/solução. O processo voltamétrico foi associado aos fenômenos de oxidação e redução no grupamento -OH que encontra-se em posição *orto* ao cromóforo -N=N-, ambos ligados ao naftaleno bisulfonado do corante azoico. Após otimização dos parâmetros que influenciam o sinal eletroquímico da voltametria de onda quadrada (frequência de 150 Hz, amplitude de 30 mV e incremento de 3 mV), foi possível detectar o *Ponceau 4R* com elevada sensibilidade (limite de detecção de $9,8 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹) e precisão dos dados (desvio padrão relativo para testes de repetibilidade abaixo de 5,0%). Os ensaios de recuperação também foram promissores (recuperação maior ou igual a 90%; concentração do analito variando de $1,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) e reforçam a possível aplicabilidade do procedimento proposto para a eletroanálise do *Ponceau 4R* em matrizes complexas.

Palavras-chave: Azo-corantes; *Ponceau 4R*; Eletrodo de carbono vítreo; Técnicas voltamétricas; Eletroanálise.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01:** (A) Estrutura química e (B) aspecto físico do *E-124* sólido.....22
- Figura 02:** Voltamograma cíclico obtido para o *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 2), após 30 varreduras consecutivas de potencial a 50 mV s^{-1} 28
- Figura 03:** Voltamograma cíclico obtido para *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 2), usando velocidades de varredura de (a) 5, (b) 25, (c) 50, (d) 75, (e) 100, (f) 150, (g) 200, (h) 250, (i) 300, (j) 400 e (k) 500 mV s^{-1}30
- Figura 04:** Voltamograma cíclico obtido para *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson com pH ajustado a (a) 1,0; (b) 2,0; (c) 4,0; (d) 6,0 e (e) 8,0; usando velocidades de varredura de 50 mV s^{-1}31
- Figura 05:** Componentes de corrente da voltametria de onda quadrada registradas para o *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $f = 100 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$33
- Figura 06:** Efeito da frequência sobre o perfil voltamétrico do *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. A inserção refere-se aos voltamogramas de onda quadrada obtidos para cada frequência.....34
- Figura 07:** Efeito da amplitude sobre o perfil voltamétrico do *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $f = 150 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. A inserção refere-se aos voltamogramas de onda quadrada obtidos para cada amplitude.....35

Figura 08: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $f = 150$ s⁻¹, $a = 30$ mV e diferentes valores de ΔE_s . A inserção refere-se ao efeito de ΔE_s sobre as correntes de pico.....37

Figura 09: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o *Ponceau 4R* sobre eletrodo de carbono vítreo, na faixa de $1,0 \times 10^{-7}$ a $2,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do analito, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $f = 150$ s⁻¹, $a = 30$ mV e $\Delta E_s = 3$ mV. A inserção refere-se a curva analítica obtida com os voltamogramas, a partir da relação entre a concentração do analito e as respectivas correntes de pico registradas sobre o eletrodo de trabalho.....38

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Azo-Corantes aplicados na indústria alimentícia brasileira, seguido dos seus respectivos INS e IDA.....	23
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Amarelo Crepúsculo
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
AT	Amarelo Tartrazina
BR	Britton-Robinson
CAS	<i>Chemical Abstract Service</i>
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
ECV	Eletrodo de Carbono Vítreo
EG	Eletrodo de Grafite
EGPE	Eletrodo de Pasta de Grafite Expandido
EGB	<i>European Brewery Convention</i>
EPOA	Processo Eletroquímico de Oxidação Avançada
FAO	Organização das Nações Unidas para agricultura e alimentos (<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
GMC	Grupo Mercado Comum
IDA	Ingestão Diária Aceita
IL	Líquido Iônico
IL- EGPE	Eletrodo de Pasta de Grafite Expandida Modificada por Líquido Iônico
INS	Sistema de Numeração Internacional
IUPAC	União Internacional de Química Pura e aplicada (<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
IL-EG	Grafite Líquido-Expandido Iônico

LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
P. A.	Pureza Analítico
PC	Peso Corpóreo
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
VC	Voltametria Cíclica
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada

LISTA DE SIMBOLOS

I_p	Corrente de Pico
I_{pa}	Coreente de pico Anódico
I_{pc}	Corrente de Pico Catódico
E_p	Potencial de Pico
E_{pa}	Potencial de Pico Anódico
E_{pc}	Potencial de Pico Catódico
ΔE_p	Variação dos potenciais de pico
$\Delta E_p/2$	Largura de meia-altura do processo redox
ΔE_s	Incremento de varredura
DP_a	Desvio Padrão de Coeficiente Linear
%RSD	Desvio Padrão Relativo
\bar{b}	Média do Coeficiente Angular
v	Velocidade de varredura
pH	Potencial hidrogeniônico
f	Frequência de aplicação dos pulsos de potencial
a	Amplitude de aplicação dos pulsos de potencial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	CORANTES ALIMENTÍCIOS	19
3.2	AZO-CORANTES.....	20
3.3	IMPACTOS NO AMBIENTE E NA SAÚDE PÚBLICA.....	20
3.4	PONCEAU 4R (E-124)	21
3.5	LEGISLAÇÃO	22
3.6	MÉTODOS ELETROANALÍTICOS.....	23
3.7	ELETROANÁLISE DO E-124	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1	REAGENTES E SOLUÇÕES	26
4.2	INSTRUMENTAÇÃO.....	26
4.3	METODOLOGIA ELETROANALÍTICA	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	ELETROATIVIDADE DO E-124	28
5.2	ESTUDO DO pH	31
5.3	COMPONENTES DE CORRENTE DA VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA.....	32
5.4	ESTUDO DA FREQUENCIA	33
5.5	ESTUDO DA AMPLITUDE	35
5.6	ESTUDO DO INCREMENTO	36
5.7	CURVA ANALÍTICA	37
6	CONCLUSÃO	39
7	BIBLIOGRAFIA	40
8	ANEXO 1	47

1 INTRODUÇÃO

Após a revolução industrial no século XIX, houve uma grande expansão na fabricação de novos aditivos, principalmente dos corantes sintéticos que, desde então, vêm substituindo o mercado dos corantes naturais, já que proporcionam e/ou intensificam a cor de alimentos, tecidos e afins de forma mais acentuada. Com o passar dos anos, após estudos relacionados à toxicidade desses compostos para o ambiente e organismos vivos, muitos deles tiveram sua fabricação e venda proibida em muitos países (PRADO, 2003). No Brasil, a fiscalização destes aditivos no meio ambiente ainda é muito limitada e, por consequência, resíduos industriais e domésticos enriquecidos com muitos desses compostos vêm sendo lançados indiscriminadamente, demandando estudos voltados ao monitoramento dos mesmos em matrizes impactadas.

Dentre estes corantes artificiais mais utilizados estão os azo-corantes, uma classe de compostos que têm na sua composição o grupo cromóforo azo (-N=N-). Essas moléculas possuem elevada estabilidade química, fato este que lhes confere resistência a processos químicos e fotoquímicos de degradação – compostos refratários (PIRES, 2013). Esse fato preocupa já que a baixa taxa de fixação ao longo do processamento faz com que uma grande parcela destes aditivos seja descartada na composição de diferentes efluentes. Quando não são adequadamente tratados, esses resíduos são considerados altamente tóxicos para a vida aquática, afetam processos simbióticos, reduzem a capacidade de reoxigenação da água, dificultam a passagem de luz solar, reduzindo a atividade fotossintética, além de serem capazes de afetar as funções endócrinas dos seres vivos (CLAUSEN, 2007).

No Brasil, os corantes alimentares sintéticos permitidos são quatorze: *Amaranto*, *Vermelho de Eritrosina*, *Vermelho 40*, *Ponceau 4R*, *Amarelo Crepúsculo*, *Amarelo Tartrazina*, *Azul de Indigotina*, *Azul Brilhante*, *Azorrubina*, *Verde Rápido*, *Azul Patente V*, *Amarelo de Quinoleína*, *Negro Brilhante BN* e *Marrom HT* (ANVISA-Resolução RDC nº 25/2005 da ANVISA/MS). Dentre estes, o corante vermelho *Ponceau 4R* (*E-124*), de fórmula molecular $C_{20}H_{11}N_2O_{10}S_3Na_3$ ($604,46 \text{ g mol}^{-1}$) e de coloração vermelha intensa, está entre os mais utilizados. Todavia, em países como Estados Unidos e Inglaterra, sua utilização em alimentos foi proibida por conta dos

efeitos nocivos já comprovados à saúde humana, mesmo em baixas concentrações (DOWNHAM, 2000).

Para fins de controle de qualidade e monitoramento ambiental, vários métodos analíticos têm sido propostos, com base em técnicas cromatográficas e espectroscópicas (SOUZA, 2003). Infelizmente, muitas delas são susceptíveis a interferentes naturais e antrópicos presentes nas amostras, sendo necessário uma série de etapas de *clean up* antes da análise. Esses processos aumentam o tempo de análise, tornam o procedimento dispendioso e, em muitos casos, os inviabiliza para rotinas analíticas desenvolvidas em indústrias ou centros de controle de qualidade.

Como alternativa, os métodos eletroanalíticos vêm ganhando destaque por superar as dificuldades mencionadas anteriormente, além de permitir análise direta e *in loco* (SOUZA, 2003). Os métodos eletroanalíticos baseiam-se em medidas de corrente elétrica, carga e diferença de potencial, registrados durante processos redox ocorridos em diferentes sítios reativos da molécula. Também possuem elevada seletividade e especificidade, robustez e grande sensibilidade, baixo sinal de fundo e ausência de ruídos, permitindo alcançar limites de detecção para a análise de traços, sem necessidade de pré-concentração do analito (BRITO, 2003).

