



A GERAÇÃO DE NOVOS CONHECIMENTOS NA QUÍMICA 2

Eleonora Celli Carioca Arenare
(Organizadora)



Atena
Editora
Ano 2021

A GERAÇÃO DE NOVOS CONHECIMENTOS NA **QUÍMICA 2**

Eleonora Celli Carioca Arenare
(Organizadora)

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Elói Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Pablo Ricardo de Lima Falcão – Universidade de Pernambuco
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Ribeiro Simon Cavalcanti – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federacl do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Sidney Gonçalves de Lima – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Edna Alencar da Silva Rivera – Instituto Federal de São Paulo
Profª Drª Fernanda Tonelli – Instituto Federal de São Paulo,
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miraniide Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Profª Ma. Adriana Regina Vettorazzi Schmitt – Instituto Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Profª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Profª Drª Andrezza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Me. Carlos Augusto Zilli – Instituto Federal de Santa Catarina
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná
Profª Drª Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa

Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Edson Ribeiro de Britto de Almeida Junior – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará
Prof. Me. Francisco Sérgio Lopes Vasconcelos Filho – Universidade Federal do Cariri
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFGA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenología & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Lilian de Souza – Faculdade de Tecnologia de Itu
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lúvia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Profª Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz
Profª Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Me. Luiz Renato da Silva Rocha – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos

Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Dr. Pedro Henrique Abreu Moura – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Profª Drª Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Rafael Cunha Ferro – Universidade Anhembi Morumbi
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Renan Monteiro do Nascimento – Universidade de Brasília
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Profª Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

A geração de novos conhecimentos na química 2

Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Maria Alice Pinheiro
Correção: Maiara Ferreira
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadora: Eleonora Celli Carioca Arenare

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

G354 A geração de novos conhecimentos na química 2 /
Organizadora Eleonora Celli Carioca Arenare. – Ponta
Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-170-8

DOI 10.22533/at.ed.708212206

1. Química. I. Arenare, Eleonora Celli Carioca
(Organizadora). II. Título.

CDD 540

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

APRESENTAÇÃO

A proposta implícita nessa coletânea fundamenta-se numa valorização eclética da pluralidade e diversidade, que reúne pesquisas que envolvem diversas linhas de abordagem, destacando-se por meio de tendências de estudos envolvendo a Ciência “Química”. Tendo como propósito principal disseminar e divulgar no meio acadêmico, envolvido com tal Ciência, informações provenientes de estudos e pesquisas desenvolvidas pela comunidade acadêmica contemporânea.

O e-book “A Geração de Novos Conhecimentos na Química”, está dividido em dois volumes, totalizando 46 artigos científicos, destacando-se temáticas pesquisadas e discutidas por estudantes, professores e pesquisadores. Os quais evidenciam, artigos teóricos e pesquisas de campo, abrangendo a linha de Ensino e diversas outras linhas de estudo, que se desenvolveram por meio de pesquisas laboratoriais.

O volume I aborda tendências, envolvidos com a área de Ensino de Química, os quais dão ênfase as seguintes abordagens: Ensino Remoto, Experimentação, Concepções Pedagógicas, Bioinformática, Contextualização, Jogos Lúdicos, Redes Sociais, Epistemologia, Formação de Professores, Habilidades e Competências e Metodologias utilizadas no processo de Ensino e Aprendizagem.

O volume II aborda temáticas de cunho experimental, desenvolvidas e comprovadas por meio das análises desenvolvidas em diferentes universidades brasileiras, dando ênfase à: Química Inorgânica, Eletroquímica, Química Orgânica, Química dos Alimentos, Quimiometria, Química Analítica, Química Biológica, Nanoquímica e Processos Corrosivos.

A coletânea é indicada para àqueles (estudantes, professores e pesquisadores) envolvidos com a Ciência “Química”, que anseiam por intermédio de informações atualizadas, apropriarem-se de novas informações, correlacionadas a pesquisas acadêmicas, tendo desta forma, novas bases de estudo e investigação para a aquisição e construção de novos conhecimentos.

Excelente leitura!

Eleonora Celli Carioca Arenare

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ANÁLISE BROMATOLÓGICA DO ÓLEO DE COCO (*Cocos nucifera* L.) E DO ÓLEO DE ABACATE (*Persea americana* Mill.)

