

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

USO DO SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM  
BATELADA E CDTRODO PARA DETERMINAÇÃO DE  
QUERCETINA

Autora: Aline Silva de Sousa Stratmann  
Orientadora: Dra. Polyana Fernandes Pereira  
Coorientador: Dr. João Carlos Perbone de Souza

Rio Verde – GO  
Fevereiro – 2020

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

USO DO SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM  
BATELADA E CDTRODO PARA DETERMINAÇÃO DE  
QUERCETINA

Autora: Aline Silva de Sousa Stratmann  
Orientadora: Dra. Polyana Fernandes Pereira  
Coorientador: Dr. João Carlos Perbone de Souza

Dissertação apresentada como parte das exigências  
para obtenção do título de MESTRE EM  
AGROQUÍMICA, no programa de Pós-Graduação  
em Agroquímica do Instituto Federal de Educação,  
Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde –  
Área de concentração Agroquímica

Rio Verde – GO  
Fevereiro – 2020

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

Su           Stratmann, Aline Silva de Sousa  
          USO DO SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA  
          E CDTRODO PARA DETERMINAÇÃO DE QUERCETINA / Aline  
          Silva de Sousa Stratmann; orientadora Polyana  
          Fernandes Pereira; co-orientador João Carlos Perbone  
          de Souza. -- Rio Verde, 2020.  
          60 p.

          Dissertação ( em Agroquímica) -- Instituto Federal  
          Goiano, Campus Rio Verde, 2020.

          1. Eletroquímica. 2. Cronoamperometria. 3.  
          Pimenta. 4. Extrato. 5. Eletrodo de Ouro. I.  
          Pereira, Polyana Fernandes, orient. II. de Souza,  
          João Carlos Perbone, co-orient. III. Título.

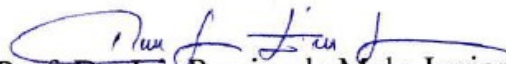
**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**


**USO DO SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO  
EM BATELADA E CDtrodo PARA DETERMINAÇÃO  
DE QUERCETINA**


Autora: Aline Silva de Sousa Stratmann  
Orientadora: Polyana Fernandes Pereira

*TITULAÇÃO:* Mestre em Agroquímica – Área de concentração  
Agroquímica.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2020.

  
Prof. Dr. Jair Pereira de Melo Junior  
*Avaliador externo*  
UniRV / Rio Verde

  
Prof.ª Dr.ª Ana Carolina Ribeiro  
Aguiar  
*Avaliadora interna*  
IF Goiano / Rio Verde

  
Prof.ª Dr.ª Polyana Fernandes Pereira  
*Presidente da Banca*  
IF Goiano / Rio Verde

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, já que me proporcionou a vida, conhecimento e mente sã durante esses longos dois anos de mestrado.

Aos meus pais Edgar e Luciene, que sempre me impulsionaram no caminho do conhecimento tanto pessoal quanto científico, sendo minha base e meu apoio nos momentos mais difíceis. Toda conquista minha são méritos de vocês.

Ao meu irmão Lucas, que sempre levarei comigo, apesar de não está presente nesta Terra, estará sempre presente em meu coração.

Ao meu amor, companheiro e esposo Gerson, que me apoiou com todo amor e carinho durante essa jornada, independentemente do quão difícil fossem os momentos. Juntos sei que podemos ir mais longe.

À minha querida orientadora Polyana, por todo conhecimento e ajuda que a mim foram transmitidos, com carinho e muita paciência. Espero ter uma amiga para levar para vida toda.

Às minhas pessoas, Vanessa, Fernanda, Viviane e Samara, que apesar dos encontros esporádicos, dividiram comigo os melhores anos da minha vida, com vocês com certeza meus dias são melhores.

À minha querida e antiga amiga Larissa, que me ajudou desde o início até o presente momento, em tudo que eu necessitei, em qualquer momento, lugar, ou dia, sua reciprocidade e amizade levarei para sempre comigo.

Às queridas professoras Eloisa e Cássia, que apesar de não me orientarem não pouparam esforços para sanarem minhas dúvidas e me auxiliarem neste trajeto, a vocês tenho imenso carinho.

Aos colegas integrantes do LaME, Franciane, Mariana, Bárbara, Fernanda, Paula, Paulo César, Lorena e Lhais, vocês não sabem o quanto foi inesquecíveis os momentos que passamos juntos, foram vocês juntamente com a equipe do LaPN que fizeram do IF Goiano minha segunda casa.

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Aline Silva de Sousa Stratmann, natural de Rio Verde – Goiás, nascida em 28 de outubro de 1995, filha de Luciene Oliveira Silva de Sousa e Edgar Flauzino de Sousa, irmã de Lucas Flauzino de Sousa e esposa de Gerson Stratmann. Em 2017, formou-se em Licenciatura em Química, pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde. Durante a graduação realizou diversas atividades como monitora de ensino de química analítica, monitora de laboratório de microscopia vegetal, estagiária de indústria alimentícia, pesquisadora científica, voluntária e de docência. Em 2018, no mesmo instituto iniciou o mestrado em Agroquímica, trabalhando com a determinação eletroquímica de quercetina em amostras de extrato de pimenta.

## ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO.....	17
1.1.	Considerações gerais.....	17
1.1.1.	Quercetina.....	18
1.1.2.	Metodologias disponíveis na literatura para determinação de quercetina.....	19
1.2.	CDtrodo de ouro.....	21
1.3.	Análise por injeção em batelada.....	22
1.4.	Detecção amperométrica.....	24
1.5.	Voltametria cíclica.....	25
1.6.	Eletrodos de referência e auxiliar.....	27
1.6.1.	Eletrodo de referência prata/cloreto de prata.....	27
1.6.2.	Eletrodo auxiliar (contra-eletrodo).....	28
1.7.	Célula eletroquímica.....	29
1.8.	Procedimentos usados no cálculo de alguns parâmetros analíticos.....	30
1.8.1.	Limite de Detecção (LD).....	30
1.8.2.	Limite de Quantificação (LQ).....	30
1.8.3.	Repetibilidade.....	31
1.8.4.	Linearidade.....	31
1.8.5.	Exatidão.....	32
2.	REFERÊNCIAS.....	33
3.	OBJETIVOS.....	43
4.	ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	43
	CAPÍTULO I.....	43
4.1.	Abstract.....	43
4.2.	Palavras-chave.....	44
4.3.	Introdução.....	44
4.4.	Materiais e métodos.....	46
4.4.1.	Reagentes, soluções e amostras.....	46
4.4.2.	Instrumentação.....	46
4.4.3.	Preparo do Eletrodo de Trabalho (CDtrodo).....	47
4.4.4.	Caracterização dos eletrodos.....	47
4.4.5.	Estudo de pH e potencial ótimo.....	48

4.5.	Resultados e discussões .....	49
4.6.	Conclusões .....	54
4.7.	Declaração de interesse concorrente.....	55
4.8.	Agradecimentos .....	55
4.9.	Referências .....	55
5.	CONCLUSÃO GERAL .....	59



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Metodologias para determinação de quercetina.....	19
Tabela 1. Características analíticas do método BIA-CA para quercetina.....	53
Tabela 2. Comparação entre as características analíticas do método proposto e métodos analíticos anteriores para a determinação de quercetina. ....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química em traços e bolas da Quercetina em 3D.....	18
Figura 2. Etapas de operação de um sistema BIA com detecção eletroquímica e respectivo pico transiente obtido. (A) antes da injeção; (B) durante a injeção; (C) final da injeção; (D) dispersão e (E) equilíbrio final .....	24
Figura 3. (A) Sinal de excitação em voltametria cíclica. (B) Sinal gerado de voltametria cíclica em solução tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0, com Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>4-</sup> 1x10 <sup>-2</sup> molL <sup>-1</sup> .....	27
Figura 4. (A) célula com a tampa e os eletrodos de trabalho (ET), referência (ER) e auxiliar (EA). (B) célula sem tampa, exibindo a área de trabalho do eletrodo. ....	29
Figura 1. (a) Regiões da camada de ouro do disco compacto gravável: (1) borda interna, (2) centro, (3) borda externa. (b) Etapas na construção do eletrodo de ouro usando o CD de gravação (CDtrodos); (I) CD-R antes do tratamento, (II) remoção da camada polimérica CD-R, após a adição de HNO <sub>3</sub> e (III) fatia CD-R sem a camada de polímero e lavado com água para remover o HNO <sub>3</sub> .....	47
Figura 2. Mapa composicional da amostra de CDtrodo de ouro (A) e individual da amostra (B). (C) espectro EDS “do inglês Energy Dispersive X – Ray Spectroscopy” dos elementos constituintes das partículas correspondentes à amostra de CDtrodo. ....	48
Figura 3. Voltamogramas cíclicos realizados em meio de tampão borato (0,004 mol L <sup>-1</sup> ; pH = 10,0) e etanol (50:50) antes (---) e após a adição de 50 mg L <sup>-1</sup> de quercetina (—). Velocidade de varredura = 100 mV s <sup>-1</sup> ; Incremento de potencial = 5 mV. (A) pH 2, (B) pH 4, (C) pH 6, (D) pH 8 e (E) pH 10. ....	50
Figura 4. Mecanismo de eletrooxidação da quercetina em solução hidroetanólica. Fonte: Timbola et al., (2006).....	51
Figura 5. Amperogramas obtidos de injeções sucessivas (n = 10) de soluções contendo 20 mg L <sup>-1</sup> (a) e 90 mg L <sup>-1</sup> (b), respectivamente. ....	51
Figura 6. (A) BIA-CA Amperogramas obtidos a partir de injeções de uma amostra de extrato de pimenta devidamente diluída (a) e seis soluções padrão contendo concentrações decrescente de quercetina (a – f: 27 – 72 mg L <sup>-1</sup> ). (B) Curva analítica crescente para a Quercetina. (C) Curva analítica decrescente para a Quercetina. ....	52

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

BIA	Análise por Injeção em Batelada
DA	Doença de Alzheimer
CCD	Charge Coupled Device
LD	Limite de Detecção
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
R <sup>2</sup>	Coefficiente de Determinação
DPR	Desvio Padrão Relativo
V	Volt
MCPE	Micro – Cloud Point Extraction
ng mL <sup>-1</sup>	Nanogramas por Mililitro
%	Porcentagem
μM	Micromol
CD	Disco Gravável
CD-R	Disco Compacto Gravável
CD-RW	Disco Compacto Regravável
nm	Nanômetro
cm <sup>2</sup>	Centímetro Quadrado
mL	Mililitro
h <sup>-1</sup>	Por Hora
PAD	Pulsed Amperometric Detection
MPA	Multiple Pulse Amperometry
E	Potencial
Sat	Saturado
mol L <sup>-1</sup>	Mol por Litro
pH	Potencial Hidrogeniônico
s	Sólido
CA	Cronoamperometria
ET	Eletrodo de Trabalho
ER	Eletrodo de Referência
EA	Eletrodo Auxiliar
DPb	Desvio Padrão do Branco
s	Sensibilidade
$\bar{x}$	Média
DPx	Desvio Padrão da Concentração
y	Resposta Medida
a	Coefficiente Linear
b	Coefficiente Angular
x	Concentração
mV s <sup>-1</sup>	Milivolt por Segundo
μg mL <sup>-1</sup>	Micrograma por Mililitro
mg L <sup>-1</sup>	Miligramas por Litro
μL	Microlitro
cm	Centímetro
ms	Milissegundo
μA	Microampère
CRTI	Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação

EDS	Espectroscopia por Energia Dispersiva
i	Corrente
±	Mais ou Menos
nc	Não Consta

## RESUMO

STRATMANN, ALINE SILVA DE SOUSA. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, fevereiro de 2020. **Uso do sistema de Análise por Injeção em Batelada e CDtrodo para determinação de Quercetina.** Orientadora: Dra. Polyana Fernandes Pereira. Coorientador: João Carlos Perbone de Souza.

A quercetina pertencente ao grupo dos flavonoides possui em sua estrutura o grupo catecol, que contém propriedades antioxidantes importante para o organismo de seres vivos. Desta forma, este antioxidante ganhou destaque em pesquisas farmacêuticas e medicinais justamente pela sua facilidade em doar elétrons para outras moléculas, principalmente as que atuam no corpo humano, evitando diversas doenças como câncer, inflamações, citotoxicidade dentre outras. A quercetina em sua forma natural e pura possui coloração amarelada muito intensa, e contribui com a pigmentação na maioria dos alimentos em que é encontrada. Na pimenta-biquinho ela pode ser extraída usando o etanol como solvente por causa de sua propriedade polar. Atualmente, estudos comprovam a eficácia de extratos de plantas na ação antifúngica e antimicrobiológica, é importante também quantificar as propriedades antioxidantes do mesmo, principalmente para o uso medicinal em seres vivos. O trabalho descrito aqui envolve o estudo e desenvolvimento de uma técnica eletroquímica usando a Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção cronoamperométrica e CDtrodo de ouro como eletrodo de trabalho. Esta técnica foi estudada para propor uma nova metodologia de determinação e quantificação de quercetina em extratos etanólicos de pimenta *var.* biquinho (*Capsicum Chinense*). As análises eletroquímicas foram realizadas com tampão Britton Robinson pH 10, como eletrólito de suporte e potencial igual a +1,0 V. Todas as análises foram realizadas sem agitação e com o potenciostato  $\mu$ Auto Lab Tipo III. Para as injeções simultâneas, utilizou-se a micropipeta eletrônica. Os experimentos realizados obtiveram boa estabilidade (DPR = 3,25% e 7,53%), linearidade (R = 0,9893), alta frequência analítica ( $\sim 150$  injeções  $h^{-1}$ ) e com limite de detecção na ordem de 5,25 ng mL<sup>-1</sup>. Esses valores se comparado aos outros trabalhos demonstrou que a metodologia proposta aqui pode ser usada

como alternativa simples e de baixo custo, para a determinação de quercetina em extratos de pimenta.

**PALAVRAS-CHAVE:** Eletroquímica, cronoamperometria, pimenta, extrato, eletrodo de ouro

## ABSTRACT

STRATMANN, ALINE SILVA DE SOUSA. Goiano Federal Institute – Campus Rio Verde – GO, february 2020. **Use of the Batch Injection Analysis and CDtrode system to determine Quercetin.** Advisor: Dr. Polyana Fernandes Pereira. Co-advisor: Dr. João Carlos Perbone de Souza.

Quercetin belonging to the group of flavonoids and has in its structure the catechol group, thus, it contains antioxidant properties important for living beings' organism. Thus, this antioxidant has gained prominence in pharmaceutical and medicinal research precisely because of its ease in donating electrons to other molecules, especially those that act in the human body, preventing various diseases such as cancer, inflammation, cytotoxicity, among others. Quercetin in its natural and pure form has a very intense yellowish color, then contributes to pigmentation in most foods in which it is found. In the beak pepper it can be extracted using ethanol as a solvent due to its polar property. As currently studies prove the efficacy of plant extracts in their antifungal and antimicrobiological action, it is also important to quantify its antioxidant properties, especially for medicinal use in living beings. The work described here involves the study and development of an electrochemical technique using Batch Injection Analysis (BIA) with chronoamperometric detection and gold CD electrode as the working electrode. This technique was studied to propose a new methodology for determining and quantifying quercetin in ethanolic extracts of pepper var. beak (*CapsicumChinense*). Electrochemical analyzes were performed with Britton Robinson pH 10 buffer, as support electrolyte and potential equal to +1.0 V. All analyzes were performed without agitation and with the potentiostat  $\mu$ Auto Lab Type III. For simultaneous injections, the electronic micropipette was used. The experiments performed obtained good stability (DPR = 3.25% and 7.53%), linearity ( $R = 0.9893$ ), high analytical frequency ( $\sim 150$  injections  $h^{-1}$ ) and with detection limit in the order of  $5.25 \text{ ng mL}^{-1}$ . These values, when compared to other studies, demonstrated that the methodology proposed here can be used as a simple and low-cost alternative for the quercetin determination in pepper extracts.