Há vários materiais eletródicos que podem ser utilizados para este fim, como ouro, platina, mercúrio, carbono vítreo, fibra de carbono, diamante dopado, entre outros, que apresentam boa condutividade elétrica, estabilidade térmica, resistência mecânica e intervalos de potencial variável. Com os avanços na área de materiais condutores, um número de substâncias orgânicas e inorgânicas cada vez maior vem sendo estudada com diferentes superfícies de carbonáceas, justificando o crescente e constante número de trabalhos publicados na área e uma das principais motivações deste trabalho (SOUZA, 2003).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método eletroanalítico para o azo-corante *Ponceau 4R* (*E-124*), utilizando um eletrodo de carbono vítreo como superfície de trabalho, visando sua posterior aplicação para a detecção e quantificação desse composto em efluentes da indústria de alimentos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar a eletroatividade do *E-124* sobre o eletrodo de carbono vítreo;
- Estudar o comportamento eletroquímico do *E-124*;
- Otimizar parâmetros voltamétricos para a determinação do corante;
- Quantificar traços do *E-124* em amostras sintéticas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CORANTES ALIMENTÍCIOS

Procurando explicações para a utilização dos corantes no decorrer da história, sempre caímos na ideia de fascínio do homem por colorações, já que esta é um dos atributos sensoriais que influenciam diretamente na aceitação de um determinado produto alimentícios pelo consumidor. De acordo Campos (2014), corantes são substancias que atribuem cor a um determinado produto, possuem estrutura química variada e podem ter origem diversas, sejam naturais (animais ou vegetais) ou sintéticas. No Brasil, a ANVISA (1977) estabelece que os corantes são substâncias ou mistura de substâncias que apresentam a propriedade de conferir ou intensificar a coloração dos alimentos ou bebidas.

A ANVISA (1977) também classifica os corantes alimentícios de acordo com a similaridade em suas propriedades:

- **Corante orgânico sintético** - aquele obtido por síntese orgânica mediante o emprego de processo tecnológico adequado.
- **Corante orgânico natural** - aquele obtido a partir de vegetal ou, eventualmente, de animal, cujo princípio corante tenha sido isolado com o emprego de processo tecnológico adequado.
- **Corante inorgânico** - aquele obtido a partir de substâncias minerais e submetido a processos de elaboração e purificação adequados a seu emprego em alimento.
- **Caramelo** - o corante natural obtido pelo aquecimento de açúcares à temperatura superior ao ponto de fusão.
- **Caramelo (processo amônia)** - o corante orgânico sintético idêntico ao natural, obtido pelo processo amônia, cujo teor de 4-metil-imitazol não deve exceder a 200 mg/kg (duzentos miligramas por quilograma), equivalentes a um produto cuja intensidade de cor seja de 20.000 (vinte mil) unidades EGB (European Brewery Convention) correspondente a 0,076 (setenta e seis milésimos) unidades de absorbância, determinada com solução a 0,1% (um décimo por cento) peso por volume, em célula de 1 (um) centímetro a 610 nm.

Para identificação destes corantes utiliza-se o número INS (Sistema Internacional de Numeração, *Codex Alimentarius* FAO/OMS), onde cada corante alimentício apresenta uma numeração específica, independentemente de sua classe, conforme mostrado no quadro do ANEXO 1.

3.2 AZO-CORANTES

Os azo-corantes são amplamente utilizados em muitos seguimentos industriais, particularmente no ramo alimentar. Estes compostos possuem na sua composição o grupo cromóforo azo (-N=N-) que se unem principalmente aos grupos benzeno e/ou naftaleno (heterocíclicos aromáticos), além de apresentar grupos auxocromos (grupos carregados que apresentam finalidade de intensificam a cor do cromóforo), podendo ser de caráter ácido (-COOH, -OH, -SO₃H) ou básico (-NHR, -NR₂, -NH₂). Pela variedade e complexidade das estruturas obtidas durante os processos de síntese, esses compostos podem ainda ser subdivididos em monoazo, como o Ponceau 4R; diazo, como o *Direct Red 81*; triazo, como *Direct Blue 71*; e poliazo, como o *Direct Black 19* (SANTOS, 2012), que depende da quantidade de grupos cromóforos presentes na estrutura do composto (PIRES, 2013).

3.3 IMPACTOS NO AMBIENTE E NA SAÚDE PÚBLICA

Na indústria de alimentos, devido à baixa taxa de fixação ao longo do processamento, boa parte dos resíduos dos corantes é descartado na forma de efluente industrial. Por este fato, há estudos relacionados ao tratamento dos efluentes contaminados por corantes por métodos convencionais e avançados. Todavia, de acordo Clausen (2007), muitos desses processos não são eficientes, pois simplesmente transferem o composto orgânico do meio aquoso para outro meio (mudança de fase), causando poluição secundária.

A principal preocupação referente à presença desses compostos no meio ambiente se deve aos estudos que comprovam os efeitos tóxicos dos azo-corantes para os ecossistemas e seres vivos relacionados (RUPPENTHAL, 2013). De acordo Graciani (2014), além da poluição visual, os azo-corantes podem alterar os ciclos biológicos, afetando os processos de fotossíntese e limitando a vida aquática.

Entre os diferentes tipos de corantes existentes no mercado, os que apresentam maior toxicidade são os do grupo azo, pois o meio redutor se apresenta como um ambiente propício para a clivagem redutiva nos anéis aromáticos e, conseqüente, formação de aminas aromáticas e outros metabólitos que possuem elevado potencial carcinogênico e mutagênico (PINHEIRO, 2004).

No Brasil e nos Países que compõem a Mercosul, os azo-corantes são liberados para utilização industrial, com restrição apenas na concentração dos mesmos (PIRES, 2013). Deste modo, não menos importante quanto a busca por técnicas alternativas de tratamento dos efluentes contaminados por estes aditivos, o desenvolvimento de procedimentos analíticos é extremamente necessário por permitir identificar e quantificar o *E-124* em matrizes ambientais complexas, mesmo em baixas concentrações, auxiliando aos órgãos competentes na adoção de medidas de controle das fontes poluidoras.

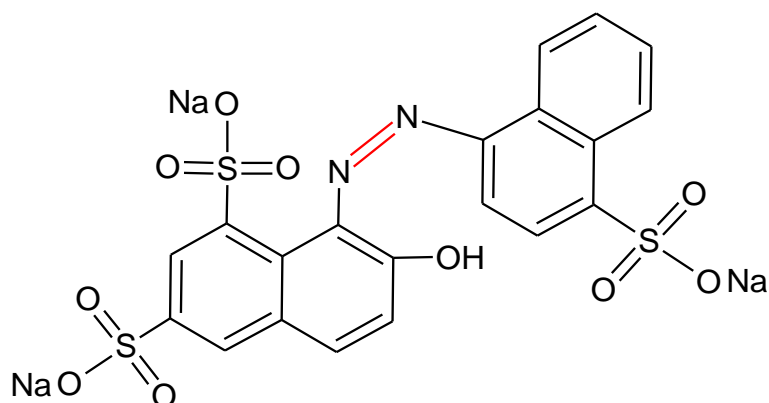
3.4 PONCEAU 4R (E-124)

O corante *Ponceau 4R*, de grau alimentício, possui identificação pelo Sistema de Numeração Internacional (INS) *E-124*, mas ainda possui aproximadamente 115 variações, sendo que os mais utilizados na literatura são *New Coccine*, *Food Red 102* e *Coccine red* (BENINCÁ, 2012). Pela IUPAC, recebe o nome de ácido trissódico 1-(4sulfo-1naftilazo)-2-naftol-6,8,4-disulfônico. Pertence ao grupo dos corantes azo-sulfônicos e, fisicamente, apresenta-se como um pó fino e homogêneo, de coloração vermelha escura. A estrutura química e aspecto físico deste corante estão apresentadas na Figura 01.

O *E-124* é estável na presença de luz, calor e ácidos, sendo não-biodegradável e acumulativo no ambiente. Entretanto, pode desbotar parcialmente com a presença de ácido ascórbico e dióxido de enxofre (SO₂), que são agentes redutores (PINTEA, 2007). O *E-124* é sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão e usado na fabricação de frutas em caldas, xaropes de bebidas, laticínios, cereais, balas, refrigerantes, sucos artificiais em pó, entre outros (CAMPOS, 2014).

Figura 01: (A) Estrutura química e (B) aspecto físico do *E-124* sólido.

(A)



Fonte: Autoria própria.

(B)



Fonte: Food Additives.

3.5 LEGISLAÇÃO

Após a criação do primeiro corante sintético no século XIX, houve uma expansão na criação e utilização destes, de modo que já nas primeiras décadas do século XX haviam mais de 80 corantes sintético sendo utilizados, mesmo sem nenhuma restrição ou conhecimento toxicológico sobre esses aditivos (DOWNHAM, 2000). Mais tarde, diferentes comitês internacionais, tais como a Comissão do *Codex Alimentarius*, organismo subsidiário da FAO e da Organização Mundial da Saúde (OMS), foram criados com o objetivo de estabelecer normas internacionais na área de alimentos, incluindo padrões, diretrizes e guias sobre boas práticas e de avaliação de segurança e eficácia (ANVISA, informe técnico, 2016).

De acordo Prado (2003), existem onze corantes alimentares sintéticos permitidos no Brasil: *Amaranto*, *Vermelho de Eritrosina*, *Vermelho 40*, *Ponceau 4R*, *Amarelo Crepúsculo*, *Amarelo Tartrazina*, *Azul de Indigotina*, *Azul Brilhante*, *Azorrubina*, *Verde Rápido* e *Azul Patente V*. Em 2005, com a harmonização da legislação brasileira entre os países membros do Mercosul, os corantes *Amarelo de Quinoleína*, *Negro Brilhante BN* e *Marrom HT*, foram aprovados para uso em alguns alimentos, totalizando 14 corantes sintéticos permitidos pela legislação brasileira e países do Mercosul. A Tabela 01 descreve a numeração de INS (Sistema de Numeração Internacional) para os corantes alimentícios e a ingestão diária aceitável (IDA) por peso corpóreo (PC), segundo recomendações da ANVISA (Resolução RDC nº 25/2005). Segundo esses dados, o E-124 apresenta IDA = 4 mg/Kg de PC, ou seja,

uma pessoa adulta de PC aproximadamente 65 kg, pode ingerir apenas 260 mg de E-124 por dia.