Natasha Alves Rocha
Valdiléia Teixeira Uchôa
Camila Alves Rocha
Maria Karina da Silva
Maciel Lima Barbosa
Caroline Maria Vasconcelos Paz Ramos
Luis Fernando Guimarães Noletto
Penina Sousa Mourão
Francisco Henrique Pereira Lopes
Camila da Silva Ibiapina
Aline Estefany Brandão Lima
Marta Silva de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.7082122061

CAPÍTULO 2..... 14

APLICAÇÃO DO FILME DE SILANOS VS/GPTMS MODIFICADOS COM A CASCA DO ALHO PARA A PROTEÇÃO CONTRA A CORROSÃO DO AÇO GALVANIZADO

Iago Magella Fernandes Costa Rossi e Silva
Lhaira Souza Barreto
Mirian Sanae Tokumoto
Fernando Cotting
Franco Dani Rico Amado
Vera Rosa Capelossi

DOI 10.22533/at.ed.7082122062

CAPÍTULO 3..... 26

AVALIAÇÃO DA COMPLEXAÇÃO ENTRE SACARINA E MÔNOMERO ORGÂNICO - INORGÂNICO POR TITULAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

Izabella Fernanda Ferreira Domingues
Camila Santos Dourado
Jez Willian Batista Braga
Ana Cristi Basile Dias

DOI 10.22533/at.ed.7082122063

CAPÍTULO 4..... 36

AVALIAÇÃO DE USO DE FIBRAS DA AMAZÔNIA PARA REFORÇO EM COMPÓSITOS DE MATRIZ POLIÉSTER

Syme Regina Souza Queiroz
José Maria Braga Pinto
Vanessa Maria Yae do Rosario Taketa
Nilton Cesar Almeida Queiroz
Emerson Rodrigues Bastos Junior
Vera Lúcia Dias da Silva

DOI 10.22533/at.ed.7082122064

CAPÍTULO 5	45
AÇÃO INIBIDORA DA CAFEÍNA CONTRA A CORROSÃO DO AÇO CARBONO SAE 1020 EM MEIO DE CLORETO DE SÓDIO	
Diene de Barros Ferreira	
Felipe Staciaki da Luz	
Gideã Taques Tractz	
Guilherme Arielo Rodrigues Maia	
Letícia Fernanda Gonçalves Larsson	
Paulo Rogério Pinto Rodrigues	
Everson do Prado Banczek	
DOI 10.22533/at.ed.7082122065	
CAPÍTULO 6	55
CATÁLISE NA QUÍMICA FINA: SÍNTESE DE ÁCIDO BENZÓICO PELA OXIDAÇÃO DO ÁLCOOL BENZÍLICO SOBRE NANOPARTÍCULAS DE OURO SUPORTADAS EM Sr(OH)₂-SrCO₃@CoFe₂O₄	
Pelry da Silva Costa	
Jussara Moraes da Silva	
Itaciara Erliny Maria da Silva Melo	
Carla Verônica Rodarte de Moura	
Edmilson Miranda de Moura	
DOI 10.22533/at.ed.7082122066	
CAPÍTULO 7	69
DETERMINATION OF LODENAFIL CARBONATE BY SQUARE-WAVE CATHODIC STRIPPING VOLTAMMETRY	
Jonatas Schadeck Carvalho	
Sueli Pércio Quináia	
DOI 10.22533/at.ed.7082122067	
CAPÍTULO 8	81
DESENVOLVIMENTO DE BIOFILMES PARA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DA LARANJA PÊRA	
Taís Port Hartz	
DOI 10.22533/at.ed.7082122068	
CAPÍTULO 9	85
DETERMINAÇÃO DE TEMPERATURA DE TORRA POR ANÁLISE TÉRMICA	
Francisco Raimundo da Silva	
Weverton Campos Nozela	
Diógenes dos Santos Dias	
Clóvis Augusto Ribeiro	
DOI 10.22533/at.ed.7082122069	
CAPÍTULO 10	96
DETERMINAÇÃO POR GC-MS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS VOLÁTEIS EM GALHOS E FOLHAS DE MANSOA HIRSUTA	
Nayra Micaeli dos Santos Sousa	

Patrícia e Silva Alves
Paulo Sousa Lima Junior
Joaquim Soares da Costa Junior
Christian Rilza Silva de Melo
Nerilson Marques Lima
Antônia Maria das Graças Lopes Citó
Teresinha de Jesus Aguiar dos Santos Andrade

DOI 10.22533/at.ed.70821220610

CAPÍTULO 11..... 104

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS POR CLAE-DAD E UV-Vis PARA QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES NAS FOLHAS DE TRIPLARIS GARDNERIANA WEDD. (POLYGONACEAE)