**KEYWORD:** Electrochemistry, chronoamperometry, pepper, extract, gold electrode.



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Considerações gerais

O controle de qualidade dos produtos como cosméticos, medicamentos, alimentos e agroquímicos em diversos setores tais como medicinal, ambiental, cosmética, alimentícia e laboratoriais são baseados em espectroscopia (Holm-Nielsen et al.2007), (Morel et al.,2004), (Pind et al. 2003), (Kana et al.,2013) e (Ward et al., 2011), cromatografia gasosa (Ward et al., 2011) e titulação potenciométrica (Varmuza & Filzmoser, 2009). No entanto, um número restrito de laboratórios possuem equipamentos de cromatografia ou espectroscopia, o que se deve, principalmente, ao seu alto custo de aquisição, operação e manutenção.

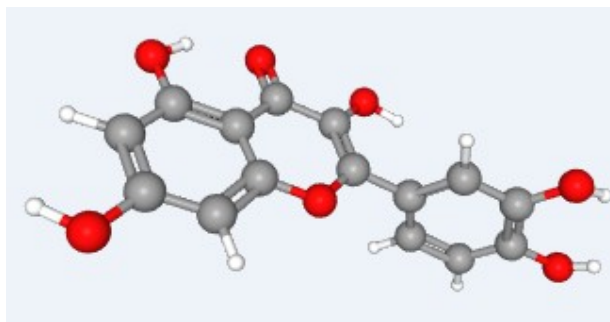
Nesse contexto, o desenvolvimento de metodologias de análises simples, rápidas, de baixo custo e com garantia da qualidade dos resultados são de grande importância. Uma alternativa é o uso de métodos eletroquímicos, uma vez que em sua maioria são mais rápidos e de manuseio e aplicação simples. Dentre as técnicas contidas nos métodos eletroquímicos podem ser citadas a voltametria e a amperometria. A voltametria pode ser realizada de diferentes formas como a varredura linear, de onda quadrada, pulso diferencial (polarografia) e triangular (cíclica) (Robledo et al., 2019).

A amperometria possui três formas de ser aplicada em análises, a convencional (com apenas um potencial), pulsada (com mais de um pulso, porém apenas um amperograma) e de múltiplos pulsos (com até dez pulsos e amperogramas). Entretanto, é importante afirmar que medições que envolvem a amperometria realizadas em potenciais fixados simplificam o método analítico se comparado a voltametria, especialmente se empregada com a Análise por Injeção em Batelada (BIA) (Dornellas et al., 2015). Metodologias de controle de qualidade usando Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção amperométrica apresentam características apropriadas para o desenvolvimento de métodos de análise com as seguintes características: portabilidade (implementável em laboratórios com pouca infraestrutura), baixo custo, elevada seletividade e sensibilidade nas determinações, elevada frequência analítica, consumo mínimo de reagentes e amostras e, portanto, geração de resíduos em menor volume. Assim, o emprego de sistemas BIA pode se tornar promissora ferramenta para uso em diversos setores. (Pereira, 2016)

Neste projeto a espécie estudada é a quercetina, que se encaixa na classe dos flavonoides, dispondo então de propriedade antioxidante e por isso possui papel significativo na medicina. (Reay et al., 2019).

### 1.1.1. Quercetina

A quercetina ( $C_{15}H_{10}O_7$ ), cuja estrutura química pode ser observada na Figura 1, pertence ao grupo dos flavonoides e pode ser facilmente extraída de diversas plantas e frutos comestíveis como da espécie *Capsicum*, mais especificamente da *Capsicum chinense* (*C. chinense*), que é mais popularmente conhecida como pimenta-biquinho, nativa do território brasileiro (Aguiar et al., 2019). Este antioxidante é encontrado purificado e a 25°C na forma de pó amarelado. Possui ponto de fusão de 316,5°C e peso molecular de 338,26 g mol<sup>-1</sup>



**Figura 1.** Estrutura química em traços e bolas da Quercetina em 3D. Fonte: National Center for Biotechnology Information (2019)

Por ser um flavonoide, a quercetina possui propriedade antioxidante e forte ação quelante, que são resultados de grupos catecol em um anel e grupo hidroxila livre (OH<sup>-</sup>) em outro. Desta forma, apresenta diversas características medicinais como inibidor de enzimas digestivas de carboidratos (Lin et al., 2019), atividade antioxidante, antimicrobiana e citotóxica, (Milanezi et al., 2019), anti-inflamatória (Hatahet et al., 2017), antiproliferativa, antiangiogênica (Araújo et al., 2017 e Granato et al., 2017), efeitos neuroprotetores (Guss et al., 2017), efeito hepatoprotetor (Miltonprabu et al.; 2017) e anti envelhecimento (Chondrogiannietal., 2010).

Um recurso também inovador possibilitado pela quercetina segundo Zaplatic e colaboradores (2019) é na melhoria de sinais celulares e moleculares na regulação das funções fisiológicas normais, já que a quercetina tem a capacidade de combater efeitos nocivos

causados por espécies reativas a oxigênio, que desempenham função importante no desenvolvimento da doença de Alzheimer (DA).

### 1.1.2. Metodologias disponíveis na literatura para determinação de quercetina

Na literatura é possível listar inúmeros artigos envolvendo a determinação e quantificação da quercetina, deste modo, foram listados abaixo os trabalhos mais atuais ou que tiveram maior relevância para o presente trabalho.

A Tabela 1 lista as metodologias que enfocam a determinação de quercetina.

**Tabela 1.** Metodologias para determinação de quercetina.

<b>MÉTODO ANALÍTICO</b>	<b>REFERÊNCIA</b>
Espectroscopia Raman	Numata& Tanaka, 2011
Cromatografia Líquida de Alta Performance	Raja et al.; 2014
Voltametria de Adsorção	Abdullah et al.; 2018
Métodos de Polímeros Impressos Molecularmente	Rahimi et al.; 2019
Voltametria Cíclica e de Pulso Diferencial	Sarithaet al.; 2019
Microextração líquido-líquido dispersivo-iônico	Altunay et al.; 2019
Voltametria Cíclica	Takahashi et al.; 2019
Extração de ponto de micronuvem	Khani et al.; 2019
Voltametria Cíclica e de Onda Quadrada	Ying Ji, et al.; 2020

A espectroscopia Raman foi proposta para a quantificação de quercetina por Numata e Tanaka em 2011. Os espectros foram medidos com laser de íon Ar a 488 nm. A lente usada foi de 20 vezes. O detector usado foi o CCD. O padrão interno da banda Raman escolhido foi de etanol e metanol. Deste modo a curva de calibração selecionada foi de  $y = 9,005 x$  com  $R^2$  de 0,9999 em etanol e metanol. O limite de detecção (LD) foi de  $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

O uso da cromatografia líquida de alta performance (CLAE) em fase reversa com multidetecção por espectroscopia de absorção molecular UV-Vis, foi proposto por Raja e colaboradores (2014). Nesse estudo o dimilsulfóxido foi usado como solvente de extração e o gradiente selecionado para a separação foi o de metanol (as separações foram realizadas por gradiente de eluição usando fase aquosa consistindo em 0,1% de ácido fórmico (solvente A) e metanol (solvente B), com tempo de retenção de 0 a 35 minutos). A faixa linear obtida foi de 0,5 a 20  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , com LD de 0,1  $\text{mg L}^{-1}$ .

Abdullah e colaboradores (2018) propuseram uma metodologia utilizando a voltametria de adsorção por tira em um eletrodo de trabalho de diamante dopado com boro, já tratado catodicamente. Através de análise por onda quadrada, uma faixa linear foi adotada: 0,5 a 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ( $R = 0,997$ ) com LD de 0,132  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

A determinação de quercetina utilizando polímero impresso molecularmente, foi desenvolvida para o uso em cromatógrafo líquido de alta eficiência. O polímero foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura por transformada de Fourier e análise gravimétrica. O método proposto obteve linearidade em faixa de 0,05 a 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  com  $R^2 = 0,9998$ . LD foi de 9,94  $\text{ng mL}^{-1}$ . Para o valor de desvio padrão relativo (DPR) ( $n = 6$ ) foi de 2,3 a 5,0%.

Saritha e colaboradores em 2019 propuseram a síntese de nanopartículas de óxido de zinco e nanopartículas de carbono, para construir um eletrodo de trabalho com base de pasta de carbono modificado. Para este trabalho o LD e o limite de quantificação (LQ) encontrados foram de 0,04 e 0,13  $\mu\text{mol L}^{-1}$  respectivamente. O DPR de 1,76% ( $n = 10$ ). A faixa dinâmica linear foi obtida entre 0,166 e 3,63  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

O objetivo do estudo de Altunay e colaboradores (2019) foi desenvolver um método de microextração líquido-líquido dispersivo-iônico assistido por vórtice. Após as devidas otimizações a faixa de calibração escolhida foi de 35 a 750  $\mu\text{g L}^{-1}$  com LD de 10,2  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Os valores de recuperação e DPR foram respectivamente na faixa de 94 a 104% e 2,5 a 4,2%.

O estudo eletroquímico desenvolvido por Takahashi e colaboradores (2019), tem como eletrodo de trabalho nanotubo de carbono. A voltametria cíclica realizada revelou correntes de picos diversas e específicas: oxidação em +0,37; +0,45 e +0,78 V. A faixa linear de trabalho escolhida foi de 0,18 a 5,0  $\text{mg dL}^{-1}$  com limite de detecção no valor de 0,0018 a

0,0030 mg dL<sup>-1</sup>.

No novo método de quantificação proposto por Khani e colaboradores (2019), tem como base um método verde, denominado em inglês como “micro-cloud point extraction (MCPE)”, que traduzido é Extração de ponto de micronuvem. Nesse método alguns microlitros da fase micelar são suficientes para determinação da quercetina. Sob condição otimizada, a faixa linear de trabalho escolhida foi de 10 a 100 ng mL<sup>-1</sup> (R = 0,999) e limite de detecção em 2,2 ng mL<sup>-1</sup>. O desvio padrão relativo de 2,8% para uma solução padrão de 30 ng mL<sup>-1</sup> (n=3).

No estudo eletroquímico de voltametria cíclica e onda quadrada realizada por Ying Ji e colaboradores (2020), um eletrodo de pasta de microesferas de carbono vítreo dopado com nitrogênio foi usado como eletrodo de trabalho. Segundo o estudo, o eletrodo modificado exibiu melhor reação eletrocatalítica em relação a quercetina. Sob as condições otimizadas, duas faixas lineares foram escolhidas de 0,002 a 1,1 μM e 0,01 a 10 μM, com limite de detecção de 1 nmol L<sup>-1</sup>. (R = 0,999)

Apesar das diversas metodologias para a determinação de quercetina, muitas delas como a cromatografia, espectroscopia, microextração e extração demandam de um tempo maior de análise se comparado a análise por injeção em batelada e um conhecimento técnico para uso e manuseio do equipamento, além da compreensão e interpretação dos dados. E a análise BIA acoplada à detecção amperométrica simplifica o método se comparado a metodologias que incluem a voltametria. Desta forma, torna-se um método favorável para ser usado na determinação de quercetina em extratos de pimenta.

## 1.2. CDtrodo de ouro

Discos compactos (CD) possuem diferentes camadas em sua fabricação dependendo do tipo de CD. Existem em geral três tipos, o disco compacto (CD), discos compactos graváveis (CD-R) e discos compactos regraváveis (CD-RW). Os três tipos possuem filmes protetores em suas camadas, camada refletora (ouro, prata ou alumínio) e substrato, o CD-R possui ainda camada fotodegradável e o CD-RW, além das mencionadas, possui filme de metal, filme dielétrico e o ponto de gravação. (Richter, 2001)

O eletrodo de ouro proveniente da camada refletora, mais conhecido como CDtrodo,

têm sido amplamente usado para determinação de metais tais como prata (Stuart et al., 2014), chumbo (Richter et al., 2003), cobre (Richter, et al., 2001), mercúrio (Richter et al., 2000) e doenças como a doença de Chagas (Foguel et al., 2011).

Segundo artigos científicos o CD trocado de ouro começou a ser estudado e fabricado em 2000 (Angnes et al., 2000), entretanto já se usavam eletrodos de ouro comercial, já que este metal apresenta ótima condutibilidade, porém com o custo maior de aquisição. Desta forma o eletrodo produzido a partir de CD's foi pensado como forma alternativa e de baixo custo para eletrodos de ouro comerciais. (Richter, 2001)

A espessura da camada de ouro nos CD's são em torno de 50 a 100 nm, o que possibilita a construção de nanoeletrodos com áreas na ordem de  $10^{-6}$  cm<sup>2</sup>. A superfície simétrica e nivelada permite também o recorte de eletrodos em tamanho convencional com até 100 cm<sup>2</sup> (área total da camada metálica dos discos graváveis) para análises eletroquímicas com injeções em batelada ou em fluxo. (Angnes et al., 2000)

### **1.3. Análise por injeção em batelada**

A análise por Injeção em Batelada (BIA, do inglês “Batch Injection Analysis”) é uma metodologia de análise que pode ser usada no controle de qualidade de diversos produtos conforme medicamentos como omeprazol (Stefano et al., 2017), captopril e hidroclorotiazida (Gimenes et al., 2015), combustíveis como o bioetanol (Tormin et al., 2015) e gás óleo (Pereira et al., 2012), alimentos como suco de laranja (Hernández-Santos et al., 2020) e suplementos alimentares (Pereira et al., 2016), além de amostras de interesse ambiental como análise de água (Pacheco et al., 2011) e metais pesados (Brett et al., 2000), entre outras. O sistema de análise BIA com detecção eletroquímica é de constituição simples e portátil (instalável em laboratório com pouca infraestrutura), e necessita três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) e de um potenciostato conectado ao computador. (Ribeiro et al.; 2019)

Esse método foi divulgado pela primeira vez em 1991 por Wang e Taha (Wang & Taha, 1991) e é baseado na injeção de pequenos volumes do analito na superfície de um eletrodo de trabalho fixado a uma pequena distância da ponteira de uma pipeta em configuração do tipo wall-jet (sinais de resposta transientes). As adições são feitas em uma célula eletroquímica (célula BIA) contendo grande volume de eletrólito suporte inerte (Tormin, 2012). O sistema é simples e de fácil operação, podendo se tornar uma alternativa bastante viável para

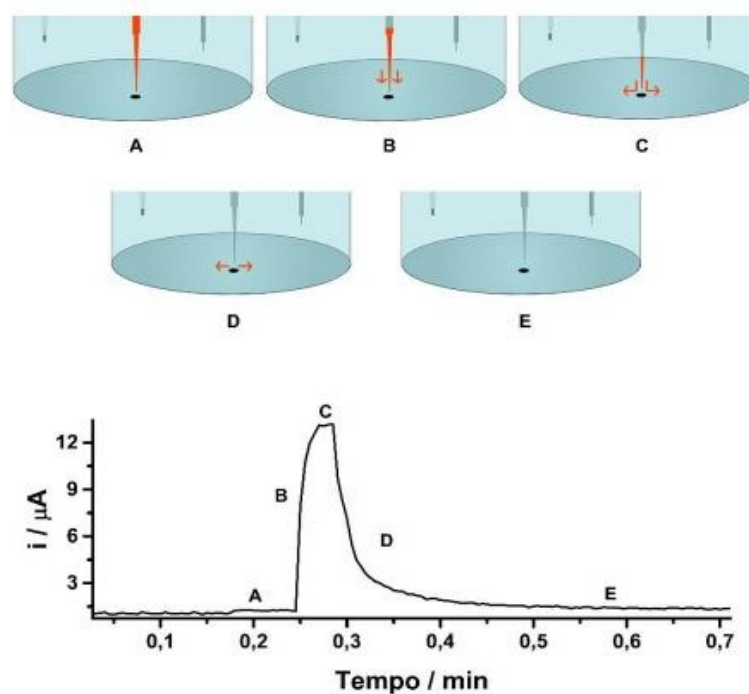
detecção de espécies orgânicas.