Tabela 01: Azo-Corantes aplicados na indústria alimentícia brasileira, seguido dos seus respectivos INS e IDA.

Corante	Número INS	IDA (mg/Kg PC)
Amaranto	E 123	0,5
Vermelho de Eritrosina	E 127	0,1
Vermelho 40	E 129	7
Ponceau 4R	E 124	4
Amarelo Crepúsculo	E 110	2,5
Amarelo Tartrazina	E 102	7,5
Azul de Indigotina	E 132	5
Azul Brilhante	E 133	10
Azorrubina	E 122	4
Verde Rápido	E 143	10
Azul Patente V	E 131	15
Amarelo de Quinoleína	E 104	5
Negro Brilhante BN	E 151	1
Marrom HT	E 155	1,5

Fonte: ANVISA/MS - Resolução RDC nº 25/2005

3.6 MÉTODOS ELETROANALÍTICOS

Há vários métodos analíticos que são frequentemente utilizados para o controle de qualidade e quantificação dos corantes (PRADO,2003), com destaque para a cromatografia líquida e gasosa, eletroforese capilar, espectroscopia de infravermelho e ultravioleta-visível, dentre as quais os métodos cromatográficos são os mais utilizados para tal finalidade (CAMPOS, 2014). Todavia, muitos deles apresentam uma série de restrições para análises de rotina, como o elevado custo instrumental, alta susceptibilidade a interferentes, além das etapas de *clean up* longas e exaustivas (ZHANG *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2015).

Os métodos eletroanalíticos surgem como alternativas às limitações descritas anteriormente e baseiam-se em medidas das propriedades elétricas da molécula (corrente elétrica, diferença de potencial, quantidade de carga, etc.) durante um processo redox (PACHECO, 2013). As técnicas eletroanalíticas comparadas com as técnicas cromatográficas e espectroscópicas, apresentam vantagens, pois demandam curto tempo na realização das análises, baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados, além da elevada seletividade (SOUZA, 2012).

Dentre as técnicas eletroanalíticas mais utilizadas estão as voltametrias, que baseiam-se em diferentes modelos de medida de corrente ao passo que o potencial do eletrodo é variado. As técnicas voltamétricas mais utilizadas em trabalhos eletroanalíticos são: Voltametria de Varredura Linear, Voltametria Cíclica, Voltametria de Onda Quadrada, Voltametria de Pulso Diferencial, Voltametria de Redissolução e Voltametria Adsorbtiva (PACHECO, 2013).

Nos processos voltamétricos, as reações que ocorrem na superfície do eletrodo sofrem influência de três modelos de transferência de massa: migração, convecção e difusão. A difusão é o processo de transferência de massa mais largamente estudado e ocorre como resultado de gradientes de concentração. Os modelos matemáticos que explicam os fenômenos de superfície nas voltametrias consideram apenas os processos difusionais e, por este motivo, a solução contendo a espécie eletroativa é mantida em repouso (elimina-se assim a convecção) e em eletrólito suporte (elimina-se a migração e assegura a condutividade da solução) (PACHECO, 2013).

Além da transferência de massa, tem-se a transferência de carga que é consequência das reações eletródicas (processos de oxidação e redução) que ocorrem na interface eletrodo-solução, gerando corrente elétrica composta por duas componentes: (I) a corrente faradáica, relativa às reações redox ocorridas na superfície do eletrodo e (II) a corrente capacitiva, que é a corrente necessária para carregar a dupla camada elétrica existente na interface eletrodo/solução (PACHECO, 2013). Nos estudos eletroanalíticos, correntes faradáicas elevadas e baixas correntes capacitivas aumentam a sensibilidade

3.7 ELETROANÁLISE DO E-124

Há poucos relatos de métodos eletroanalíticos propostos para identificar e quantificar o E-124 em amostras ambientais, inclusive usando superfícies de trabalho

diferenciadas. Como exemplo, tem-se o trabalho publicado por Mendonça (2015), que utilizou um eletrodo de pasta de carbono modificado com hexacianoferrato de níquel para quantificar este corante em águas naturais, alcançando limite de detecção (LD) de $9,90 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Wang (2015) analisou o E-124 em amostras de refrigerantes, utilizando um eletrodo de nanotubos de carbono modificado com poli(3,4-etilenodioxitiofeno):poli(estirenosulfonato) e dois de seus derivados, obtendo $\text{LD} = 1,8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. Zhang (2014B) utilizou eletrodo de pasta de grafite expandido para determinar simultaneamente o E-124 ($\text{LD} = 2,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) e *Amaranto* em bebidas não-alcoólicas produzidas na China. Huang (2016) desenvolveu um método para determinar E-124 em refrigerantes, utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com quistosana e esferas de MnO_2 como superfície de trabalho, alcançando $\text{LD} = 0,1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. Zhang (2014C) desenvolveu um sensor eletroquímico para determinar simultaneamente E-124 e E-102 em refrigerantes, utilizando um de pasta de grafite expandido modificado com líquido iônico (IL-EGPE), obtendo $\text{LD} = 1,4 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.

Apesar dos resultados obtidos nos trabalhos anteriores serem importantes, o desenvolvimento de novos métodos eletroanalíticos a partir de materiais menos dispendiosos e mais robustos são importantes atrativos para a implantação dos procedimentos nos laboratórios de controle de qualidade ou em centros de pesquisa. Eletrodos de carbono vítreo possuem essas características, mesmo sem modificação prévia, o que instiga mais pesquisas nesta linha de raciocínio.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados foram de pureza analítica (P.A.). A Solução tampão Britton-Robinson, utilizada como eletrólito de suporte, foi preparada pela mistura dos ácidos bórico (H_3BO_3 ; Vetec), ácido acético (CH_3COOH ; Vetec) e ácido fosfórico (H_3PO_4 ; Vetec), todos com concentração de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$. O ajuste do pH foi realizado com solução de $\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (Merck).

A solução estoque do *Ponceau 4R* (Sigma-Aldrich) foi preparada a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. As soluções padrão foram preparadas por diluição, a partir da solução estoque, até a concentração desejada. Quando armazenadas, as soluções foram mantidas sob refrigeração ($\pm 5^\circ\text{C}$), respeitando o prazo de validade. Todas as soluções foram preparadas com água ultra-pura (Milli-Q, Millipore).

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula convencional equipada com três eletrodos: um eletrodo de carbono vítreo (ECV) como eletrodo de trabalho, um eletrodo de platina como eletrodo auxiliar e um eletrodo do tipo Ag/AgCl como referência. O conjunto de eletrodos foi conectado a um potenciostato modelo μ -Autolab (Type III, Methrom) e controlados por computador, por meio do software NOVA 1.10.

4.3 METODOLOGIA ELETROANALÍTICA

As informações relacionadas à eletroatividade, comportamento redox, cinética eletródica, transporte de massa, mecanismos de troca eletrônica, entre outros fenômenos de superfície sofridos pelo analito na interface eletrodo/solução. Em todos os casos, as informações foram avaliadas com base nos valores de corrente de pico (I_p), potencial de pico (E_p) e potencial de pico a meia-onda ($E_{p1/2}$), que controlam a sensibilidade e seletividade da técnica.

Para a quantificação do E-124, utilizou-se a Voltametria de Onda Quadrada (VOQ), após a otimização dos parâmetros que controlam a sensibilidade da técnica: frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f), amplitude dos pulsos (a) e incremento de varredura (ΔE_s). Neste caso, além dos parâmetros já mencionados para a VC, a seleção das melhores condições para a quantificação do composto também tomou por base a razão sinal/ruído para as medidas obtidas.

Conhecendo-se as melhores condições experimentais e operacionais, foi construída uma curva eletroanalítica para o *Ponceau 4R* ($1,0 \times 10^{-7}$ a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹), a partir da relação entre I_p e a concentração do corante [*Ponceau 4R*]. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados com base no quociente entre o desvio padrão do coeficiente linear (DP_a) e a média do coeficiente angular (\bar{b}), conforme descrito nas seguintes equações:

$$LD = 0,3 \times \frac{DP_a}{\bar{b}}$$

$$LQ = 10 \times \frac{DP_a}{\bar{b}}$$

A precisão do método foi avaliada por testes de repetibilidade *intraday* ($n = 10$) e *interday* ($n = 5$) feitos na mesma concentração do analito ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹), tomando por base o desvio padrão relativo das medidas em escala percentual (%RSD):

$$\%RSD = \left(\frac{DP_{[x]}}{\bar{x}} \right) \times 100$$

Onde $DP_{[x]}$ e \bar{x} representam o desvio padrão e a média das medidas obtidas para o corante a uma dada concentração, respectivamente. Os ensaios de recuperação do composto foram feitos em três diferentes níveis de fortificação ($1,0 \times 10^{-7}$, $5,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) e comparados ao valor teórico calculado. Todos os experimentos foram realizados a 20°C e em triplicata, sendo que os resultados apresentados neste trabalho representam a média aritmética obtida entre três medidas.