Sandra Kelle Souza Macêdo
Emanuela Chiara Valença Pereira
Isabela Araújo e Amariz
David Fernandes Lima
Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida
Larissa Araújo Rolim
Xirley Pereira Nunes

DOI 10.22533/at.ed.70821220611

CAPÍTULO 12..... 130

ESTUDO DA ADSORÇÃO DE ÍONS A NANOPARTÍCULAS DE FERRITA DE COBALTO CoFe_2O_4

Caio Carvalho dos Santos
Wesley Renato Viali
Eloiza da Silva Nunes Viali
Miguel Jafelicci Júnior
Rodrigo Fernando Costa Marques

DOI 10.22533/at.ed.70821220612

CAPÍTULO 13..... 142

ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DE HIDROLISADOS DE BSG NA SUBSTITUIÇÃO DA SOJA COMO PROTEÍNA VEGETAL ADICIONADA

Suyanne Teske Pires
Rodrigo Geremias

DOI 10.22533/at.ed.70821220613

CAPÍTULO 14..... 150

FILMES DE AMIDO/QUITOSANA ADICIONADOS DE FIBRAS E CRITAIS DE NANOCELULOSE OBTIDOS DE RESÍDUOS AGRÍCOLAS

Renata Paula Herrera Brandelero
Evandro Martim Brandelero
Guilherme Landim Santos

DOI 10.22533/at.ed.70821220614

CAPÍTULO 15..... 161

FOTOCATALISADORES À BASE DE d-FeOOH E NiO: ESTUDO EXPERIMENTAL E ASPECTOS TEÓRICOS

Mariana de Rezende Bonesio
Francisco Guilherme Esteves Nogueira
Daiana Teixeira Mancini
Teodorico de Castro Ramalho

DOI 10.22533/at.ed.70821220615

CAPÍTULO 16..... 163

RHODAMINE B PHOTODEGRADATION OVER Ag_3PO_4 /SBA-15 UNDER VISIBLE RADIATION BASED ON WLEDS LIGHT

Luis Fernando Guimarães Noletto
Francisco Henrique Pereira Lopes
Vitória Eduardo Mendes Vieira
Marta Silva de Oliveira
Maria Karina da Silva
Camila da Silva Ibiapina
Caroline Maria Vasconcelos Paz Ramos
João Ferreira da Cruz Filho
Lara Kelly Ribeiro da Silva
Aline Estefany Brandão Lima
Maria Joseíta dos Santos Costa
Geraldo Eduardo da Luz Júnior

DOI 10.22533/at.ed.70821220616

CAPÍTULO 17..... 183

LACTOFERRINA: PROPRIEDADES ESTRUTURAS E SUAS FUNÇÕES BIOLÓGICAS

Edson Ferreira da Silva
Milena Bandeira de Melo
Marta Maria Oliveira dos Santos Gomes
Sonia Salgueiro Machado
Fabiane Caxico de Abreu Galdino

DOI 10.22533/at.ed.70821220617

CAPÍTULO 18..... 195

NANOFLUIDOS DE SULFETO DE COBRE

Caio Carvalho dos Santos
Wesley Renato Viali
Eloiza da Silva Nunes Viali
Miguel Jafelicci Júnior
Rodrigo Fernando Costa Marques

DOI 10.22533/at.ed.70821220618

CAPÍTULO 19.....207

NANOTUBOS DE TITANATO DE SÓDIO ($\text{Na}_x\text{H}_{2-x}\text{Ti}_3\text{O}_7$) OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

Isabela Marcondelli Iani
Rafael Aparecido Ciola Amoresi
Alexandre Zirpoli Simões
Glenda Biasotto
Maria Aparecida Zaghete
Elson Longo
Leinig Antonio Perazolli

DOI 10.22533/at.ed.70821220619

CAPÍTULO 20.....220

PRODUCTION OF ROD-LIKE MORPHOLOGY OF $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$ METAL-ORGANIC FRAMEWORKS USING ONE MINUTE SONICATION

Aline Geice Silva de Oliveira
Daniela Cordeiro Leite Vasconcelos
Peter George Weidler
Wander Luiz Vasconcelos

DOI 10.22533/at.ed.70821220620

CAPÍTULO 21.....231

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE CARBONO POR FIAÇÃO POR SOPRO A PARTIR DE POLIACRILONITRILA

Lais Angelice de Camargo
Monica Cristina Ferro Martins
José Manoel Marconcini
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