A técnica BIA pode ser vantajosa no controle de qualidade já que realiza ensaios repetitivos a taxa de 60 a 250 amostras h<sup>-1</sup> e com precisão de 1 a 3% (desvio padrão relativo), e combinados a falta de efeitos de memória (repetibilidade) gera feitos surpreendentes como a possibilidade de análise de amostras muito diluídas em eletrólito, cerca de 10.000 vezes em células de 100 a 500 mL. (Wang, 1991)

Este tipo de análise se baseia na detecção amperométrica que apresenta características apropriadas para o desenvolvimento de métodos analíticos com as seguintes características: baixo custo, elevada sensibilidade nas determinações, elevada frequência analítica, consumo mínimo de reagentes e amostras, gerando assim, menor volume de resíduos. (Ribeiro et al., 2019)

A célula BIA, assim como qualquer outra célula eletroquímica, é constituída de três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) imersos em solução contendo analito (amostra ou espécie analisada) e eletrólito de suporte (reduz efeitos de migração e resistência da solução). O eletrodo de trabalho tem um potencial que varia linearmente, tendo sempre seu valor comparado ao eletrodo de referência, já que este último mantém um potencial constante durante toda a análise. O terceiro eletrodo é o auxiliar que, geralmente, é constituído de platina e permite a passagem decorrente. (Tormin, 2016)

Na figura 2, abaixo, é exemplificado como acontece o sinal de resposta (amperograma), quando o analito é injetado na superfície do eletrodo de trabalho durante a análise eletroquímica.



**Figura 2.** Etapas de operação de um sistema BIA com detecção eletroquímica e respectivo pico transiente obtido. (A) antes da injeção; (B) durante a injeção; (C) final da injeção; (D) dispersão e (E) equilíbrio final. Fonte: Pereira (2016).

Como é exemplificado na figura 2, no início da análise (A), antes da injeção da amostra ou analito na superfície do eletrodo há uma corrente não faradaica, ou seja, corrente residual indicando, por exemplo, o acúmulo de carga na dupla camada elétrica. Quando ocorre a injeção (B) se inicia o sinal da corrente faradaica, que é a corrente produzida por processos de oxirredução na célula eletroquímica, até o pico máximo de corrente (C) quando toda espécie eletroativa injetada reage através do processo redox do analito. Como a corrente é proporcional com a concentração de amostra, esta decai (D), já que toda concentração da espécie injetada vai sendo consumida, diminuindo então sua concentração, até que a corrente volta ao valor de corrente não faradaica (E), proveniente do sistema. (Pereira, 2016)

Para que ocorram as injeções durante a análise pode ser usado uma micropipeta eletrônica que apresenta maior precisão de volume injetado, e velocidade de injeção pode ser programada eletronicamente. Entretanto, se o laboratório não dispuser de pipeta eletrônica cujo custo é elevado, pode ser adotada também uma micropipeta convencional. (Tormin, 2016)

#### 1.4. Detecção amperométrica



A amperometria é uma técnica bastante conhecida na área dos biossensores, particularmente na detecção de glicose (Rinaldi & Carballo, 2016). O fundamento deste tipo de método eletroquímico está baseado na medida da corrente elétrica gerada entre os dois eletrodos que participam da reação de eletrólise. Como o objetivo em geral da técnica é determinar a concentração do analito, esta pode ser relacionada proporcionalmente a corrente gerada. (Harris, 2012)

Existem três tipos de análises amperométricas: convencional, pulsada e de múltiplos pulsos. Na amperometria convencional, o sensor amperométrico (eletrodo), pode ser visto como sensor voltamétrico, já que este se mantém com potencial constante em função do tempo, permitindo reações de oxirredução na interface do eletrodo com o meio eletrolítico. Apesar da alta sensibilidade da amperometria convencional, esta apresenta a capacidade de adsorver alguns subprodutos ou impurezas na superfície do eletrodo de trabalho. Portanto, uma forma de contornar este problema é a utilização das amperometrias que implementam a convencional, para este caso são usadas a pulsada (PAD) “Pulsed Amperometric Detection” e a amperometria de múltiplos pulsos (MPA) “Multiple Pulse Amperometry”. (Pereira,2016)

Na amperometria PAD o número de potenciais que podem ser aplicados varia na faixa de 2 a 6, contudo a corrente se limita a um único pulso de potencial, o que não acontece na MPA, já que permite a aplicação de até 10 pulsos de potenciais, possibilitando a obtenção de corrente em função do tempo para cada pulso de potencial. (Pereira, 2016) É importante também, segundo Santos e colaboradores (2011) em muitos casos, o uso de três ou mais potenciais para realizar além da limpeza eletroquímica, a ativação do eletrodo de trabalho, gerando assim ótima estabilidade do sinal eletroquímico ao longo da análise.

Desta forma, a amperometria de múltiplos pulsos, como apresenta possibilidades na aplicação de vários pulsos de potenciais na superfície do eletrodo, gerando aquisição simultânea de amperogramas, é a mais seletiva dentro os métodos eletroquímicos. (Alecrim et al.,2016)

## **1.5. Voltametria cíclica**

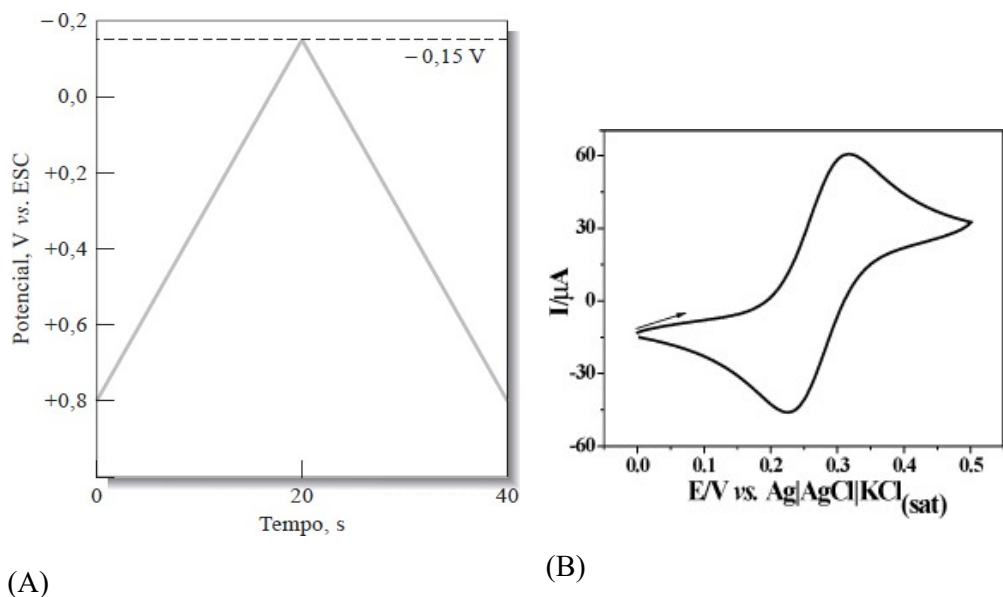
No campo da eletroanalítica, existem métodos eletroanalíticos baseados na medida de corrente em função de valor do potencial aplicado, a esses métodos dá-se o nome de voltamétricos. Para que ocorra este tipo de medida é necessário que o eletrodo de trabalho

sendo ele de metal inerte como ouro, prata e platina ou outros materiais como grafite pirolítico, diamante ou carbono vítreo, seja polarizado, já que é nele que o analito é oxidado ou reduzido. Com o objetivo de polarizar o eletrodo, é ideal que a área superficial do eletrodo seja consideravelmente pequena ( $1\text{cm}^2$ ), facilitando assim o processo de polarização. (Skoog et al., 2012)

Como já citado, este tipo de análise dependerá da medida de corrente da célula eletroquímica, quando o sistema está completamente polarizado, deste modo, a taxa de oxidação ou redução é limitada pela taxa de transferência de massa do analito para superfície do eletrodo, podendo ser por convecção, difusão ou migração. Quando o sistema de análise está sob agitação, por exemplo, a frequência de análise é aumentada. (Skoog et al., 2012)

Existem tipos diferentes de voltametria, entre elas está a polarografia, voltametria hidrodinâmica, de onda quadrada, de pulso diferencial, e voltametria cíclica. Para cada tipo de voltametria, existe um tipo de sinal de excitação, que é a voltagem do eletrodo de trabalho que varia enquanto a resposta de corrente é medida. (Skoog et al., 2012)

Para este trabalho foi utilizado a voltametria cíclica a fim de identificar o pH mais apropriado para trabalhar com a quercetina. Abaixo, na figura 3(A) é exemplificado a forma de onda da voltametria cíclica, o potencial varia do valor positivo  $+0,8\text{ V}$ , que é o valor inicial aplicado, até  $-0,15\text{ V}$  que é o potencial final, neste ponto ocorre a reversão do sinal voltando para o valor inicial de  $+0,8\text{ V}$ , gerando uma onda triangular. Na figura 3(B) está o tipo de sinal gerado como resposta, em que ocorre a variação de corrente de  $60\text{ }\mu\text{A}$  a aproximadamente  $-45\text{ }\mu\text{A}$ , na faixa de trabalho entre  $0$  a  $0,5\text{ V}$ . Neste voltamograma ocorre a oxidação e a redução do hexacianoferrato, mostrando um processo eletroquímico reversível:



**Figura 3.** (A) Sinal de excitação em voltametria cíclica. (B) Sinal gerado de voltametria cíclica em solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0, com  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} 1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . Fonte: Skoog, 2012.

Nos métodos voltamétricos o potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência é mantido e controlado, desta forma a corrente de eletrólise, ou seja, a faradaica flui entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo. Quando a corrente em microampères é medida, forma-se o voltamograma, gráfico da corrente em função do potencial como mostra na figura 3(B). (Skoog et al., 2012)

A voltametria cíclica apresenta ampla aplicabilidade em estudos de oxirreduções, permitindo espécies serem detectadas (se estas doarem ou receberem elétrons), na superfície do eletrodo com a formação de produtos.

## 1.6. Eletrodos de referência e auxiliar

### 1.6.1. Eletrodo de referência prata/cloreto de prata

O eletrodo de prata/cloreto de prata é um fio de prata ou platina recoberto com prata, em que é depositado por eletrólise uma fina camada de cloreto de prata e mergulhado em solução de concentração conhecida de cloreto de potássio podendo ser de 1 e  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . O fio com a eletrodeposição deve ficar na solução de cloreto de potássio para que mantenha seu potencial controlado pela atividade dos íons cloreto na solução de KCl. (Vogel, 2011)

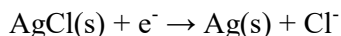
Sensores eletroquímicos ou eletrodos devem interagir com analito com alta precisão,

e esta precisão depende da estabilidade do eletrodo de referência. O eletrodo de referência de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl), é um dos tipos mais usados, já que o eletrodo saturado de calomelano (HgCl<sub>2</sub>), teve seu uso reduzido por diversos fatores, entre eles a toxicidade do mercúrio. (Safari, et al.,2011)

Atualmente, há diversos estudos na área eletrodos de referência miniaturizados com alta estabilidade e vida útil longa, que possibilita redução no custo de materiais para construção de eletrodos. Assim sendo,a microfabricação deste tipo de eletrodo de referência reduz a área da interface eletroquímica que possui relação direta com a estabilidade do eletrodo e o volume de prata e cloreto de prata, que está relacionado a durabilidade do eletrodo. (Safari, et al.,2011)

O eletrodo de prata/cloreto de prata pode ser representado da seguinte maneira:

Ag|AgCl(saturado), KCl(saturado)|| A semi reação é



Para este eletrodo de referência, segundo Skoog e colaboradores (2012) o potencial deverá ser 0,199 V a 25°C se comparado ao eletrodo padrão de hidrogênio.

### **1.6.2. Eletrodo auxiliar (contra-eletrodo)**

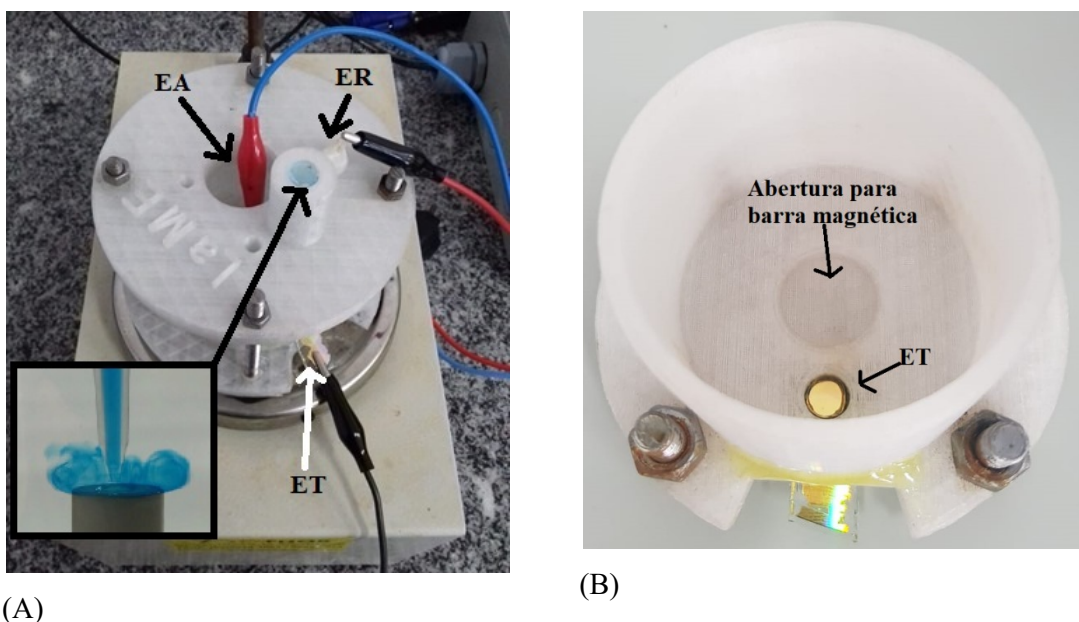
Uma vez que na célula eletroquímica, a corrente flui entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar, é de extrema importância em uma análise amperométrica, que se tenha três eletrodos, de trabalho, auxiliar e de referência, para que a corrente de eletrólise flua para o eletrodo auxiliar e jamais para o de referência. (Skoog, 2012)

O contra-eletrodo nunca tem efeito na reação que ocorre no eletrodo de trabalho, por isso este eletrodo em algumas análises, fica separado da solução que está sendo analisada por uma ponte salina, na qual geralmente contém o mesmo eletrólito que a amostra em análise. No entanto, nos instrumentos voltamétricos o eletrodo auxiliar está em contato direto com a solução, e requer que o material de construção deste eletrodo seja não reativo com os componentes do analito em solução. (Skoog, 2012)

Para evitar interferências na análise, geralmente o eletrodo auxiliar é de platina, já que este é um metal extremamente estável e que não reage frequentemente. Entretanto, em muitos casos como em Kovendhan e colaboradores (2019), o eletrodo de platina pode ser substituído pelo de aço inoxidável por ser resistente a corrosão, ter alta durabilidade e ótima condutividade térmica e elétrica, que proporciona estabilidade similar ao sistema eletroquímico.