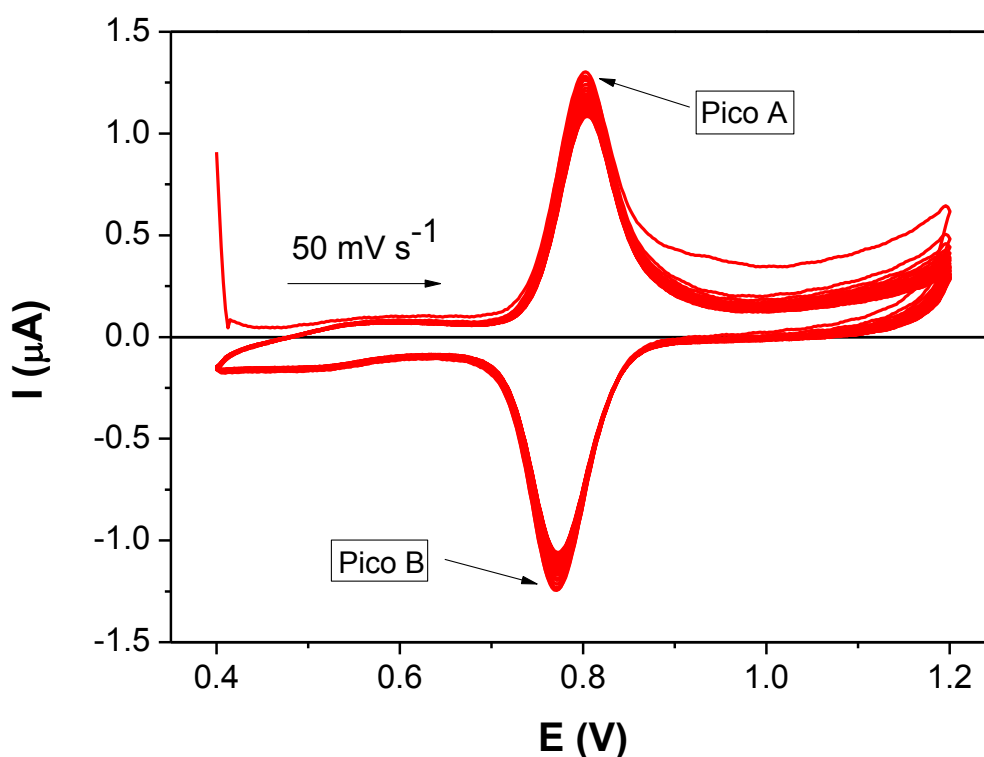
$$\text{recuperação (\%)} = \frac{[\text{recuperada}]}{[\text{adicionada}]} \times 100$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ELETROATIVIDADE DO E-124

Neste trabalho, a eletroatividade do *Ponceau 4R* foi inicialmente avaliada sobre eletrodo de carbono vítreo (ECV), em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 2), utilizando VC a 50 mV s^{-1} . Nestas condições, o comportamento eletroquímico o analito foi caracterizado por um par de processos redox bem definidos, cujos picos anódico (Pico A) e catódico (Pico B) foram de igual intensidade e registrados em +0,80 V e +0,77 V (vs. Ag/AgCl), respectivamente, conforme ilustrado na Figura 02.

Figura 02: Voltamograma cíclico obtido para o *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 2), após 30 varreduras consecutivas de potencial a 50 mV s^{-1} .



Fonte: Autoria Própria.

Embora o grupamento -N=N- seja responsável pelas principais características da molécula como corante alimentar, os Picos A e B estão relacionados aos fenômenos de oxidação e redução do grupamento -OH que encontra-se em posição *orto* no naftaleno bisulfonado (carbonos α e β na posição 1,2) em relação ao grupo cromóforo do analito (HUANG, ZENG e WANG, 2016). Fazendo esta consideração, os processos redox do *Ponceau 4R* ocorrem por um mecanismo envolvendo um elétron para cada processo de oxidação e redução registrado.

À medida que se prossegue com as ciclagens, verifica-se que os valores de I_p e E_p permanecem praticamente constantes, mesmo após 30 varreduras consecutivas de potencial, sugerindo que o transporte de massa do E-124 para a superfície do eletrodo é controlada por difusão, sem registro de adsorção de reagentes ou produtos da reação sobre a superfície de trabalho. Esta característica é importante para trabalhos eletroanalíticos, uma vez que a adsorção bloqueia a área eletroativa do material, necessitando de um pré-polimento da superfície a cada nova medida, que prejudica a reprodutibilidade das medidas.

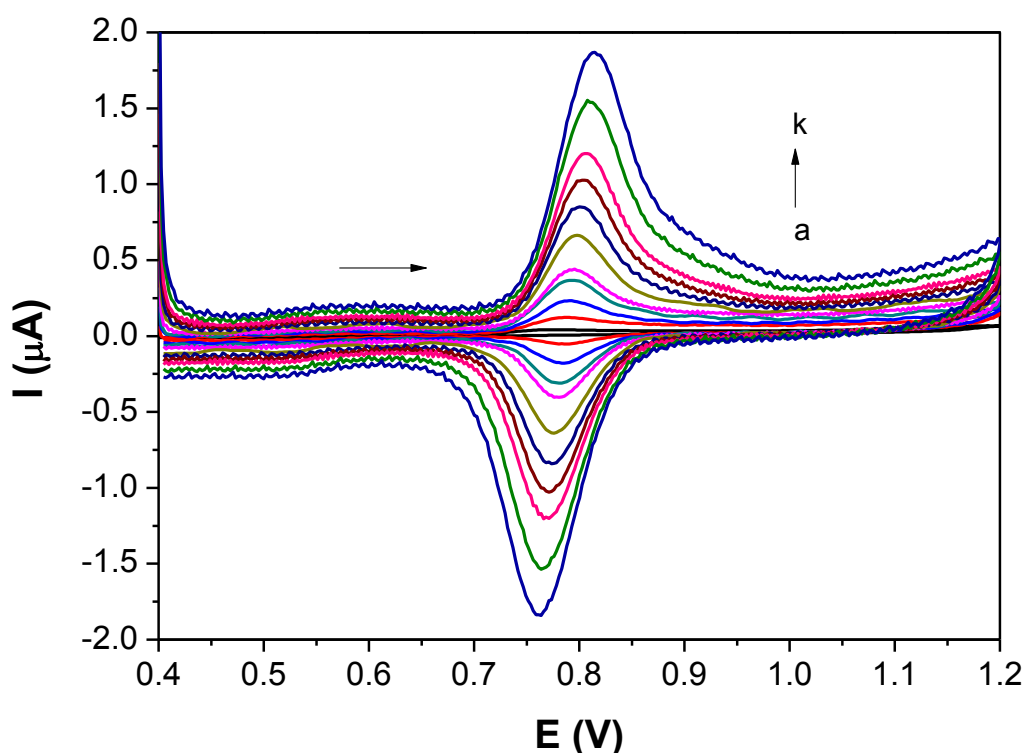
Além dos dados supracitados, as informações acerca da reversibilidade da molécula foi também estudada com base no perfil voltamétrico do *Ponceau 4R* registrado em função da velocidade de varredura (v) do potencial eletródico (5 a 500 mV s^{-1}). Como pode ser observado na Figura 03, a intensidade nos valores de I_p , tanto para o processo anódico quanto catódico, aumentam de forma proporcional e não-linear com o aumento de " v ", seguido de um pequeno deslocamento no valores de E_p . Todavia, a diferença entre os valores de E_p anódico e catódico permanece constantes e equivalente a 60 mV. Esse conjunto de características classifica o processo redox do *Ponceau 4R* sobre ECV como sendo totalmente reversível.

Em sistemas reversíveis, a velocidade da reação de transferência de carga é elevada, de modo que a etapa de transferência de massa por difusão torna-se uma das principais variáveis para a cinética do processo eletródico, estabelecendo um equilíbrio dinâmico na interface do eletrodo. Para reações reversíveis, o coeficiente de difusão pode ser estimado de acordo com a equação de Randles-Sevcik:

$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D_o^{1/2} C_o \sqrt{v}$$

Onde “n” é o número de elétrons envolvidos no processo, “A” é a área do eletrodo em cm^2 , “ C_0 ” é a concentração do analito na solução em mol ml^{-1} , e “ D_0 ” representa o coeficiente de difusão. Tomando por base o menor valor de “v” investigado e considerando a área do eletrodo de trabalho como sendo $0,05 \text{ cm}^2$, o valor teórico observado de D_0 para o *Ponceau 4R* sobre ECV foi de $3,25 \times 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, o que denota rápida transferência de elétrons na superfície do eletrodo.

Figura 03: Voltamograma cíclico obtido para *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson ($\text{pH} = 2$), usando velocidades de varredura de (a) 5, (b) 25, (c) 50, (d) 75, (e) 100, (f) 150, (g) 200, (h) 250, (i) 300, (j) 400 e (k) 500 mV s^{-1} .



Fonte: Autoria Própria.

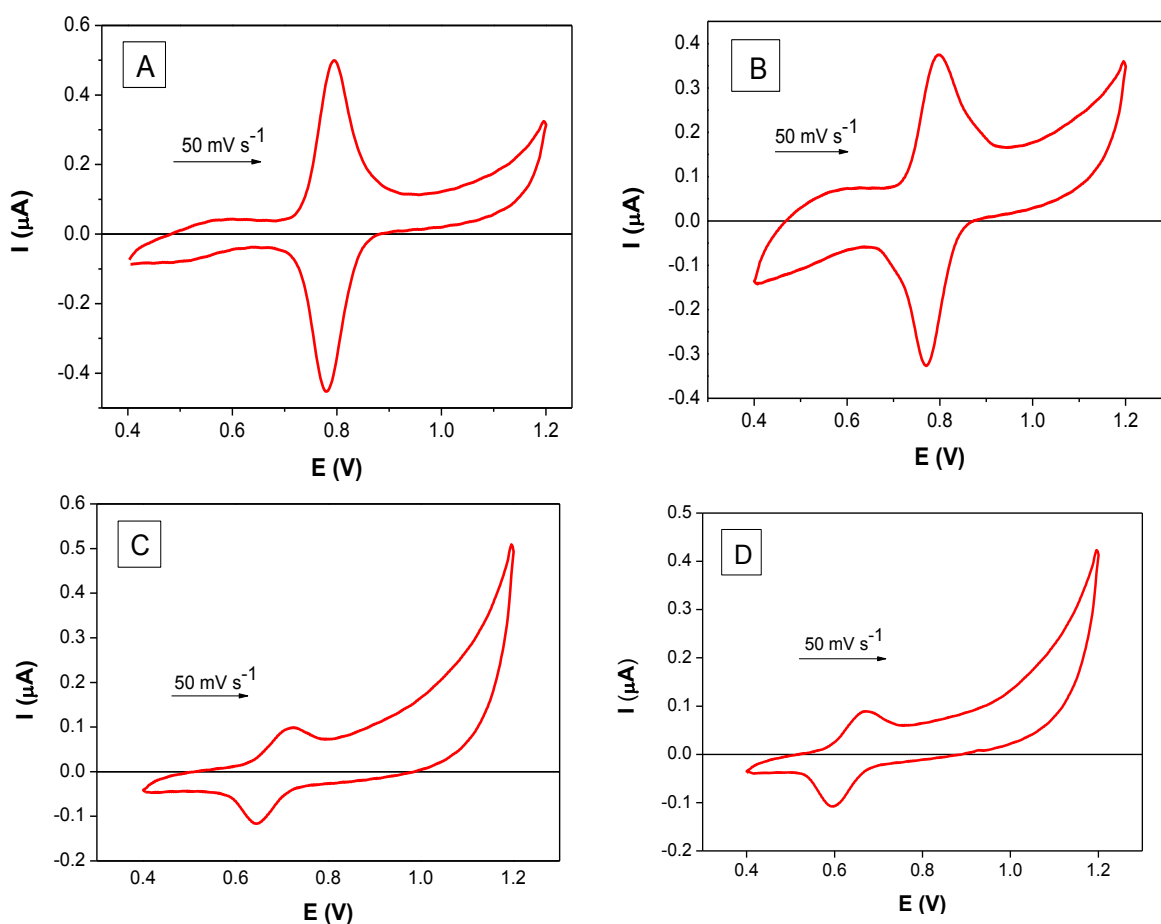
Apesar de se ter uma cinética eletrodica rápida na interface do eletrodo de trabalho, observa-se que o ruído do sinal eletroanalítico aumenta expressivamente em valores de $v \geq 200 \text{ mV s}^{-1}$. Além disso, à medida que se aumenta a velocidade de varrimento, também ocorre o aumento gradativo de $E_{p1/2}$ paralelamente, diminuindo a seletividade do procedimento para detectar o analito na presença de possíveis interferentes eletroativos na faixa de potencial estudada. Neste caso, a sensibilidade

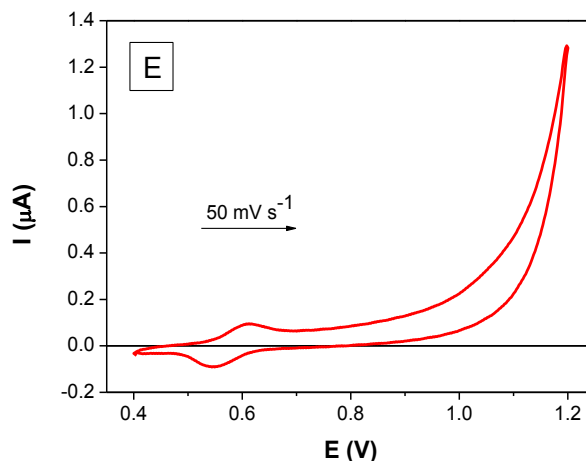
do procedimento torna-se mais expressiva em $v \leq 150 \text{ mV s}^{-1}$. Tendo a velocidade de 50 mV s^{-1} selecionada.

5.2 ESTUDO DO pH

Dentre os vários fatores que podem influenciar a sensibilidade na eletroanálise de um determinado composto, o pH aparece como uma das variáveis mais críticas. O caráter próton-dependente deste composto sobre diferentes superfícies eletródicas já foi confirmado em outros estudos (Wang, 2015; Zhang 2014 A-C; Huang, 2016). No presente trabalho, a eletroatividade do *Ponceau 4R* sobre ECV foi avaliada em diferentes valores de pH, compreendidos entre o meio ácido e o levemente básico ($1,0 \leq \text{pH} \leq 8,0$), conforme indicado na Figura 04.

Figura 04: Voltamograma cíclico obtido para *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson com pH ajustado (a) 1,0; (b) 2,0; (c) 4,0; (d) 6,0 e (e) 8,0; usando velocidades de varredura de 50 mV s^{-1} .





Fonte: Autoria Própria.

Os resultados indicam que a eletroatividade do analito (transferências de cargas e de massa no processo redox) diminui com o aumento do pH, como pode ser verificado pela diminuição pronunciada nos valores de I_p , além do deslocamento de E_p anódico e catódico para valores menos positivos. Foi observado também que os valores de $E_{p1/2}$, bem como das correntes capacitivas que participam do sistema, tornaram-se maiores com o aumento do pH do meio. Neste sentido, com foco na sensibilidade e seletividade do método eletroanalítico, utilizou-se solução tampão Britton-Robinson pH = 1,0 como condição otimizada para o eletrólito nos experimentos posteriores.

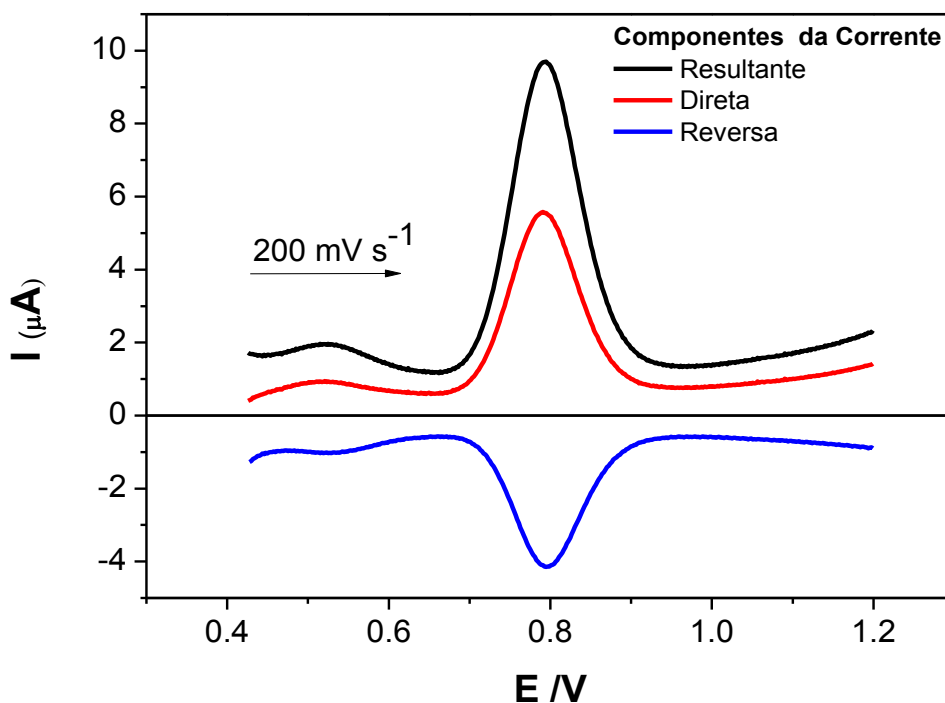
5.3 COMPONENTES DE CORRENTE DA VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

A fim de aumentar a intensidade das correntes faradáicas registradas no processo redox do corante sobre o ECV para fins eletroanalíticos, o comportamento redox da molécula também foi avaliado por VOQ. A Figura 05 apresenta as componentes de corrente da VOQ obtidas para o *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sob condições otimizadas. Observa-se que as componentes de corrente direta e reversa são de mesma intensidade e direcionadas para sentidos opostos, que é característico de sistemas reversíveis, conforme já demonstrado por VC.

A componente de corrente resultante foi a mais intensa e surge como resultado da diferença entre as correntes obtidas nas componentes direta e reversa. A título de informação, a sensibilidade alcançada em termos de intensidade de I_p foi mais de dez vezes maior na VOQ em comparação ao obtido por VC, reafirmando a sensibilidade

das técnicas de pulso. Segundo Pacheco (2013), na VOQ o modelo de amostragem de corrente ocorre ao final da aplicação de cada pulso de potencial, de tal maneira que a participação das correntes capacitivas se torna negligenciável, melhorando significativamente a sensibilidade da técnica sobre a corrente total medida. Como o sinal eletroanalítico da componente resultante apresentou picos mais estreitos, de maior intensidade e com menor participação das correntes de fundo, a mesma foi selecionada para a quantificação do analito.

Figura 05: Componentes de corrente da voltametria de onda quadrada registradas para o *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $f = 100$ s⁻¹, $a = 50$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV.



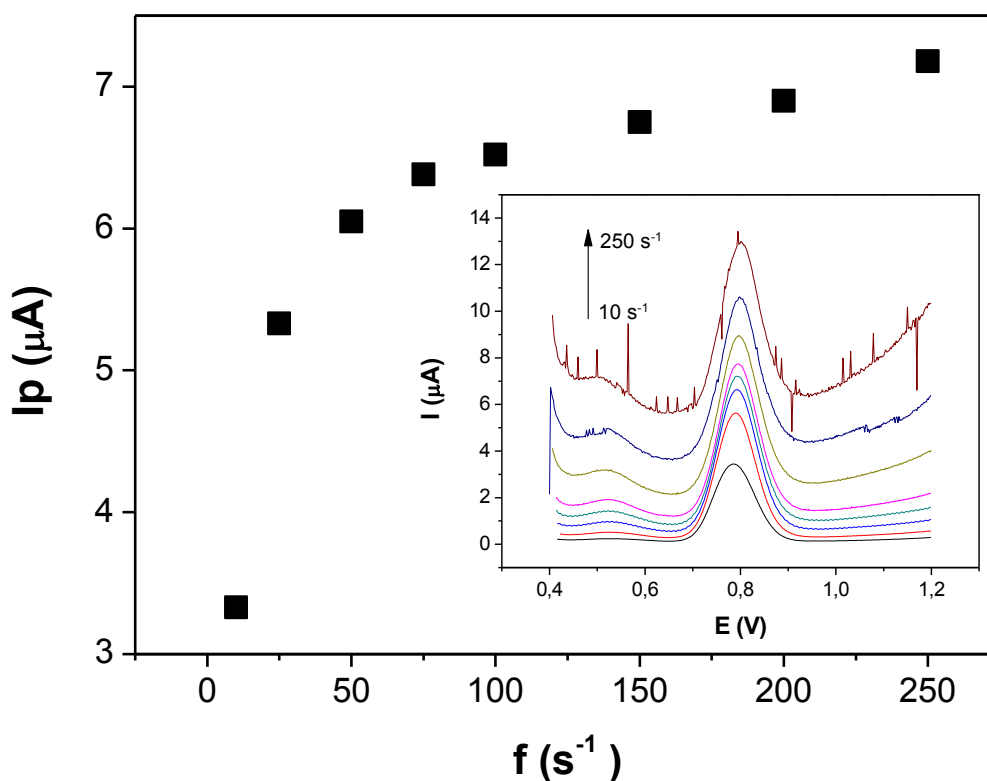
Fonte: Autoria Própria

5.4 ESTUDO DA FREQUÊNCIA

Entre as diferentes variáveis que controlam a resposta eletroquímica na VOQ, os valores de “ f ” são críticos para que se alcance uma melhor sensibilidade do sinal, já que a velocidade de varredura nesta técnica é dada pelo produto desta variável por ΔE_s (DANTAS, 2007). No presente trabalho, o efeito de f no comportamento

eletroquímico do *Ponceau 4R* foi investigado no intervalo entre 10 a 250 s^{-1} , conforme ilustrado na Figura 06. Foi observado um aumento não-linear de I_p à medida que o valores de f aumentaram, enquanto que E_p permaneceu constante para toda a faixa estudada; um comportamento esperado para moléculas que sofrem processo redox totalmente reversível e rápido sobre o eletrodo de trabalho.