## 1.7. Célula eletroquímica

Na figura 4, é exemplificado o modelo atualmente utilizado da célula eletroquímica hidrodinâmica (meio aquoso), do tipo Wall Jet, ou seja, com a injeção (jato) na superfície do eletrodo de trabalho. O tipo de sistema usado na célula BIA deste trabalho é BIA-CA, isto é, Análise por Injeção em Batelada com detecção Cronoamperométrica. (Backes, et al.; 2017)



**Figura 4.** (A) célula com a tampa e os eletrodos de trabalho (ET), referência (ER) e auxiliar (EA). (B) célula sem tampa, exibindo a área de trabalho do eletrodo. Fonte: Autor.

Na figura 4 acima, o eletrodo de ouro (ET), localiza-se na parte inferior, possuindo um orifício circular de diâmetro constante que determina a área de trabalho do eletrodo, se este não for delimitado no próprio eletrodo, como acontece em outros nos casos de eletrodos. Entre o eletrodo de trabalho e a base da célula eletroquímica está um anel de borracha “o-ring” que veda o escoamento de solução na abertura do eletrodo de trabalho. Este anel é fixado com uma chapa e dois parafusos. (Backes, et al.; 2017)

A tampa possui duas aberturas circulares, uma em paralelo ao orifício do eletrodo de

trabalho, para que seja possível colocar a ponteira de uma micropipeta eletrônica ou a seringa de uma bomba peristáltica, tornando possível a injeção do tipo Wall Jet. A abertura no interior da célula como mostra na figura 4 (B) é para o posicionamento da barra magnética, já que a mesma não pode no momento da análise colidir com os eletrodos de referência e auxiliar, tornando possível a análise com e sem agitação, desta forma, quando ocorre a injeção a dispersão do analito na superfície do eletrodo pode ser acelerado, gerando como resposta um sinal de corrente transiente. (Backes, et al.; 2017)

## **1.8. Procedimentos usados no cálculo de alguns parâmetros analíticos**

### **1.8.1. Limite de Detecção (LD)**

Na química analítica, uma das mais significativas características que qualquer técnica deve apresentar é a menor concentração ou massa com grau especificado de incerteza que o analito pode ser detectado. Essa quantidade detectável é o limite de detecção (LD), que é definido pela IUPAC. É importante ressaltar que uma quantidade detectável de analito não é necessariamente quantificável, de forma a ser necessário também calcular o limite de quantificação (LQ). (Uhrovčík, 2014)

O ruído gerado em análises eletroquímica do tipo BIA-MPA, está presentes no amperograma. Esse ruído deve ser examinado, já que possível avaliar as diferenças sujeitas a detecção. Deste modo, o cálculo para o limite de detecção pode ser expresso da seguinte forma: (Pereira, 2016)

$$LD = \frac{3 \cdot DPb}{s}$$

*DPb*, desvio padrão do branco, sendo  $n = 10$  (dez valores de ruídos);

*s*, é a sensibilidade da curva de clibração (coeficiente angular).

### **1.8.2. Limite de Quantificação (LQ)**

O limite de quantificação (LQ) está relacionado com a menor concentração ou massa quantificável de analito em um método analítico. Essa quantidade quantificável deve possuir confiabilidade razoável em cada técnica usada. (Uhrovčík, 2014).

Essa confiabilidade é baseada na precisão mínima aceitável (repetitividade) e

exatidão (concordância entre o resultado analítico e o valor real). Assim sendo, LQ pode ser calculado da seguinte maneira: (Pereira, 2016).

$$LQ = \frac{10 \cdot DPb}{s}$$

### 1.8.3. Repetibilidade

A repetibilidade como mencionado está relacionada com a precisão do método, ou seja, a concordância entre resultados consecutivos. Os estudos de repetibilidade sobre uma amostragem ou analito devem seguir um padrão de realização, dos quais devem se manter constante o laboratório de análise, o analista, o mesmo equipamento, os mesmos tipos de reagentes e se possível marca e curto intervalos de período ensaio. (Pereira, 2012)

O resultado da repetibilidade pode ser obtido através da faixa de concentração em um espaçamento linear do método analisado, e pode ser descrito como desvio padrão ou desvio padrão relativo de um agrupamento de valores. Desta forma, a repetibilidade pode ser calculada por: (Pereira, 2012).

$$DPR\% = \frac{DPx}{\bar{x}} \cdot 100$$

$DPx$ , desvio padrão da concentração;

$\bar{x}$ , média da concentração encontrada.

### 1.8.4. Linearidade

A linearidade de um estudo se refere a uma faixa dinâmica linear, ou seja, é a faixa de concentração linear que é possível determinar a concentração do analito em questão, utilizando uma curva de calibração. O início da faixa linear de concentração é geralmente considerado o valor do limite de detecção. Para o limite máximo da curva é ponderado a concentração em que o sinal gerado pela técnica, no caso da amperometria, a corrente ou a inclinação da reta desvia-se da relação linear, em torno de  $\leq 5\%$ . (Skoog, 2012).

Existe uma relação matemática entre os picos de corrente medidos (amperometria) no estudo de linearidade, com a determinação da concentração do analito. Esta relação se baseia na quantificação de corrente gerada por no mínimo cinco picos com concentrações conhecidas, de modo que usando a equação abaixo possa ser possível quantificar o analito em uma amostra de

concentração desconhecida: (Pereira, 2016).

$$y = a + bx$$

Em que  $y$ , é a resposta medida;

$a$  é o coeficiente linear;

$b$  é o coeficiente angular;

$x$ , é a concentração.

Os coeficientes  $a$  (interseção com o eixo  $y$  quando  $x$  é igual a zero) e  $b$  (inclinação da curva), são determinados a partir de mínimos quadrados ordinários, a curva se alinha para o centro se ponderados pelos níveis de concentrações mais baixos. Pode ser calculado também a partir desse cálculo o coeficiente de correlação linear “ $r$ ” que determina a incerteza dos coeficientes de regressão, quanto mais o valor de  $r$  se aproxima de 1,0 menor será a dispersão dos sinais analíticos gerados no estudo. (Pereira, 2016).

### 1.8.5. Exatidão

A exatidão pode ser definida como:

“Estimativa da concordância entre um resultado analítico e o valor verdadeiro ou aceito para uma quantidade medida; a concordância é estimada em termos do erro”. (Skoog et al., 2012).

Em geral são usados três métodos para a verificação da exatidão do método:

- Uso de materiais ou equipamentos de referência que sejam certificados;
- Comparar a técnica usada com outro método já avaliado;
- Ou realizar experimentos de recuperação.

O uso de materiais de referência certificado (MRC) é sugerido pelo INMETRO, que consiste em comparar o resultado de amostras analisadas em replicata com o valor real que está certificado, como em caso de análise comparativa de componentes de um medicamento. Para esses tipos de materiais de referência, existe uma grandeza e uma incerteza associada em cada parâmetro utilizado. (INMETRO, 2016)



A exatidão também pode ser determinada por comparação da técnica usada com um método (precisão e exatidão) já validado. Neste tipo de estudo, replicatas de uma mesma amostra são analisadas em duas técnicas ou mais. Os resultados dos estudos sobre métodos diferentes são obtidos e comparados com o valor real. Define-se os desvios e o nível de confiança da técnica em comparação com os resultados da outra. (INMETRO, 2016).

Nos experimentos de recuperação, ocorre a adição de soluções com concentrações do analito de interesse variando linearmente na amostra desejada, ou seja, a amostra deve ser fortificada com pelo menos três concentrações (baixa, média e alta) dentro da faixa de uso do método, do mesmo analito. Desta forma, é possível determinar o valor (massa ou concentração) do analito recuperado neste tipo de estudo, e relacioná-lo com a quantidade esperada na amostra. (INMETRO, 2016)

Um fator restritivo nesta técnica, é que nem sempre o analito adicionado está na mesma condição que na amostra. O cálculo de recuperação segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2016), pode ser expresso da seguinte forma:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

Em que,  $C_1$  é a concentração do analito na amostra fortificada;

$C_2$  é a concentração do analito da amostra não fortificada;

E  $C_3$  é a concentração do analito adicionado na amostra fortificada.

## 2. REFERÊNCIAS

ABDULLAH, A. A.; YARDIM, Y.; SENTÜRK, Z. The performance of cathodically pretreated boron – doped diamond electrode in cationic surfactant media for enhancing the adsorptive stripping voltammetric determination of catechol – containing flavonoid quercetin in apple juice. *Talanta*, v. 187, p. 156-164, 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS - ANP. Metanol, 2019. Disponível em>. Acesso em: 13 ago. 2019.

ABREU, R. E. L.; PAZ, J. E. M.; SILVA, A. C.; PONTES, M. J. C.; LEMOS, S. G. Ethanol fuel adulteration with methanol assessed by cyclic voltammetry and multivariate calibration. **Fuel**, v. 156, p. 20-25, 2015.

AGUIAR, A. C.; MACHADO, A. P. F.; ANGOLINI, C. F. F.; MORAIS, D. R.; BASEGGIO, A. M.; EBERLIN, M. N.; MARÓSTICA JR, M. R.; MARTÍNEZ, J. Sequential high-pressure extraction to obtain capsinoids and phenolic compounds from biquinho pepper (*Capsicum chinense*). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 150, p. 112-121, 2019.

ALECRIM, M. F.; OLIVEIRA, F. M.; GUEDES, T. J.; De NEVES, C.; MENDONÇA, V. A.; GIL, E. S.; VERLY, R. M.; SANTOS, W. T. P. Electrochemical behavior of the cotinine at a boron- doped diamond electrode and its determination in saliva by multiple-pulse amperometry in an FIA system. **Electrochimica Acta**, v. 222, p. 331-337, 2016.

ALTUNAY, N.; BINGÖL, D.; ELIK, A.; GÜRKAN, R. Vortex assisted-ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and spectrophotometric determination of quercetin in tea, honey, fruit juice and wine samples after optimization based on response surface methodology. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 221, 117166, 2019.

ANGNES, L. RICHTER, E. M.; AUGELLI, M. A.; KUME, G. H. Gold electrodes from recordable CDs. **Analytical chemistry**, v. 72, n. 21, p. 5503-5506, 2000.

ARAÚJO JR, R. F.; ARAÚJO, A. A.; PESSOA, J. B.; FREIRE NETO, F. P.; SILVA, G. R.; OLIVEIRA, A. L. C. S.; CARVALHO, T. G.; SILVA, H. F. O.; EUGÊNIO, M.; SANT'ANNA, C.; GASPAROTTO, L. H. S. Anti-inflammatory, analgesic and anti-tumor properties of gold nanoparticles. **Pharmacological Reports**, v. 69, n. 1, p. 119-129, 2017.

AVILA, L. M.; SANTOS, A. P. F.; MATTOS, D. I. M.; SOUZA, C. G.; ANDRADE, D. F.; D'AVILA, L. A. Determination of ethanol in gasoline by high-performance liquid chromatography. **Fuel**, v. 212, p. 236-239, 2018.

BACKES, R. S.; GUEDES, T. J.; SANTOS, W. T. P.; da SILVA, R. A. B.; Determinação rápida e simples de Citrato de Sildenafil (Viagra<sup>®</sup> e Genéricos) empregando

eletrodo impresso de carbono em sistema FIA e BIA com detecção amperométrica. **Química Nova**, v. 40, n. 7, p. 752-759, 2017.

BRETT, C. M. A.; FUNGARO, D. A. Poly(Ester sulphonic acid) coated Mercury thin film electrodes: characterization and application in batch injection analysis stripping voltammetry of heavy metal ions. **Talanta**, v. 50, n° 6, p. 1223-1231, 2000.

CHONDROGIANNI, N.; KAPETA, S.; CHINOU, I.; VASSILATOU, K.; PAPASSIDERI, I.; GONOS, E. S. Anti-agein gand rejuvenating effects of quercetin. **Experimental Genontology**, v. 45, n 10, p. 763-771, 2010.

CORSETTI, S.; ZEHENTBAUER, F. M.; McGLOIN, D.; KIEFER, J. Characterization of gasoline/ethanol blens by infrared and excess infrared spectroscopy. **Fuel**, v. 141, p. 136-142, 2015.

CONKLIN, A.; GOLDCAMP, M. J.; BARRETT, J. Determination of ethanol in gasoline by FT-IR spectroscopy. **Journal of Chemical Education**, v. 91, n. 6, p. 889-891, 2014.

DORNELLAS, R. M.; MUNOZ, R. A. A.; AUCELIO, R. Q. Electrochemical determination of picoxystrobin on boron-doped diamond electrode: Square-wave voltammetry *versus* BIA-multiple pulse amperometry. **Microchemical Journal**. v 123, p. 1-8, 2015.

FERNANDES, H. L.; RAIMUNDO JR, I. M.; PASQUINI, C.; ROHWEDDER, J. J. R. Simultaneous determination of methanol and ethanol in gasoline using NIR spectroscopy: Effect of gasoline composition. **Talanta**, v. 75, n. 3, p. 804-810, 2008.

FOGUEL, M. V.; ULIANA, C. V.; TOMAZ, P. R. U.; MARQUEZ, P. R. B. O.; YAMANAKA, H.; FERREIRA, A. A. P. Avaliação da limpeza de CDtrodo construídos a partir de CD de ouro gravável/fita adesiva de galvanoplastia. **Eclética Química**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 59-66, 2009.

FOGUEL, M. V.; dos SANTOS, G. P.; FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H.; BENEDETTI, A. V. Amperometric Immunosensor for Chagas' Disease Using Gold CD-R Transducer. **Electroanalysis**, v 23, n 11, 2011.

FORTUNATO, F. M.; VIEIRA, A. L.; NETO, J. A.; DONATI, G. L.; JONES, B. T. Expanding the potentialities osstandart dilution analysis: Determination of ethanol in gasoline by Raman spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 76-80, 2017.

GIMENES, D. T.; MARRA, M. C.; de FREITAS, J. M.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. Simultaneous determination of captopril and hydrochlorothiazide on boron-doped diamond electrode by batch injection analysis with multiple pulse amperometric detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 212, p. 411-418, 2015.