Figura 06: Efeito da frequência sobre o perfil voltamétrico do *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson ($\text{pH} = 1,0$), utilizando $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. A inserção refere-se aos voltamogramas de onda quadrada obtidos para cada frequência.



Fonte: Autoria Própria

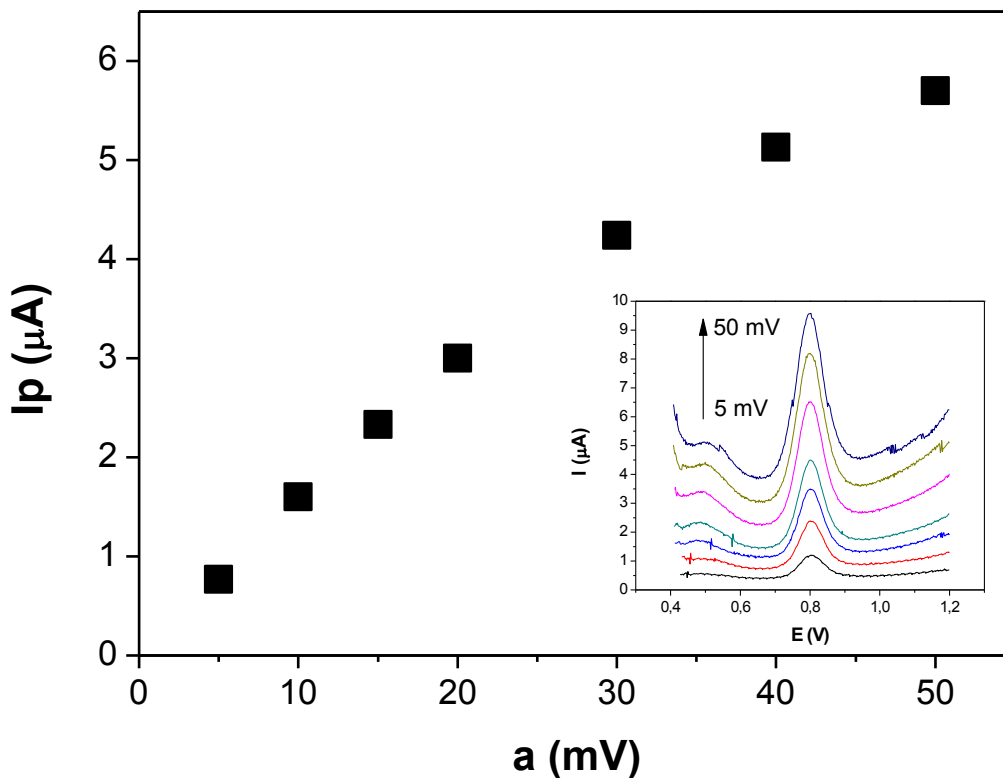
Constatou-se ainda que o aumento das correntes torna-se menos pronunciado para $f \geq 75 \text{ s}^{-1}$, indicando que o controle difusional de transporte de massa do seio da solução para a superfície do eletrodo passa a se tornar ainda mais crítico em velocidades mais elevadas. O aumento de f também proporcionou expressivas na linha de base dos voltamogramas, que pode estar relacionada a mudanças na reversibilidade e/ou na capacitância do sistema (SANTOS, 2003). Para $f \geq 200 \text{ s}^{-1}$,

observa-se aumento significativo no ruído do sinal analítico e perda de resolução do pico analítico. Com base nessas informações, utilizou-se $f = 150 \text{ s}^{-1}$ como condição otimizada para os experimentos subsequentes.

5.5 ESTUDO DA AMPLITUDE

A intensidade em que os pulsos de potencial são aplicados apresenta grande influência sobre a sensibilidade seletividade do método, já que podem influenciar diretamente nos valores de $E_{p1/2}$. Para a faixa de “a” avaliada neste estudo (5 a 50 mV), constatou-se um efeito positivo em I_p , cujos valores aumentaram de forma linear até $a = 30 \text{ mV}$, como pode ser visto na Figura 07.

Figura 07: Efeito da amplitude sobre o perfil voltamétrico do *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $f = 150 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. A inserção refere-se aos voltamogramas de onda quadrada obtidos para cada amplitude.



Fonte: Autoria Própria

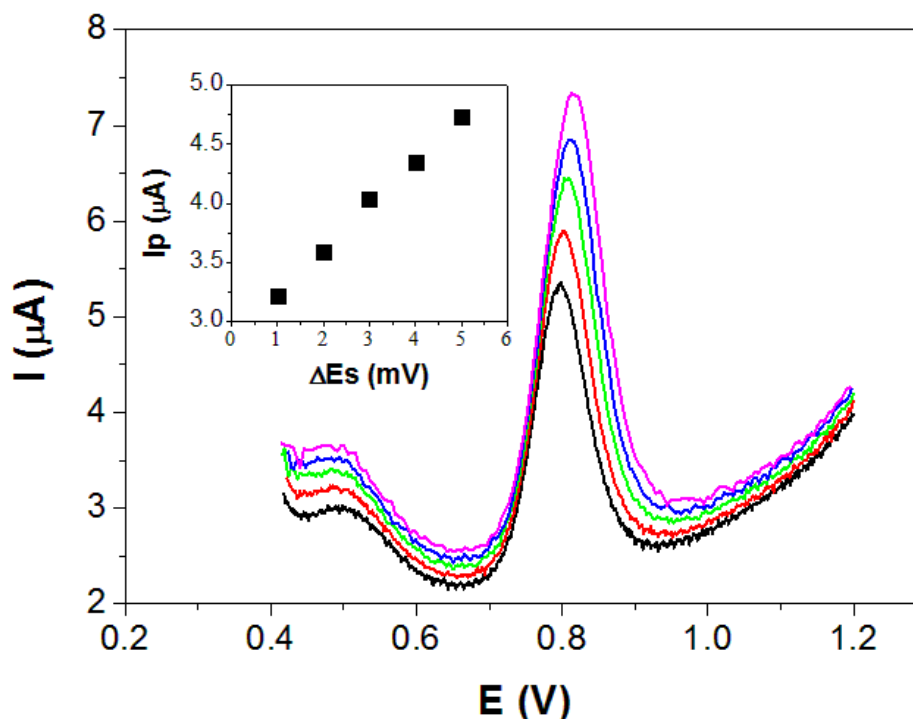
Pôde-se observar também que com o aumento da amplitude dos pulsos não houve deslocamentos significativos nos valores E_p , reafirmando o caráter reversível da reação redox do *Ponceau 4R* sobre ECV.

Em adição, acima de 30 mV, constatou-se um aumento no ruído do sinal eletroanalítico, além de um leve alargamento da onda voltamétrica, implicando em perda de sensibilidade e seletividade para a determinação do analito. Baseando-se neste discurso, foi utilizado $a = 30$ mV como condição ideal para a realização dos demais experimentos.

5.6 ESTUDO DO INCREMENTO

O incremento de varredura de potencial (ΔE_s) pré-determina o modo pelo qual o potencial é aplicado ao final de cada pulso, sendo também um fator determinante para a velocidade da reação (PACHECO, 2013). Neste trabalho, este parâmetro foi avaliado no intervalo de 1 a 5 mV, conforme indicado na Figura 08. O aumento desta variável influenciou positivamente na intensidade dos valores de I_p , de forma que as correntes aumentaram linearmente em toda a faixa investigada. O aumento de ΔE_s também proporcionou o deslocamento de E_p para valores mais positivos, sugerindo uma aparente influência deste parâmetro sobre as propriedades cinéticas e mecanística da molécula. O ruído do sinal tornou-se mais pronunciado à medida que os valores de ΔE_s aumentavam. Considerando que em $\Delta E_s = 3$ mV ainda se observava uma boa relação sinal/ruído, com picos estreitos e de intensidade elevada, esta condição foi utilizada nos experimentos posteriores.

Figura 08: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o *Ponceau 4R* ($5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) sobre eletrodo de carbono vítreo, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $f = 150$ s⁻¹, $a = 30$ mV e diferentes valores de ΔE_s . A inserção refere-se ao efeito de ΔE_s sobre as correntes de pico.