GUSS, K. L.; PAVANNI, S.; PRATI, B.; DAZZI, L.; OLIVEIRA, J. P.; NOGUEIRA, B. V.; PEREIRA, T. M. C.; FRONZA, M.; ENDRINGER, D. C.; SCHERER, R. Ultrasound-assisted extraction of *Achyrocline satureioides* prevents contrast-induced nephropathy in mice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 37, p. 368-374, 2017.

GRANATO, M.; RIZZELLO, C.; MONTANI, M. S. G.; CUOMO, L.; VITILLO, M.; SANTARELLI, R.; GONNELLA, R.; D' ORAZI, G.; FAGGIONI, A.; CIRONE, M. Quercetin induces apoptosis and autophagy in primary effusion lymphoma cells by inhibiting PI3K/AKT/mTOR and STAT3 signaling pathways. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 41, p. 124-136, 2017.

HATAHET, T.; MORILLE, M.; SHAMSEDDIN, A.; AUBERT-POUËSSEL, A.; DEVOISSELLE, J. M.; BÉGU, S. Dermal quercetina lipid nanocapsules: Influence of the formulation on antioxidant activity and cellular protection against hydrogen peroxide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 518, n 1-2, p. 167-176, 2017.

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

HEŘMÁNKOVÁ, E.; ZATLOUKALOVÁ, M.; BILER, M.; SOKOLOVÁ, R.; BANCÍŘOVÁ, M.; TZAKOS, A. G.; KŘEN, V.; KUZMA, M.; TROUILLAS, P.; VACEK, J. Redox properties of individual quercetin amoieties. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 143, p. 240-251, 2019.

HERNÁNDEZ-SANTOS, D.; FANJUL-BOLADO, P.; GONZÁLEZ-GARCIA, M. Chapter 10 – Batch injection analysis for amperometric determination of ascorbic acid at ruthenium dioxide screen-printed electrodes. **Laboratory Methods in Dynamic Electroanalysis**, p. 99-108, 2020.

HOLM-NIELSEN, J. B.; ANDREE, H.; LINDORFER, H.; ESBENSEN, K.H. Transflexive embedded near infrared monitoring for key process intermediates in anaerobic digestion/biogas production. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 15, p. 123-135, 2007.

INMETRO: **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos, DOQ-CGCRE-008**. Edição 05, 2016.

JORNET-MARTÍNEZ, N.; GOMEZ-OJEA, R.; TOMÁS-HUERCIO, O.; HERRÁEZ-HERNÁNDEZ, R.; CAMPÍN-FALCÓ, P. Colorimetric determination of alcohols in spirit drinks using a reversible solid sensor. **Food Control**, v. 94, p. 7-16, 2018.

KANA, E. B. G.; SCHMIDT, S.; KENFACK, R. H. A. A web-enabled software for real-time biogas fermentation monitoring – Assessment of dark fermentations for correlations between medium conductivity and biohydrogen evolution. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 10235-10244, 2013.

KHANI, R.; SHEYKHI, R.; BAGHERZADE, G. An environmentally friendly method based on micro-cloud point extraction for determination of trace amount of quercetina in food and fruit samples. **Food Chemistry**, v 293, p 220-225, 2019.

KOVENDHAN, M.; KANG, H.; JEONG, S.; YOUN, J. S.; INHWAN OH, PARK, Y. K.; JOEN, K. J.; Study of stainless steel electrodes after electrochemical analysis in sea water condition. **Environmental Research**, v173, p 549-555, 2019.

KUMAR, K.; MISHRA, A. K. Quantification of ethanol in petrol–ethanol blends: Use of Reichardt's  $E_T(30)$  dye in introducing a petrol batch independent calibration procedure. **Talanta**, v. 100, p. 414-418, 2012.

LIN, J.; TEO, L. M.; LEONG, L. P.; ZHOU, W. *In vitro* bioaccessibility and bioavailability of quercetin from the quercetina-fortified bread products with reduced glycemic potencial. **Food Chemistry**, v. 286, p. 629-635, 2019.

MILANEZI, F. G.; MEIRELES, L. M.; SCHERER, M. M. C.; OLIVEIRA, J. P.; SILVA, A. R.; ARAUJO, M. L.; ENDRINGER, D. C.; FRONZA, M.; GUIMARÃES, C. C.; SCHERER, R. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of gold nanoparticles capped with quercetin. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [doi.org/10.1016/j.jsps.2019.07.005](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.07.005).

MILTONPRABU, S.; TOMCZYK, M.; SKALICKA-WOŹNIAK, K.; RASTRELLI, L.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. F.; ALAVIAN, S. M.; NABAVI, S. M. Hepatoprotective effect of quercetina: From chemistry to medicine. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 108, p. 365-374, 2017.

MOREL, E.; SANTAMARIA, K.; PERRIER, M.; GUIOT, S. R.; TARTAKOVSKY, B. Application of multi-wavelength fluorometry for on-line monitoring of an anaerobic digestion process. **Water Research**, v. 38, p. 3287-3296, 2004.

MUNCHAROEN, S.; SITANURAK, J.; TIYAPONGPATTANA, W.; CHOENGCHAN, N.; RATANAWIMARNWONG, N.; MOTOMIZU, S.; WILAIRAT, P. NACAPRICHA, D. Quality control of gasohol using a micro-unit for membraneless gas diffusion. *Microchimica Acta*, v. 164, n. 1-2, p. 203-210, 2009.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Etanol, CID=702, <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol>>. Acessoem: 29 Ago. 2019.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Metanol, CID=887, <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methanol>>. Acessoem: 29 Ago. 2019.

National Center of Biotechnology Information. PubChem Database. Quercetin, CID=5280343 <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin>>. Acessoem: 29 Ago. 2019.

NUMATA, Y.; TANAKA, H. Quantitative analysis of quercetin using Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v 126, n 2, p 751-755, 2011.

PACHECO, B. D.; VALÉRIO, J.; ANGNES, L., PEDROTTI, J. J. Fast batch injection analysis of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> using na array of Pt-modified gold microelectrodes obtained from split electronic chips. **Analytica Chimica Acta**, v. 696, nº 1-2, p. 53-58, 2011.

PETROBRAS. Etanol, 2019. Disponível em <<http://www.petrobras.com.br/pt/produtos-e-servicos/produtos/automotivos/etanol/>>. Acesso em: 13 ago. 2019.

PEREIRA, P. F. **Uso do eletrodo de diamante dopado com boro acoplado a um sistema BIA para determinação simultânea de princípios ativos em medicamentos.** 2016. 157 f. Tese (Doutorado em Química) apresentada a Universidade Federal de Uberlândia – Campus Santa Mônica, Uberlândia, 2016.

PEREIRA F. P.; MARRA, M. C.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. Fast batch injection analysis system for on-site determination of ethanol in gasohol and fuel ethanol. **Talanta**, v. 90, p. 99-102, 2012.

PEREIRA, P. F.; SOUSA, R. M. F.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. Simultaneous determination of ethanol and methanol in fuel ethanol using cyclic voltammetry. **Fuel**, v. 103, p. 725-729, 2013.

PEREIRA, L. N. S.; da SILVA, I. S.; ARAÚJO, T. P.; TANAKA, A. A.; ANGNES, L. Fast quantification of  $\alpha$ -lipoic acid in biological samples and dietary supplements using batch injection analysis with amperometric detection. **Talanta**, v. 154, p. 249-254, 2016.

PIND, P. F.; ANGELIDAKI, I.; AHRING, B. K.; STAMATELATOU, K.; LYBERATOS, G. Monitoring and control of anaerobic reactors. **Springer Biomethanation II - Advances in biochemical engineering/biotechnology**, v. 82, p. 135- 182, 2003.

PRASAD, P. R.; RAMA RAO, K. S.; BHUVANESWARI, K.; PRAVEENA, N.; SKIKANTH, Y. V. V. Determination of ethanol in blend petrol by gas chromatography and fourier transform infrared spectroscopy. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, v 30, n 16, p. 1534-1539, 2008.

RAJA, M.; HERNÁNDEZ-REVELLES, J.; HERNÁNDEZ-CASSOU, S.; SAURINA, J. Determination of polyphenols in the pear pulp matrix by solvent extraction and liquid chromatography with UV-Vis detection. **Analytical Methods**, v 6, n 24, p 9769-9776, 2014.

RAHIMI, M.; BAHAR, S.; HEYDARI, R.; AMININASAB, M. Determination of quercetina using a molecularly imprinted polymer as solid-phase microextraction sorbent and high-performance liquid chromatography. **Microchemical Journal**, v 148, p 433-441, 2019.

REAY, M. K.; YATES, C. A.; JOHNES, P. J.; ARTHUR, C. J.; JONES, D. L.; EVERSHED, R. P. High resolution HPLC-MS confirms overestimation of urea in soil by the

diacetyl monoxime (DAM) colorimetric method. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 135, p. 127-133, 2019.

RIBEIRO, G. A. C.; da ROCHA, C. Q.; VELOSO, W. B.; FERNANDES, R. N.; da SILVA, I. S.; TANAKA, A. A. Determination of the catechin contents of bioactive plant extracts using disposable screen-printed carbon electrodes in a batch injection analysis (BIA) system. *Microchemical Journal*, v 146, p 1249-1254, 2019.

RICHTER, E. M. **Desenvolvimento e aplicações de eletrodos de ouro confeccionados a partir de discos compactos graváveis (CD-Rs)**. 2001. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química) apresentada a Universidade de São Paulo – Campus São Carlos, São Paulo, 2001.

RICHTER, E. M.; PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L. Square-Wave Quantification of Lead in Rainwater with Disposable Gold Electrodes Without Removal of Dissolved Oxygen. *Electroanalysis: An Internacional Journal Devoted to Fundamental and Pratical Aspects os Electroanalysis*, v 15, n 23-24, p 1871-1877, 2003.

RICHTER, E. M.; AUGELLI, M. A.; MAGAROTTO, S.; ANGNES, L. Compact disks, a new source for gold electrodes. Application to the quantification of copper by PSA. *Electroanalysis: An Internacional Journal Devoted to Fundamental and Pratical Aspects os Electroanalysis*, v 13, n 8-9, p 760-764, 2001.

RICHTER, E. M.; AUGELLI, M. A.; KUME, G. H.; MIOSHI, R. N.; ANGNES, L. Gold electrodes from recordable CDs for mercury quantiofication by flow injection analysis. *Fresenius' journal of analytical chemistry*, v 366, n 5, p 444-448, 2000.

RINALDI, A. L., CARBALLO, R. Impedimetric non-enzymatic glucose sensor based on nickel hydroxide thin film onto gold electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 228, p. 43-52, 2016.

ROBLEDO, S. N.; PIERINI, G. D.; DÍAZ NIETO, C. H.; FERNÁNDEZ, H.; ZON, M. A. Development of an electrochemical method to determine phonolic monoterpenes in essential oils. **Talanta**. v. 196, p. 362-369, 2019.

SAFARI, S.; SELVAGANAPATIA, P. R.; DERARDJA, A.; DEEN, M. J. Electrochemical growthof high-aspect ratio nanostructured silver chloride on silver and its



application to miniaturized reference electrodes. **Nanotechnology**. Canadá, v. 22, n. 31, p. 1-8, 2011.

SANSUK, S. TONGPHOOTHORN, W.; SIRIMUNGKALA, A.; SOMBOON, T. A simple, precise and cost – effective determination of ethanol content in gasohol through the ferriin – catalyzed Belousov – Zhabotinsky oscillating system. **Microchemical Journal**, v. 149, 104023, 2019.

SANTOS, W. T. P.; GIMENES, D. T.; RICHTER, E. M.; ANGNES, L. Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos: potencialidades e aplicações. **Química Nova**. São Paulo, v. 34, n. 10, p. 1753-1761, 2011.

SARITHA, D.; KOIRALA, A. R.; VENU, M.; DINNESWARA REDDY, G.; VIJAYA BHASKAR REDDY, A.; SITARAM, B.; MADHVI, G.; ARUNA, K. A simple, highly sensitive and stable electrochemical sensor for the detection of quercetin in solution, onion and honey buckwheat using zinc oxide supported on carbon nanosheet (ZnO/CNS/MCPE) modified carbon past electrode. **Electrochimica Acta**, v 313, p 523-531, 2019.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Análise Instrumental. **Voltametria**. Porto Alegre: Editora Bookman, p. 566-595, 2002

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica. **Voltametria**. Editora: Cengage Learning, p. 627-663, 2012.

SCHIEBER, A.; KELLER, P.; CARLE, R. Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v 910, n 2, p 265-273, 2001.

STEFANO, J. S.; TORMIN, T. F.; da SILVA, J. P.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A.A. Amperometric determination of omeprazole on screen-printed electrodes using batch injection analysis. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 398-403, 2017.

STUART, E. JE; TSCHULIK, K. LOWINSOHN, D.; CULLEN, JT; COMPTON, RG. Gold electrodes from recordable CDs for the sensitive, semi-quantitative detection of commercial silver nanoparticles in seawater media. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v 195, p 223-229, 2014.

TAKAHASHI, S.; MUGURUMA, H.; OSAKABE, N.; INOUE, H.; OHSAWA, T. Electrochemical determination with a long-length carbon nanotube electrode of quercetin glucosides in onion, apple peel, and tartary buckwheat. **Food Chemistry**, v 300, 125189, 2019.

TORMIN, T. F. **Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para a determinação de metais em biocombustíveis empregando a análise por injeção em batelada (BIA)**. 2016. 151 f. Tese (Doutorado em Química) apresentada a Universidade Federal de Uberlândia – Campus Santa Mônica, Uberlândia, 2016.

TORMIN, T. F. **Análise por injeção em batelada associada à detecção amperométrica: desenvolvimento de métodos rápidos para a determinação de antioxidantes em biodiesel**. 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) apresentada a Universidade Federal de Uberlândia – Campus Santa Mônica, Uberlândia, 2012.

TORMIN, T. F.; NARCISO, L. C. D.; RICHTER, E. R.; MUNOZ, R. A. A. Batch – injection stripping voltammetry of zinc at a gold electrode: application for fuel bioethanol analysis. **Electrochimica Acta**, v. 164, p. 90-96, 2015.

TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; da SILVA, R. A. B.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. Combination of screen-printed electrodes and batch injection analysis: A simple, robust, high-throughput, and portable electrochemical system. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 202, p. 93-98, 2014.

TURANOV, A.; KHITRIN, A. K. Proton NMR characterization of gasoline - ethanol blends. **Fuel**, v. 137, p. 335-338, 2014.

UHROVČÍK, J.; Strategy for determination of LOD and LOQ values – Some basic aspects. **Talanta**, v. 119, p. 178-180, 2014.

VARMUZA, K., FILZMOSER, P. Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics. **CRC Press/Taylor & Francis Group**, p. 348, 2009.

VELOSO, I. I. K.; RODRIGUES, K. C. S.; SONEGO, J. L. S.; CRUZ, A. J. G.; BADINO, A. C. Fed-batch ethanol fermentation at low temperature as a way to obtain highly concentrated alcoholic wines: Modeling and optimization. **Biochemical Engineering Journal**, v. 141, p. 60-70, 2019.

VERHELST, S.; TURNER, J. W. G.; SILEGHEM, L.; VANCOILLIE, J. Methanol as fuel for internal combustion engines. **Progress in Energy and Combustion Science**. v. 70, p. 43-88, 2019.

WANG, J.; TAHA, Z. Batch injection with potentiometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 252, n. 1-2, 1991.

YING JI; YUAN LI; BINBIN REN; XINSHENG LIU; YONGHONG LI; JEFFREY SOAR. Nitrogen-doped grapheme-oinic liquid-glassy carbon microsphere paste electrode for ultra-sensitive determination of quercetina. **Microchemical Journal**, MICROC 104689, 2020.

ZAPLATIC, E.; BULE, M.; SHAH, S. Z. A.; UDDIN, M. D. S.; NIAZ, K. Molecular mechanisms underlying protective role of quercetina in attenuating Alzheimer's disease. **Life Sciences**. v. 224, n. 1, p. 109-119, 2019.

### **3. OBJETIVOS**

Desenvolver e validar uma metodologia que possibilitem o uso da análise por injeção em batelada com detecção amperométrica (BIA-CA) e CDtrodo (ouro) como eletrodo de trabalho para determinação de Quercetina em amostras de pimenta.

### **4. ARTIGOS CIENTÍFICOS**

#### **CAPÍTULO I**

(Normas de acordo com revista Food Chemistry)

#### **A simple and fast determination of quercetin by batch injection analysis with amperometric detection on gold CDtrode**

##### **4.1. Abstract**

A new analytical procedure for fast quercetin in determination in pepper extract *Capsicum Chinense* (var. Biquinho) sample has been developed. The method is based on batch injection analysis with chronoamperometric detection (BIA-CA) and gold CD as working electrode which offers several desirable features, such as simplicity, reduced costs, robustness, good precision (RSD < 7.5%, n = 10), high analytical frequency (up to 150 injections h<sup>-1</sup>) and generation of small waste volume by analysis. A sample aliquot (100 µL) was directly injected onto a gold CDtrode immersed in 0.04 molL<sup>-1</sup> of hydroethanolic (50% v/v) borate buffer solution (pH = 10). The proposed working electrode is a way of reusing disposable materials. The BIA-CA procedure provides linear range from 20 to 90 mg L<sup>-1</sup> with detection and quantification limits of 5.25 and 17.5 µg mL<sup>-1</sup>, respectively.

## 4.2. Palavras-chave

Flavonoide; Amperometria; CDtrodo; Pimenta; Extrato Etanólico.

## 4.3. Introdução

A quercetina, 3,5,7,3'- 4'-pentahidroxi flavone, pertence ao grupo dos flavonoides, família *leguminosae*, possuindo propriedade antioxidante e forte ações quelantes, que são resultados de grupos catecol em um anel e grupo hidroxila livre (OH<sup>-</sup>) em outro. Desta forma, a quercetina apresenta diversas características medicinais como inibidor de enzimas digestivas de carboidratos (Lin et al., 2019), atividade antioxidante, antimicrobiana e citotóxica, (Milanezi et al., 2019), anti-inflamatória (Hatahet et al., 2017), antiproliferativa, antiangiogênica (Araújo et al., 2017 e Granato et al., 2017), efeitos renoprotetores (Guss et al., 2017), efeito hepatoprotetor (Miltonprabu et al.; 2017), antienvhecimento (Chondrogianni et al., 2010) e anticâncer (Tang et al., 2020).

Esse flavonoide é ingerido frequentemente na dieta humana na forma de quercetina-3-O-β-D-glucopiranosida (isoquercitrina) e quercetina-3-O-rutinosida (rutina). (Heřmánková et al., 2019) e pode ser facilmente extraído de diversas plantas e frutos comestíveis como da espécie *Capsicum*, mais especificamente da *Capsicum chinense* (*C. chinense*), que é mais popularmente conhecida como pimenta-biquinho, nativa do território brasileiro. (Aguiar et al., 2019)

Segundo Zaplatic e colaboradores (2019) a quercetina possibilita a melhoria de sinais

celulares e moleculares na regulação das funções fisiológicas normais, já que tem a capacidade de combater efeitos nocivos causados por espécies reativas a oxigênio, que desempenham uma função importante no desenvolvimento da doença de Alzheimer (DA).

Devido à importância da quercetina em inúmeros assuntos medicinais, diversos métodos já foram implantados para quantificar este composto como a Cromatografia Líquida de Alta Performance (Raja et al.; 2014), a Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (Watson & Oliveira, 1999), a Espectroscopia Raman (Numata & Tanaka, 2011), os Métodos de Polímeros Impressos Molecularmente (Xu et al.; 2019) e a Voltametria Cíclica e de Pulso Diferencial (Saritha et al.; 2019). No entanto, entre os métodos listados, vários apresentam uma ou mais das seguintes limitações: alto custo, baixa frequência analítica, uso de solventes orgânicos e necessidade de etapas trabalhosas de pré-tratamento de amostra. Desta forma, estudos para o desenvolvimento de novos métodos que permitam a determinação da quercetina sem as limitações listadas anteriormente é de grande importância.

A análise por Injeção em Batelada (BIA, do inglês “Batch Injection Analysis”) é uma metodologia de análise que pode ser usada no controle de qualidade de diversos produtos conforme medicamentos como omeprazol (Stefano et al., 2017), captopril e hidroclorotiazida (Gimenes et al., 2015), combustíveis como o bioetanol (Tormin et al., 2015) e gásóleo (Pereira et al., 2012), alimentos como suco de laranja (Hernández-Santos et al., 2020) e suplementos alimentares (Pereira et al., 2016), além de amostras de interesse ambiental como análise de água (Pacheco et al., 2011) e metais pesados (Brett et al., 2000), entre outras.

Eletrodos de ouro produzidos a partir de mídias graváveis (CDs) começaram a ser estudados em 2000 (Angnes et al., 2000) como forma alternativa e de baixo custo para eletrodos de ouro comerciais e, desde então, têm sido amplamente usados para determinação de metais como prata (Stuart et al., 2014), chumbo (Richter et al., 2003), cobre (Richter, et al., 2001), mercúrio (Richter et al., 2000) e doenças como a doença de Chagas (Foguel et al., 2011). A espessura da camada de ouro nos CDs são em torno de 50 a 100 nm, o que possibilita a construção de nano eletrodos com áreas na ordem de  $10^{-6}$  cm<sup>2</sup>. A superfície simétrica e nivelada permite também o recorte de eletrodos em tamanho convencional com até 100 cm<sup>2</sup> (área total da camada metálica dos discos graváveis) para análises eletroquímicas com injeções em batelada ou em fluxo. (Angnes et al., 2000). Neste trabalho é apresentado um novo método eletroquímico para determinação rápida da quercetina usando BIA-CAe CD de ouro como eletrodo de trabalho.

## **4.4. Materiais e métodos**

### **4.4.1. Reagentes, soluções e amostras**

A quercetina diidratada foi adquirida da Fagron (São Paulo, Brasil), o ácido acético e o etanol da Neon (São Paulo, Brasil), o ácido fosfórico da Alphatec (Paraná, Brasil), o hidróxido de sódio e o ácido bórico da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). As soluções utilizadas foram preparadas com água Milli-Q. Como todos os reagentes usados nos estudos foram de grau analítico a purificação prévia não foi necessária. Tampão Britton Robinson (BR)  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  foi usado para o estudo de pH dentro da faixa 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10,0. Solução tampão borato hidroetanólico 50% v/v ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ; pH = 10) em meio aquoso foi usado como eletrólito de suporte. As amostras de extratos de pimenta-biquinho foram extraídas por outra aluna de mestrado no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, na forma de extrato bruto e diluído em etanol.

### **4.4.2. Instrumentação**

Os estudos eletroquímicos realizados neste trabalho usaram o potenciostato  $\mu$ Autolab Tipo III conectado ao computador por meio de software Nova 2.0. Também foram utilizados um eletrodo de referência miniaturizado construído a partir de ponteiras de micropipetas 10-100  $\mu\text{L Ag/AgCl}_{\text{Sat. com KCl}}$ , e uma agulha de aço inoxidável como contra eletrodo.

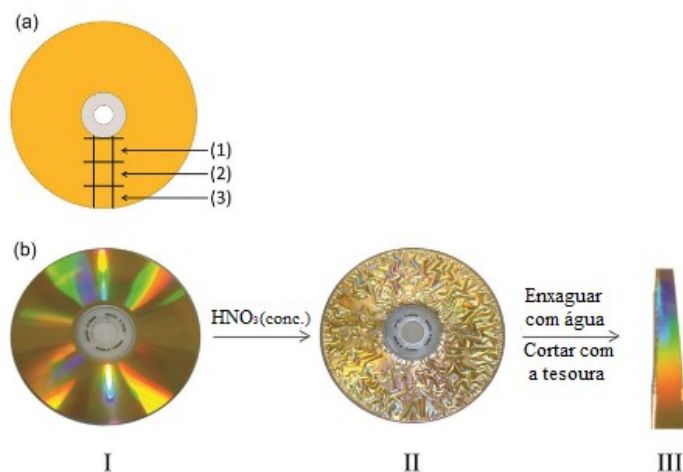
A célula BIA usada neste estudo possui volume de 80 mL e foi fabricada no Laboratório de Microfluídica e Eletroforese da Universidade Federal de Goiás a partir de uma impressora 3D Prusa i3 MK3S utilizando filamento ABS (Acrilonitrila Butadieno Estireno). Nesta célula o CDtrodo de ouro (1,0 x 3,0 cm) foi fixado na parte inferior, em uma área previamente definida na impressão da célula. A extensão da superfície do eletrodo de trabalho em contato com a solução durante a análise é definida por um “o-oring” de borracha com aproximadamente 0,4 cm de diâmetro.

A limpeza prévia do CDtrodo foi realizada com etanol e a água Milli-Q. Este tipo de eletrodo não pode ser mecanicamente polido pela sua fina camada de ouro (50 a 100 nm) (Foguel et al, 2009). Previamente cada análise, tratamentos eletroquímicos foram realizados com o uso da voltametria cíclica aplicando-se a faixa de potencial de 0 a +1,2 V (número de ciclos = 20) em meio de tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  pH = 10. Para as injeções das soluções padrão e amostras nos estudos de amperometria, foi utilizada uma micropipeta eletrônica

motorizada (Eppendorf multipette<sup>®</sup> stream) com a ponteira posicionada adequadamente sobre a abertura acima do eletrodo de trabalho (~2 mm).

#### 4.4.3. Preparo do Eletrodo de Trabalho (CDtrodo)

A figura 1 representa o tratamento químico realizado no disco compacto gravável (CD) para a remoção da camada protetora do CD, a fim de deixar a camada de ouro exposta.

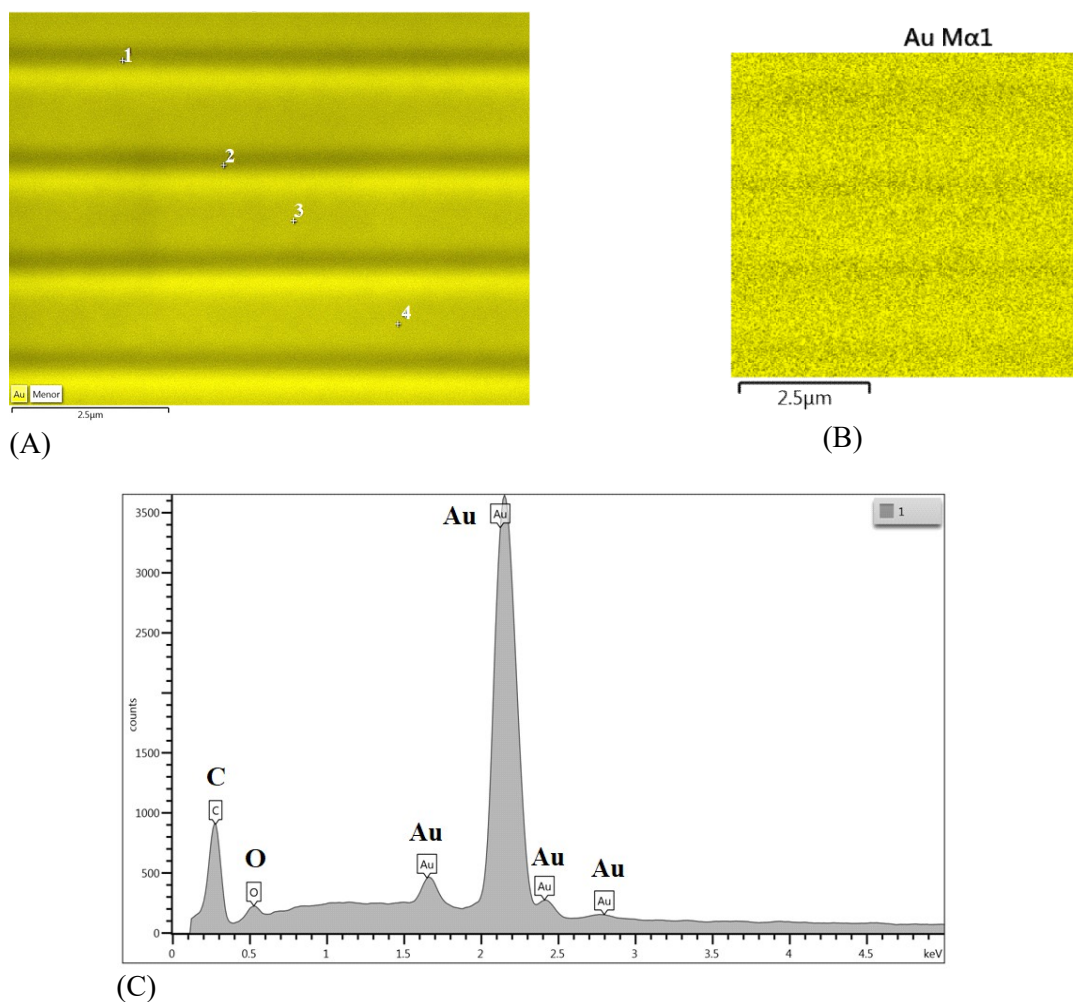


**Figura 1.** (a) Regiões da camada de ouro do disco compacto gravável: (1) borda interna, (2) centro, (3) borda externa. (b) Etapas na construção do eletrodo de ouro usando o CD de gravação (CDtrodos); (I) CD-R antes do tratamento, (II) remoção da camada polimérica CD-R após a adição de  $\text{HNO}_3$  e (III) fatia CD-R sem a camada de polímero e lavado com água para remover o  $\text{HNO}_3$ . Fonte: Foguel (2016)

Primeiramente, utilizou-se ácido nítrico concentrado 68-70% P.A. e em seguida, o eletrodo foi lavado abundantemente com água destilada, restando assim somente à superfície com ouro. A delimitação da área de trabalho do CDtrodo, como já citado acima, foi realizada pela abertura na parte inferior da célula sendo esta vedada com um “o-ring”.

#### 4.4.4. Caracterização dos eletrodos

Após o preparo dos eletrodos de trabalho, os mesmos foram enviados ao Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (CRTI) para a realização de caracterização da superfície do CD, a fim de caracterizar suas superfícies em relação à composição. A Figura 2 representa as imagens obtidas por EDS para o CD de ouro.



**Figura 2.** Mapa composicional da amostra de CDtrodo de ouro (A) e individual da amostra (B). (C) espectro EDS “do inglês Energy Dispersive X – Ray Spectroscopy” dos elementos constituintes das partículas correspondentes à amostra de CDtrodo.