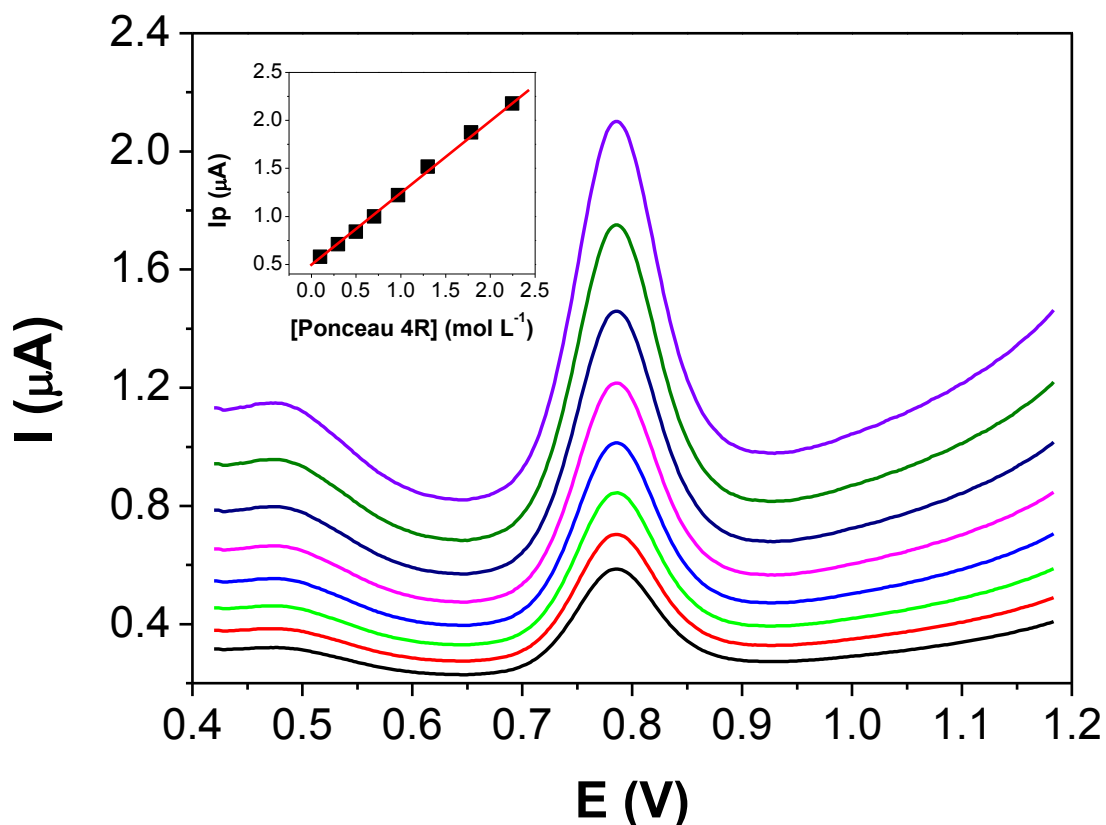


Fonte: Autoria Própria

5.7 CURVA ANALÍTICA

Uma vez otimizada as melhores condições voltamétricas para a determinação do *Ponceau 4R* sobre o ECV ($f = 150$ s⁻¹, $a = 30$ mV e $\Delta E_s = 3$ mV), foi construída a curva analítica para a determinação do analito (Figura 09), com faixa de concentração compreendida entre $1,0 \times 10^{-7}$ a $2,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e coeficiente de correlação (r) de 0,9979, sugerindo uma baixa dispersão nos dados do seguimento linear e que o método proposto é representativo para estimar a concentração do analito presente na célula eletroquímica. A sensibilidade do método eletroanalítico proposto, avaliada em termos de LD e LQ, foi equivalente a $9,8 \times 10^{-8}$ e $3,3 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, respectivamente. Essas medidas também foram acompanhadas de elevada precisão, tendo em vista os baixos desvios obtidos para as medidas *intraday* (%RSD = 2.3; $n = 10$) e *interday* (%RSD = 4.7; $n = 5$) feitas com o $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ do *Ponceau 4R* sobre ECV.

Figura 09: Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o *Ponceau 4R* sobre eletrodo de carbono vítreo, na faixa de $1,0 \times 10^{-7}$ a $2,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do analito, em meio de solução tampão Britton-Robinson (pH = 1,0), utilizando $f = 150$ s⁻¹, $a = 30$ mV e $\Delta E_s = 3$ mV. A inserção refere-se a curva analítica obtida com os voltamogramas, a partir da relação entre a concentração do analito e as respectivas correntes de pico registradas sobre o eletrodo de trabalho.



Fonte: Autoria Própria

Os ensaios de recuperação do composto foram feitos em três diferentes níveis de fortificação ($1,0 \times 10^{-7}$, $5,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) e comparados ao valor teórico. Os percentuais de recuperação obtidos (90-96%) atestam a exatidão e confiabilidade do método eletroanalítico proposto para a eletroanálise do *Ponceau 4R* sobre ECV. Novos testes estão sendo conduzidos com a perspectiva de aplicar este procedimento na detecção e quantificação deste azo-composto em amostras de efluentes reais da indústria de alimentos.

6 CONCLUSÃO

Os estudos qualitativos, conduzidos por voltametria cíclica, mostraram que o comportamento eletroquímico do Ponceau 4R sobre o eletrodo de trabalho foi caracterizado por um processo reversível, relacionado aos fenômenos de oxidação e redução no grupamento -OH que encontra-se em posição *orto* ao cromóforo -N=N-, ambos ligados ao naftaleno bisulfonado do corante azoico. A molécula apresenta caráter próton-dependente, sendo que sua reatividade torna-se mais pronunciada em meio ácido. Nos fenômenos de superfície, o transporte de massa era rápido e controlado por difusão, sem fenômenos de adsorção de reagentes e/ou produtos sobre o eletrodo de carbono vítreo.

A quantificação do composto foi mais viável por voltametria de onda quadrada, tendo em vista a menor participação de correntes capacitivas no sinal eletroanalítico. Utilizando as melhores condições operacionais (solução tampão Britton-Robinson; pH = 1,0) e voltamétricas ($f = 150$ Hz, $a = 30$ mV, $\Delta E_s = 3$ mV), foi possível detectar o analito com LD = $9,8 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Por meio dos estudos de repetibilidade (%RSD < 5,0%) e recuperação ($\geq 90\%$), ficou comprovado a eficiência do método proposto para a eletroanálise do Ponceau 4R. O conjunto das figuras de mérito permite-nos inferir que esta metodologia poderá ser aplicada com êxito na detecção e quantificação deste corante em matrizes complexas, a exemplo dos efluentes da indústria de alimentos.

7 Bibliografia

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 60, de 05 de setembro de 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RESOLUÇÃO Nº 44/CNNPA, DE 1977.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 25, de 15 de fevereiro de 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução nº 387, de 05 de agosto de 1999.** [S.l.]: [s.n.]. 199. p. 1-2.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA. **Informe Técnico n. 68. Classificação dos corantes caramelos II, III e IV e dos demais corantes autorizados para uso em alimentos.** [S.l.]: [s.n.]. 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITARIA. **Codex Alimentarius.** Brasília/DF: [s.n.]. 2016.

ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e técnicas. **chemkeys**. Disponível em: <<http://chemkeys.com/br/2003/03/25/voltametria-conceitos-e-técnicas/>>. Acesso em: 27 fevereiro 2017.

ANTUNES, L. M. G.; ARAÚJO, M. C. P. mutagenicidade e antimutagenicidade dos principais corantes para alimentos. **revista de nutrição**, Campinas, v. 13, p. 81-88, Maio/Agosto 2000.

BENINCÁ, Cristina. Degradação do corante alimentício *ponceau 4R* e tratamento de efluentes de uma indústria de alimentos utilizando processos oxidativos avançados. Tese (doutorado). Curitiba, 2012

BRITO, N. M. et al. validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicol e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129-146, dezembro 2003.

CAMPOS, P. R. P. desenvolvimento e validação de um método de quantificação de corantes em amostras de sucos artificial em pó. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal/RN, p. 27-53. 2014.

CLAUSEN, D. N.; TAKASHIMA, K. efeitos dos parâmetros operacionais na fotodegradação do azo corante direct red 23 na interface dióxido de titânio/água. **Química Nova**, Londrina - PR, Brasil, v. 30, n. 8, p. 1896-1899, Outubro 2007.

COSENTINO, H. M. Efeitos da radiação ionizante em corantes naturais de uso alimentício. **Instituto De Pesquisas Energéticas Instituto De Pesquisas Energéticas E Nucleares - IPEN /CNEN/SP. Autarquia associada à Universidade de São Paulo**. Tese. 130p, São Paulo, 2005.

COSTA, C. R.; OLIVI, P. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, São Carlos-SP, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, ago. 2008.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science and Technology**, Derbyshire, v. 35, p. 5-22, November 2000.

DUAN, et al. Study on electrochemical oxidation of 4-Chlorophenol on a vitreous carbon electrode using cyclic voltammetry. **elsevier-Electrochimica Acta**, Siping, v. 94, p. 192– 197, Fevereiro 2013.

FOOD ADDITIVES. Food Additives articles Ponceau 4R. **food Additives Ameliorating the Flavors,Enriching the Food**, 2016. Disponível em: <<http://www.foodadditivesworld.com/articles/ponceau-4r.html>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

GOMES , J. I. N. R. química da cor e dos corantes. curso de química da qualidade-ramo materiais têxteis, Braga, p. 2-10, Dezembro 2000.

GRACIANI, F. S. Contaminantes emergentes: Azocorantes e PBTAs. **Espacios**, São Paulo, v. 35, n. 6, p. 7, maio 2014.

HASSE, E. E. S. Remoção de Cobre (II) em eletrodos de platina-polipirrol, Porto Alegre, p. 9-26, Junho 1998.

HONORATO, T. C. et al. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró – RN - BRASIL, v. 8, n. 5, p. 1-11, dezembro 2013.

HUANG, ; ZENG, Q.; WANG,. Ultrasensitive electrochemical determination of Ponceau 4R with a novel e-MnO₂ microspheres/chitosan modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, Guangzhou, p. 176–183, April 2016.

LEAL, C. S. M. Solubilidade de corantes azo. **Dissertação de Mestrado**, Covilhã, p. 5-13, Julho 2011.