Na figura 2 (A) é possível observar que a superfície do eletrodo de trabalho, após o tratamento com ácido nítrico concentrado, apresenta ondulações provenientes de ranhuras de gravação. O mapeamento elemental do eletrodo como mostra nas figuras 2(B) e (C) indica de forma clara que o material usado como CDtrodo apresenta maiores proporções de ouro.

#### 4.4.5. Estudo de pH e potencial ótimo

Para a otimização dos parâmetros de pH e potencial, o comportamento eletroquímico da quercetina no CDtrodo de ouro foi inicialmente investigado em soluções com diferentes valores de pH (2 a 10), usando solução tampão Britton-Robinson (B-R) 0,04 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito suporte. As soluções tampão foram preparadas em meio de água/etanol (50/50 v/v),



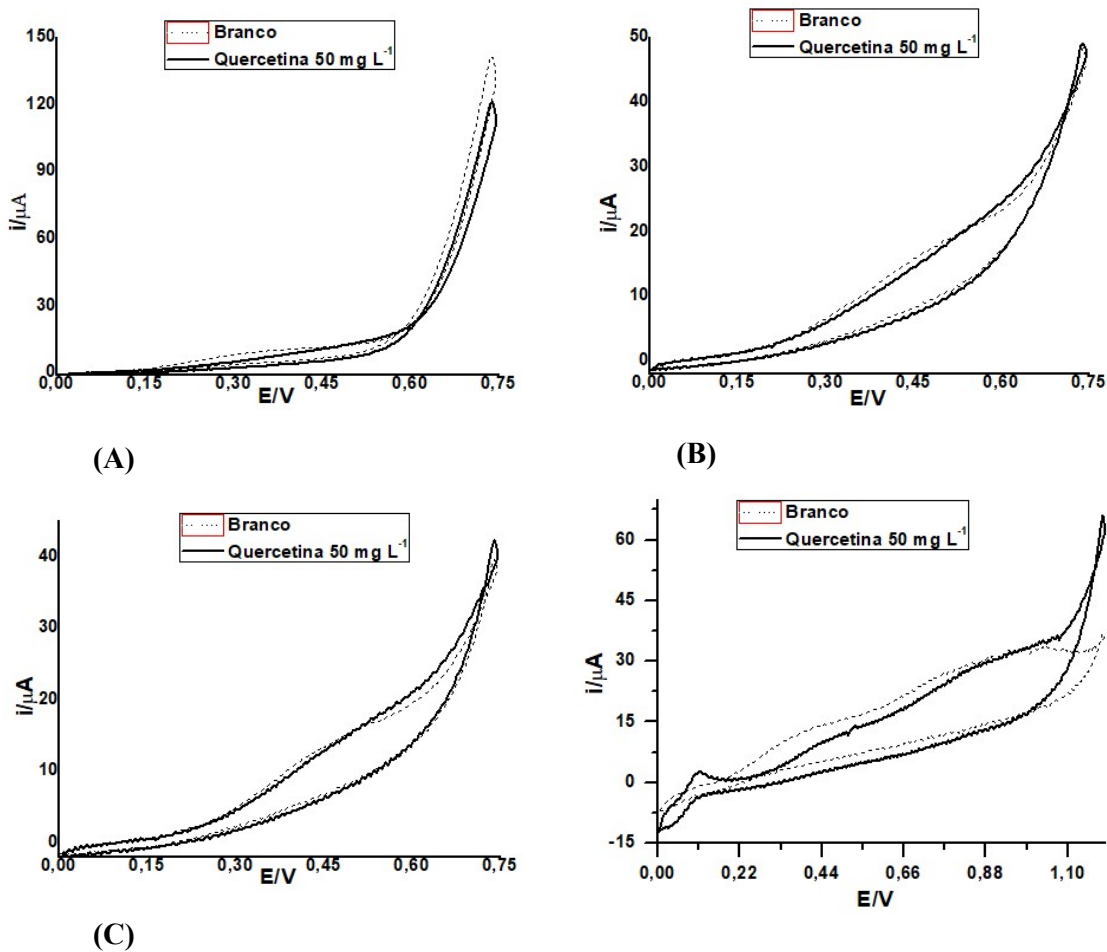
uma vez que a quercetina apresenta baixa solubilidade em soluções aquosas (Yong et al., 2020). O extrato etanólico bruto de quercetina foi adequadamente diluído em solução tampão B-R para cada pH estudado e, em seguida, adicionado à célula eletroquímica para a realização da técnica de voltametria cíclica,

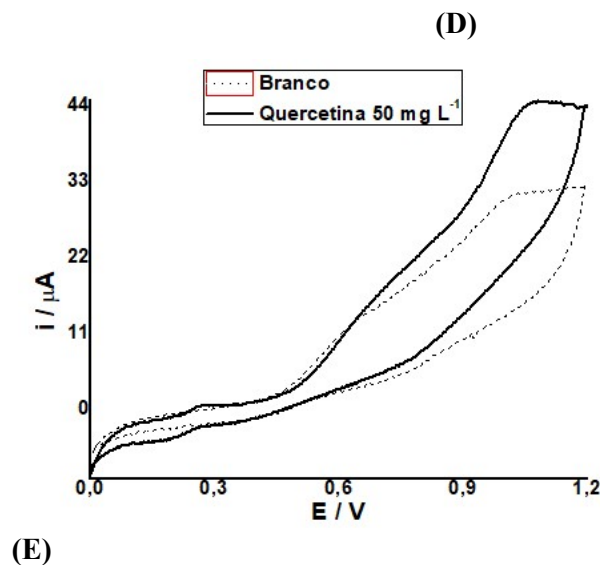
Todas as análises foram realizadas sem agitação.

#### 4.5. Resultados e discussões

Pesquisas já realizadas com a quercetina foram levadas em consideração para a realização deste trabalho, de forma que foi possível saber antes que os experimentos começassem que a quercetina apresenta baixa solubilidade em água, entretanto é altamente solúvel em solventes orgânicos e soluções contendo hidróxido de sódio. (López, et al.; 2020).

A Figura 3 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos utilizando CDtrodo de ouro em meio de solução tampão B-R  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (pH de 2 a 10) antes (---) e após a adição de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de quercetina (—).

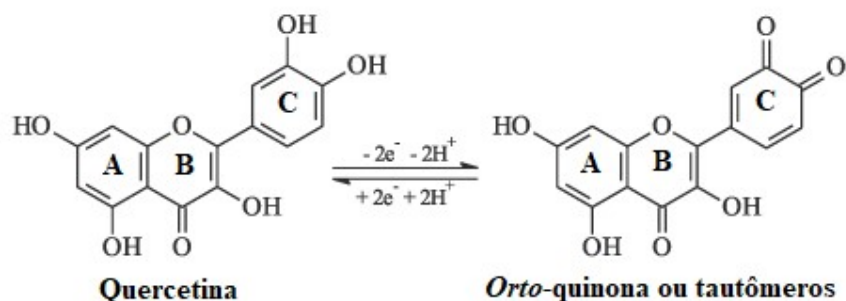




**Figura 3.** Voltamogramas cíclicos realizados em meio de solução tampão B-R0,04 mol L<sup>-1</sup>; e etanol (50/50 v/v) antes (····) e após a adição de 50 mg L<sup>-1</sup> de quercetina (—). Velocidade de varredura = 100 mV s<sup>-1</sup>; Incremento de potencial = 5 mV. (A) pH 2, (B) pH 4, (C) pH 6, (D) pH 8 e (E) pH 10.

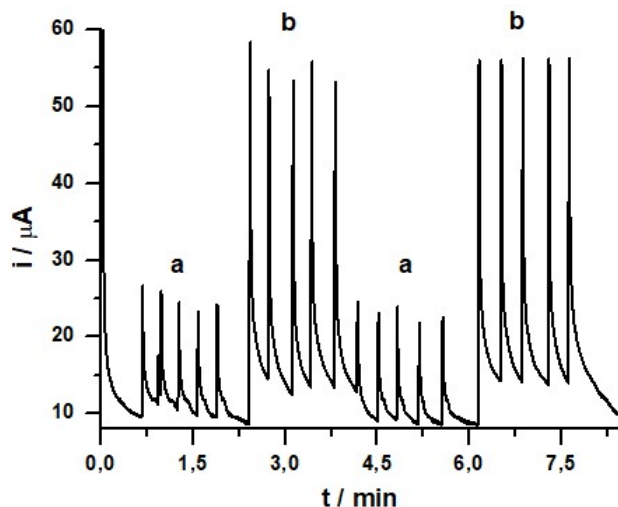
A Fig. 3 mostra que o pico de corrente anódica da quercetina é mais significativo em pH = 10 e E = +1,0 V (Fig.3E) e, portanto, os estudos subsequentes foram realizados utilizando como eletrólito suporte solução tampão borato 0,04 mol L<sup>-1</sup> (pH=10) em meio de água/etanol (50/50 v/v)

Baseado no voltamograma cíclico apresentado na Fig. 3E, o pico anódico da quercetina em potencial + 1,0 V é proveniente da oxidação do grupo hidroxila do anel C como explica Timbola e colaboradores (2006). Nenhum processo de redução foi observado, sugerindo que sob essas condições o processo é irreversível. De acordo com a literatura (Timbola et al., 2006) a eletrooxidação da quercetina ocorre com a transferência de 2 prótons e 2 elétrons (Saritha et al., 2019), levando a formação da *orto*-quinona ou tautômeros, ou seja, a eletrooxidação observada em + 1,0 V corresponde ao substituto 3', 4'-di-hidroxi presente no anel C da quercetina. (Timbola et al., 2006), como pode ser observado na Figura 4.



**Figura 4.** Esquema do provável mecanismo de eletro-oxidação da quercetina em solução hidroetanólica. Fonte: Timbola et al., (2006).

Para avaliar a estabilidade de resposta do CDtrodo de ouro no sistema BIA com detecção amperométrica de acordo com os parâmetros escolhidos (pH = 10 e E = +1,0 V), injeções sucessivas (n = 10) de soluções contendo 20,0 mg L<sup>-1</sup> (a) ou 90,0 mg L<sup>-1</sup> (b) de quercetina foram realizadas. A Figura 5 apresenta os resultados obtidos.

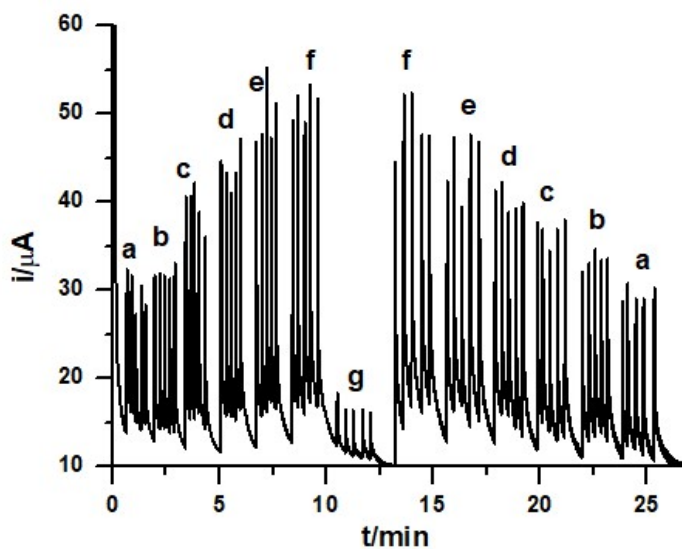


**Figura 5.** Amperogramas obtidos de injeções sucessivas (n = 10) de soluções contendo 20 mg L<sup>-1</sup> (a) e 90 mg L<sup>-1</sup> (b) de quercetina. Volume de injeção: 150 μL; Velocidade de injeção: 2,5 μL s<sup>-1</sup>

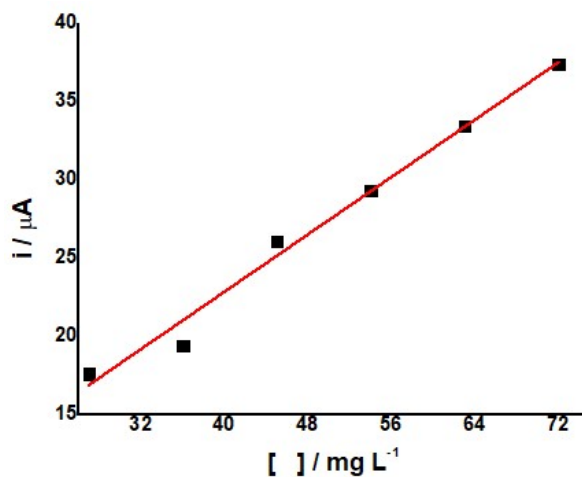
O DPR obtido nesse estudo foi de 7,53 (a) e 3,25% (b). Esses resultados indicam que o sistema BIA apresentou boa estabilidade, mesmo trabalhando com soluções de concentrações muito diferentes, uma vez que nenhum efeito de memória entre sucessivas injeções foi observado. Essa estabilidade foi obtida sem a necessidade de limpeza eletroquímica da superfície do CDtrodo de ouro durante a análise, indicado que não houve

problemas relacionados com a contaminação/passivação da superfície do eletrodo de trabalho.

A Figura 6 apresenta os amperogramas obtidos para injeções em triplicata de soluções contendo quercetina (a – f:  $27 - 72 \text{ mg L}^{-1}$ ) e amostra (g) adequadamente diluída no eletrólito de suporte.



(A)



(B)

**Figura 6.** (A) Amperograma obtidos no sistema BIA com detecção amperométrica após injeções em triplicata de seis soluções padrão contendo concentrações crescentes de quercetina (a – f:  $27 - 72 \text{ mg L}^{-1}$ ) e uma amostra de extrato de pimenta (g) devidamente diluída em eletrólito suporte. (B) Curva de calibração para a Quercetina. Outras condições ver Fig. 5.

A curva de calibração (Fig. 6B) apresentou boa linearidade na faixa de concentração estudada, com as seguintes equações de calibração:

Quercetina:  $i$  ( $\mu\text{A}$ ) =  $4,56846 \pm 1,38692 + 0,45796 \pm 0,02676 c$  ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $R = 0,9915$

As curvas analíticas crescente e decrescente das soluções padrão do flavonoide apresentaram baixo desvio em relação a inclinação da curva, isso comprova que mesmo com o uso da cronoamperometria (ausência de limpeza eletroquímica durante a análise) a contaminação do CDtrodo ou o efeito de memória foram evitados. A concentração de quercetina obtida nesse estudo foi de  $8,65 \pm 0,806 \text{ mg L}^{-1}$ . As características analíticas do método BIA para determinação de quercetina são mostradas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Características analíticas do método BIA-CA para quercetina.

Características	QUERCETINA
Faixa Linear ( $\text{mg L}^{-1}$ )	20 - 90
r	0,9915
LD ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$5,25 \times 10^{-6}$
LQ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$1,75 \times 10^{-5}$
Frequência analítica (injeções $\text{h}^{-1}$ )	150
DPR intradia(%) (n = 10)	7,53 e 3,25

r = coeficiente de correlação linear; LD = Limite de detecção ( $3 S_B/b$ ;  $S_B$  = desvio padrão do branco, n = 10, b = coeficiente angular da curva de calibração); LQ = Limite de quantificação ( $3,33 \text{ LD}$ ).

A comparação dos parâmetros analíticos obtidos por BIA-CA e por métodos disponíveis na literatura, que também descreveram a determinação quercetina, é apresentada na Tabela 2.

**Tabela 2.** Comparação entre as características analíticas do método proposto e métodos analíticos anteriores para a determinação de quercetina.

Técnica Analítica	Faixa Linear ( $\text{mg L}^{-1}$ )	r	LD ( $\text{mg L}^{-1}$ )	DPR (%)	F.A. ( $\text{h}^{-1}$ )	Ref.
<b>Voltametria por Adsorção</b>	0,5-200	0,997	0,132	9	nc	Abdullah et al., 2018
<b>Cromatografia Líquida de Alta eficiência</b>	0,05-100	nc	0,1	5,0	nc	Raja et al., 2014

<b>Voltametria cíclica e Pulso Diferencial</b>	0,050-1,097	0,999	0,004	1,76	nc	Saritha et al., 2019
<b>Microextração</b>	0,035-0,75	nc	0,0102	4,2	nc	Altunay et al., 2019
<b>Extração de ponto de microuvem</b>	10-100	0,999	2,2	2,8	nc	Khani et al., 2019
<b>Voltametria cíclica</b>	0,006 – 0,332 e 0,03-3,023	0,999	0,000302	nc	nc	Ying Ji et al., 2020
<b>BIA-CA</b>	20-90	0,991	0,00525	<7,53	150	este

Nesta tabela 2 é possível notar que a faixa linear de trabalho e o limite de detecção que foram encontrados são maiores no BIA-CA que em trabalhos como de Abdullah e colaboradores (2018), Raja e colaboradores (2014) e Ying Ji e colaboradores (2020). Entretanto, comparada e analisada a precisão do método com o desvio padrão relativo, outras técnicas, na tabela exemplificada, valores menores são encontrados. Desta forma, a metodologia desenvolvida mostra que é possível quantificar quercetina em extratos de pimenta, apesar da quantidade significativamente baixa de quercetina nos extratos.

A faixa linear do método proposto é maior em relação às reportadas em alguns trabalhos anteriores (Ying Ji et al., 2020), (Altunay et al., 2019) e (Saritha et al., 2019). Por outro lado, O LD obtido é menor em relação à maioria das técnicas analíticas listadas, apresentando valor similar quando comparado ao método empregando voltametria cíclica e de pulso diferencial (Saritha et al., 2019). Na análise desse tipo de amostra (extrato de pimenta), baixos limites de detecção são necessários, uma vez que a concentração da quercetina pode estar em níveis mínimos. Além disso, o método de BIA-CA é mais rápido (~150 injeções h<sup>-1</sup>) e gera menor quantidade de resíduo por análise. Mais de 200 injeções são possíveis sem a troca da solução do interior da célula BIA (~150 mL).

#### 4.6. Conclusões

Foi demonstrado pela primeira vez a possibilidade do uso de um método eletroquímico baseado em BIA-CA para a determinação de quercetina em amostras de extratos de pimenta *var. biquinho* usando CDtrodo de ouro. Esse sistema demonstrou características positivas como: baixo custo de operação, preparação da amostra simplificada (dissolução e diluição), alta frequência analítica (~150 injeções h<sup>-1</sup>), alta precisão (DPR < 7,53%), baixos limites de detecção e quantificação (5,25 e 17,5 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente), mínimo consumo de reagentes e amostras, gerando assim menor quantidade de resíduos. Adicionalmente, pelas suas características portáteis, o método proposto possui grande potencial para ser utilizado em laboratórios com infraestrutura mínima.

#### 4.7. Declaração de interesse concorrente

Os autores declaram que não têm interesses financeiros concorrentes ou relacionamentos pessoais que possam parecer influenciar o trabalho relatado neste artigo.

#### 4.8. Agradecimentos

Esta pesquisa foi realizada com o apoio do laboratório de Microfluídica e Eletroforese da Universidade Federal Goiás situada em Goiânia, Brasil, além da fabricação da célula eletroquímica usada no experimento e no laboratório de Materiais e Eletroanalítica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, Brasil. Contou com a parceria do laboratório de Produtos Naturais para a disponibilidade das amostras do mesmo Instituto Federal. As análises de cromatografia líquida de alta eficiência e microscopia eletrônica de varredura foram realizadas pelo Centro Regional para O desenvolvimento Tecnológico – CRTI.

#### 4.9. Referências

AGUIAR, A. C.; MACHADO, A. P. F.; ANGOLINI, C. F. F.; MORAIS, D. R.; BASEGGIO, A. M.; EBERLIN, M. N.; MARÓSTICA JR, M. R.; MARTÍNEZ, J. Sequential high-pressure extraction to obtain capsinoids and phenolic compounds from biquinho pepper (*Capsicum chinense*). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 150, p. 112-121, 2019.

ANGNES, L. RICHTER, E. M.; AUGELLI, M. A.; KUME, G. H. Gold electrodes from recordable CDs. **Analytical Chemistry**, v 72, n 21, p 5503-5506, 2000.

ARAÚJO JR, R. F.; ARAÚJO, A. A.; PESSOA, J. B.; FREIRE NETO, F. P.; SILVA, G. R.; OLIVEIRA, A. L. C. S.; CARVALHO, T. G.; SILVA, H. F. O.; EUGÊNIO, M.; SANT'ANNA, C.; GASPAROTTO, L. H. S. Anti-inflammatory, analgesic and anti-tumor properties of gold nanoparticles. **Pharmacological Reports**, v. 69, n 1, p. 119-129, p. 2017.

CHONDROGIANNI, N.; KAPETA, S.; CHINO, I.; VASSILATOU, K.; PAPASSIDERI, I.; GONOS, E. S. Anti-ageing and rejuvenating effects of quercetin. **Experimental Gerontology**, v. 45, n 10, p. 763-771, 2010.

FOGUEL, M. V.; ULIANA, C. V.; TOMAZ, P. R. U.; MARQUES, P. R. B. O.; YAMANAKA, H.; FERREIRA, A. A. P. Avaliação da limpeza de CD trodo construídos a partir de CD de ouro gravável/fita adesiva de galvanoplastia. **Eclética Química**, v. 34, n. 2, p. 59-66, 2009.

FOGUEL, M. V.; dos SANTOS, G. P.; FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H.; BENEDETTI, A. V. Amperometric Immunosensor for Chagas' Disease Using Gold CD-R Transducer. **Electroanalysis**, v 23, n 11, 2011.

GUSS, K. L.; PAVANNI, S.; PRATI, B.; DAZZI, L.; OLIVEIRA, J. P.; NOGUEIRA, B. V.; PEREIRA, T. M. C.; FRONZA, M.; ENDRINGER, D. C.; SCHERER, R. Ultrasound – assisted extraction of *Achyrocline satureioides* prevents contrast-induced nephropathy in mice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 37, p. 368-374, 2017.

GRANATO, M.; RIZZELLO, C.; MONTANI, M. S. G.; CUOMO, L.; VITILLO, M.; SANTARELLI, R.; GONNELLA, R.; D' ORAZI, G.; FAGGIONI, A.; CIRONE, M. Quercetin induces apoptosis and autophagy in primary effusion lymphoma cells by inhibiting PI3K/AKT/mTOR and STAT3 signaling pathways. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 41, p. 124-136, 2017.

HATAHET, T.; MORILLE, M.; SHAMSEDDIN, A.; AUBERT-POUËSSEL, A.; DEVOISSELLE, J. M.; BÉGU, S. Dermal quercetin lipid nanocapsules: Influence of the formulation on antioxidant activity and cellular protection against hydrogen peroxide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 518, n 1-2, p. 167-176, 2017.

HEŘMÁNKOVÁ, E.; ZATLOUKALOVÁ, M.; BILER, M.; SOKOLOVÁ, R.; BANCÍŘOVÁ, M.; TZAKOS, A. G.; KŘEN, V.; KUZMA, M.; TROUILLAS, P.; VACEK,



J. Redox properties of individual quercetina moieties. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 143, p. 240-251, 2019.

LIN, J.; TEO, L. M.; LEONG, L. P.; ZHOU, W. *In vitro* bioaccessibility and bioavailability of quercetin from the quercetina-fortified bread products with reduced glycemic potencial. **Food Chemistry**, v. 286, p. 629-635, 2019.

LÓPEZ, N.; DELSO, I.; MATUTE, D.; LAFUENTE, C.; ARTAL, M. Characterization of xylitol or citric acid: choline chloride: water maixtures: Structure, thermophysical properties, and quercetina solubility. **Food Chemistry**, v. 306, 125610, 2020.

MILANEZI, F. G.; MEIRELES, L. M.; SCHERER, M. M. C.; OLIVEIRA, J. P.; SILVA, A. R.; ARAUJO, M. L.; ENDRINGER, D. C.; FRONZA, M.; GUIMARÃES, C. C.; SCHERER, R. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of gold nanoparticles capped with quercetin. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [doi.org/10.1016/j.jsps.2019.07.005](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.07.005).

MILTONPRABU, S.; TOMCZYK, M.; SKALICKA-WOŹNIAK, K.; RASTRELLI, L.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. F.; ALAVIAN, S. M.; NABAVI, S. M. Hepatoprotective effect of quercetina: From chemistry to medicine. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 108, p. 365-374, 2017.

National Center of Biotechnology Information. Pub Chem Database. Quercetin, CID=5280343 <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin>>. Acesso em: 29 Ago. 2019.

NUMATA, Y.; TANAKA, H. Quantitative analysis of quercetin using Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v 126, n 2, p 751-755, 2011.

PEREIRA, F. P.; da SILVA, W. P.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. A simple and fast batch injection analisis method for simultaneous determination of phenazopyridine, sulfamethoxazole, and trimethoprim on boron-doped diamond electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 766, p. 87-93, 2016.

RAJA, M.; HERNÁNDEZ-REVELLES, J.; HERNÁNDEZ-CASSOU, S.; SAURINA, J. Determination of polyphenols in the pear pulp matrix by solvent extraction and liquid chromatography with UV-Vis detection. **Analytical Methods**, v 6, n 24, p 9769-9776, 2014.

RIBEIRO, G. A. C.; da ROCHA, C. Q.; VELOSO, W. B.; FERNANDES, R. N.; da SILVA, I. S.; TANAKA, A. A. Determination of the catechin contents of bioactive plant extracts using disposable screen-printed carbon electrodes in a batch injection analysis (BIA) system. *Microchemical Journal*, v 146, p 1249-1254, 2019.

RICHTER, E. M.; PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L. Square-Wave Quantification of Lead in Rainwater with Disposable Gold Electrodes Without Removal of Dissolved Oxygen. **Electroanalysis: An Internacional Journal Devoted to Fundamental and Pratical Aspects os Electroanalysis**, v 15, n 23-24, p 1871-1877, 2003.

RICHTER, E. M.; AUGELLI, M. A.; MAGAROTTO, S.; ANGNES, L. Compact disks, a new source for gold electrodes. Application to the quantification of copper by PSA. **Electroanalysis: An Internacional Journal Devoted to Fundamental and Pratical Aspects os Electroanalysis**, v 13, n 8-9, p 760-764, 2001.

RICHTER, E. M.; AUGELLI, M. A.; KUME, G. H.; MIOSHI, R. N.; ANGNES, L. Gold electrodes from recordable CDs for mercury quantiofication by flow injection analysis. **Fresenius' journal of analytical chemistry**, v 366, n 5, p 444-448, 2000.

SARITHA, D.; KOIRALA, A. R.; VENU, M.; DINNESWARA REDDY, G.; VIJAYA BHASKAR REDDY, A.; SITARAM, B.; MADHAVI, G.; ARUNA, K. A simple, highly sensitive and stable electrochemical sensor fot the detection of quercetina in solution, onion and honey buckwheat using zinc oxide supported on carbon nanosheet (ZnO / CNS / MCPE) modified carbon paste electrode. **Electrochemical Acta**, v. 313, p. 523-531, 2019.

STUART, E. JE; TSCHULIK, K. LOWINSOHN, D.; CULLEN, JT; COMPTON, RG. Gold electrodes from recordable CDs for the sensitive, semi-quantitative detection of commercial silver nanoparticles in seawater media. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v 195, p 223-229, 2014.

TANG, S. M.; DENG, X. T.; ZHOU, J.; LI, Q. P.; GE, X. X.; MIAO, L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 121, 109604, 2020.

TIMBOLA, A. K.; SOUZA, C. D.; GIACOMELLI, C.; SPINELLI, A. Electrochemical oxidation of quercetin in hydro-alcoholic solution. **Journal of the Brazilian**

**Chemical Society**, v. 17, n. 1, p. 139-148, 2006.

TORMIN, T. F. **Análise por injeção em batelada associada à detecção amperométrica: desenvolvimento de métodos rápidos para a determinação de antioxidantes em biodiesel**. 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) apresentada a Universidade Federal de Uberlândia – Campus Santa Mônica, Uberlândia, 2012.

XU, L.; PAN, M.; FANG, G.; WANG, S. Carbon dots embedded metal-organic framework @ molecularly imprinted nanoparticles for highly sensitive and selective detection of quercetin. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v 286, p 321-327, 2019.

YONG, H.; BAI, R.; BI, F.; LIU, J.; QIN, Y., LIU, J. Synthesis, characterization, antioxidant and antimicrobial activities of starch aldehyde – quercetina conjugate. **International Journal of Biological Macromolecules**, <https://doi-org.ez369.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.035>, 2020.

WATSON, D. G.; OLIVEIRA, E. J. Solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry determination of kaempferol and quercetin in human urine after consumption of *Ginkgo biloba* tablets. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v 723, n 1-2, p 203-210, 1999.

ZAPLATIC, E.; BULE, M.; SHAH, S. Z. A.; UDDIN, M. D. S.; NIAZ, K. Molecular mechanisms underlying protective role of quercetina in attenuating Alzheimer's disease. **Life Sciences**. v. 224, n. 1, p. 109-119, 2019.

## 5. CONCLUSÃO GERAL

O presente trabalho demonstrou com sucesso a utilização da técnica análise por injeção em batelada com detecção cronoamperométrica (BIA-CA), empregando CDtrodo de ouro como eletrodo de trabalho, para determinação de quercetina em extratos de pimenta *var. biquinho*. Os estudos propostos apresentaram bons resultados em relação à sensibilidade, seletividade e repetibilidade (DPR <7,53%), mesmo usando um eletrodo não comercial (CDtrodo). O método desenvolvido apresenta inúmeras vantagens em relação aos outros métodos disponíveis na literatura, tais como: simplicidade, portabilidade, alta frequência

analítica (150 injeções  $h^{-1}$ ), baixo custo (de aquisição e manutenção), etapas simples de preparo das amostras (somente dissolução e/ou diluição), ecologicamente sustentável (menor descarte e consumo de amostra e reagentes, além do uso de materiais alternativos para a construção dos eletrodos) e potencialidade para ser empregado em análises fora do laboratório (em campo). As inúmeras vantagens do sistema BIA-CA permitem que empresas com menor poder aquisitivo possam implantar estas metodologias de controle de qualidade, pois os custos de aquisição, de operação e de manutenção são consideravelmente inferiores, além da instrumentação ser adaptável em laboratórios com mínima infraestrutura.