MATOS, I. D. O.; ALVES, W. A.; NASCIMENTO, O. R. Atividade eletrocatalítica de sistemas biomiméticos da enzima catalase. **Quimica Nova**, Campinas, v. 34, p. 1588-1594, julho 2011.

MENDONÇA, F. D.; FERNANDES, J. A.; OLIVEIRA, T. M. B. F. Eletroanálise do Ponceau 4R utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com hexacianoferrato de níquel. **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, p. 2-7, Novembro 2015.

MORETH, S. Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde. Centro Univesitario Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro, p. 17-24. 2012.

NEVADO, J. J. B.; CABANILLAS, C. G.; SALCEDO, A. M. C. Simultaneous spectrophotometric determination of three food dyes by using the first derivative of ratio spectra. **Talanta**, v. 42, n. 12, p. 2043-2051, dez. 1995.

OLIVEIRA, D. et al. Evaluating the effectiveness of photocatalysts based on titanium dioxide in the degradation of the dye Ponceau 4R. **Dyes and Pigments**, p. 563-572, May 2011.

OLIVEIRA, T. M. B. F. Biossensores enzimáticos para detecção e quantificação de carbamatos em amostras de alimentos, Fortaleza, p. 55-69, 2013.

PACHECO, L. C. M. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de resíduos de pesticidas em amostras de alimentos e de águas naturais. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. Fortaleza, p. 25-27. 2010.

PACHECO, W. F. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, p. 518-520, Agosto 2013.

PFLIEGER, D.; METZ, H.-J. Corantes azo de metanossulfonamida. PI 0409226-0 A2, 10 abr. 2003. Disponível em: <<https://www.escavador.com/patentes/398626/corantes-azo-demetanossulfonamida>>. Acesso em: 05 2017 2017.

PINHEIRO, H. M.; TOURAUD, E.; THOMAS, O. Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. **Dyes and Pigments**, v. 61, p. 121-139., 2004.

PIRES, M. J. R. G. R. Propriedades de Corantes Azo em Soluções Aquosas: Influência da temperatura e do meio iônico, Covilhã, p. 9-11, Julho 2013.

PIRES, M. J. R. G. R. Propriedades de Corantes Azo em Soluções Aquosas: Influência da temperatura e do meio iônico. UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR. Covilhã, p. 9-11. 2013.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Araraquara, CAMPINAS**, v. 14, p. 237-250, 2003.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Determinação de corantes artificiais por cromatografia líquida de alta eficiência (clae) em pó para gelatina. **Química Nova**, Campinas-SP, v. 27, n. 1, p. 22-26, jun. 2004.

ROSA, R. Proposta de uma rotina de análise usando o eletrodo de diamante dopado com boro para a determinação simultânea de metais traço em água de coco. **Dissertação de mestrado**, Vitória , p. 21-27, 2016.

ROSA, T. F. et al. Voltammetric determination of necrodil sodium using glassy carbon electrode. **Eclética Química**, Araraquara - SP, v. 28, n. 2, p. 63-68, 2003.

RUPPENTHAL, J. E. Toxicidade e risco. In: BRASIL., R. E.-T. **Toxicidade**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, Colégio Técnico Industrial, v. 1, 2013. p. 17-22.

SANTOS , M. E. D. Análise simultânea dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo por espectrofotometria uv-vis empregando-se métodos de calibração multivariada. **Dissertação de Mestrado**, PONTA GROSSA , p. 25-51, 2005.

SANTOS, B. R. T. Efeito de diferentes doadores de elétrons e da variação de concentração de sulfato na descoloração redutiva do corante direct black 22. **Dissertação do Mestrado**, Recife, p. 10-15, 2012.

SANTOS, M. S. D.; BIANCHIN, J. N.; SPINELLI, A. Desenvolvimento de metodologias analíticas baseada em eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de bismuto: Aplicação em água de chuva em regiões de Santa Catarina. **ECLÉTICA química**, Florianópolis , v. 36, p. 158-177, 2011. ISSN 2.

SEYYEDI, K.; JAHROMI, M. A. F. Decolorization of azo dye C.I. Direct Black 38 by Photocatalytic method using TiO₂ and optimizing of process. **APCBEE Procedia**, Shiraz, Iran, v. 10, p. 115 – 119, 2014.

SILVA JR, A. Í. D.; FILHO, H. D. C. A.; SILVA, R. C. Testes de desempenho de eletrodos: eletrodos de referência. **QUÍMICA NOVA**, p. 512-516, jan. 2000.

SILVA, R. D. C. D. preparação e aplicação de eletrodos de pasta de carbono modificado com ditiocarbonatos para análise de fármacos, São Carlos, p. 19-20, 2006.

SILVA, T. G.; SALLES, O.; PAIXÃO, T. R. L. C. Investigação do uso de eletrodo de carbono vítreo modificado com hexacianoferrato de rutênio para detecção de procaína. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 38, p. 86-89, out. 2015.

SIQUEIRA, A. D. P. C. et al. Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação corantes em amostras de sucos e gelatinas. **Revista Eletrônica da Univar**, v. 1, p. 263 - 269, 2011.

SOUZA, D. D. et al. Voltametria de onda quadrada. segunda parte: aplicações. **QUÍMICA NOVA**, SÃO CARLOS, v. 27, p. 790-797, JUNHO 2004.

SOUZA, D. D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. primeira parte: aspectos teórico. **QUÍMICA NOVA**, SÃO CARLOS, v. 26, p. 81-89, 2003.

SOUZA, R. M. D. Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde, Rio de Janeiro , p. 17-26, Dezembro 2012.

THIAM, A. et al. Electrochemical reactivity of Ponceau 4R (food additive E124) in different electrolytes and batch cells. **Electrochimica Acta**, Barcelona, p. 523–533, May 2015.

WALSH, F. et al. The continued development of reticulated vitreous carbon as a versatile electrode material: Structure, properties and applications. **Electrochimica Acta**, Southampton, p. 566–591, August 2016.

WANG, M. et al. Ultrasensitive and simultaneous determination of the isomers of Amaranth and Ponceau 4R in foods based on new carbon nanotube/polypyrrole composites. **Food Chemistry**, Jiangsu Provinc, p. 873–879, October 2014.

WANG, Z. et al. Trace analysis of Ponceau 4R in soft drinks using differential pulse stripping voltammetry at SWCNTs composite electrodes based on PEDOT:PSS derivatives. **Food Chemistry**, Nanchang, v. 180, p. 186-193, February 2015.

ZHANG, et al. Multi-wall carbon nanotube film-based electrochemical sensor for rapid detection of Ponceau 4R and Allura Red. **Food Chemistry**, Wuhan, p. 909-913, March 2010.

ZHANG, et al. Highly-sensitive and rapid detection of ponceau 4R and tartrazine in drinks using alumina microfibers-based electrochemical sensor. **Food Chemistry**, Wuhan, china, v. 166, p. 352-357, June 2014A.

ZHANG, et al. Simultaneous determination of the isomers of Ponceau 4R and Amaranth using an expanded graphite paste electrode. **Elsevier-Food Chemistry**, Changzhou, p. 11-15, March 2014B.

ZHANG, J. et al. An Electrochemical Sensor for Simultaneous Determination of Ponceau 4R and Tartrazine Based on an Ionic Liquid Modified Expanded Graphite Paste Electrode. **J. Electrochem. Soc.**, v. 161, n. 9, p. 453-457, 2014C.

8 Anexo 1

Corantes identificados pelo INS

Corantes orgânicos sintéticos idênticos aos naturais	
INS	Nome do aditivo alimentar
160 a i	Beta-caroteno (sintético idêntico ao natural)
150 b	Caramelo II – processo sulfito cáustico
150 c	Caramelo III – processo amônia
150 d	Caramelo IV – processo sulfito-amônia
CORANTES ARTIFICIAIS	
INS	NOME DO ADITIVO ALIMENTAR
102	Tartrazina, laca de Al
104	Amarelo de quinoleína
120	Amarelo sunset, amarelo crepúsculo FCF, laca de Al
122	Azorrubina
123	Amaranto, bordeaux S, laca de Al
124	Ponceau 4R, laca de Al
127	Eritrosina, laca de Al
128	Vermelho 2G
129	Vermelho 40, vermelho allura AC, laca de Al
131	Azul patente V, laca de Al
132	Indigotina, carmim de índigo, laca de Al
133	Azul brilhante FCF, laca de Al
143	Verde rápido FCF, verde indelével, fast green FCF, laca de Al
151	Negro brilhante BN, negro PN
155	Marrom HT
180	Litol rubina BK
CORANTES ORGÂNICOS NATURAIS	
INS	NOME DO ADITIVO ALIMENTAR
100 i	Cúrcuma, curcumina
101 i	Riboflavina

101 ii	Riboflavina 5' fosfato de sódio
120	Carmim, cochonilha, ácido carmínico, sais de Na, K, NH4 e Ca
140 i	Clorofila
140 ii	Clorofilina
141 i	Clorofila cúprica
141 ii	Clorofilina cúprica, sais de Na e K
150 a	Caramelo I – simples
153	Carvão vegetal
160 a ii	Carotenos: extratos naturais
160 b	Urucum, bixina, norbixina, annatto extrato e sais de Na e K
160 c	Páprica, capsorubina, capsantina
160 d	Licopeno
160 e	Beta-apo-8'- carotenal
160 f	Ester metílico ou etílico do ácido beta-apo-8' carotenóico
161 b	Luteína
161 g	Cantaxantina
162	Vermelho de beterraba, betanina
163 i	Antocianinas (de frutas e hortaliças)
163 ii	Extrato de casca de uva
	CORANTES INORGÂNICOS
INS	NOME DO ADITIVO ALIMENTAR
171	Dióxido de titânio
172 i	Oxido de ferro, preto
172 ii	Oxido de ferro, vermelho
172 iii	Oxido de ferro, amarelo
173	Alumínio
174	Prata
175	Ouro

Fonte: ANVISA, 11/2006 FRENTE À RESOLUÇÃO N° 44/CNNPA, DE 1977