DOI 10.22533/at.ed.70821220621

CAPÍTULO 22.....237

PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES DE AMIDO TERMOPLÁSTICO NA PRESENÇA DE UREIA

João Otávio Donizette Malafatti
Thamara Machado de Oliveira Ruellas
Letícia Ferreira Lacerda Schildt
Marcelo Ávila Domingues
Bruna Santostaso Marinho
Mariana Rodrigues Meirelles
Elaine Cristina Paris

DOI 10.22533/at.ed.70821220622

CAPÍTULO 23.....250

QUÍMICA FORENSE: DESMISTIFICANDO AS ANÁLISES CRIMINALÍSTICAS CINEMATOGRAFICAS

Anna Maria Deobald
Maísa Silveira
Aline Machado Zancanaro

DOI 10.22533/at.ed.70821220623

CAPÍTULO 24.....263

REAÇÕES DE DESSULFURIZAÇÃO OXIDATIVA DO DIBENZOTIOFENO CATALISADA POR COMPLEXOS DE VANÁDIO, NIÓBIO E MOLIBDÊNIO

Carlos Taryk Bessa da Silva
Juliana Moreira Barreto
Paula Marcelly Alves Machado
Elizabeth Roditi Lachter

DOI 10.22533/at.ed.70821220624

CAPÍTULO 25.....274

SIMULAÇÕES DE DOCKING E DINÂMICA MOLECULAR NA BUSCA DE FÁRMACOS MODULADORES DO SISTEMA NEUROINFLAMATÓRIO EM INFECÇÕES PELO SARS-COV-2

Micael Davi Lima de Oliveira
Kelson Mota Teixeira de Oliveira
Jonathas Nunes da Silva

DOI 10.22533/at.ed.70821220625

CAPÍTULO 26.....296

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) COM LIGANTE FOSFÍNICO

Thais Castro Silva
Alessandra Stevanato
Adriana Pereira Duarte
Cláudio Rodrigo Nogueira
Janksyn Bertozzi
Valéria da Silva Cavania
Cristiana da Silva

DOI 10.22533/at.ed.70821220626

CAPÍTULO 27.....309

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO de Fe_3O_4/SiO_2 E SUA APLICAÇÃO NA MODIFICAÇÃO DE ELETRODO IMPRESSO DE CARBONO

Vanessa Cezar Ribas
Jacqueline Arguello da Silva
Thágor Moreira Klein
Larissa Leffa Fernandes
Vladimir Lavayen

DOI 10.22533/at.ed.70821220627

CAPÍTULO 28.....320

TUNGSTATO DE MAGNÉSIO ($MgWO_4$): UMA REVISÃO SOBRE OS MÉTODOS DE SÍNTESE

Vitória Eduardo Mendes Vieira
Luis Fernando Guimarães Noletto
Francisco Henrique Pereira Lopes
Marta Silva de Oliveira
Ester Pamponet Ribeiro

Keyla Raquel Batista da Silva Costa
Maria Karina da Silva
Caroline Maria Vasconcelos Paz Ramos
Maria Joséfa dos Santos Costa
Amanda Carolina Soares Jucá
Yáscara Lopes de Oliveira
Laécio Santos Cavalcante

DOI 10.22533/at.ed.70821220628

SOBRE A ORGANIZADORA.....	334
ÍNDICE REMISSIVO.....	335

CAPÍTULO 11

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS POR CLAE-DAD E UV-VIS PARA QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES NAS FOLHAS DE *TRIPLARIS GARDNERIANA* WEDD. (POLYGONACEAE)

Data de aceite: 01/06/2021

Xirley Pereira Nunes

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Recife, PE, Brasil

Colegiado de Pós-Graduação em Biociências
– Universidade Federal do Vale do São
Francisco, Petrolina, PE, Brasil

Sandra Kelle Souza Macêdo

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Recife, PE, Brasil

Emanuela Chiara Valença Pereira

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Recife, PE, Brasil

Isabela Araújo e Amariz

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Recife, PE, Brasil

David Fernandes Lima

Colegiado de Pós-Graduação em Biociências
– Universidade Federal do Vale do São
Francisco, Petrolina, PE, Brasil

Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Recife, PE, Brasil
Colegiado de Pós-Graduação em Biociências
– Universidade Federal do Vale do São
Francisco, Petrolina, PE, Brasil

Larissa Araújo Rolim

Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Recife, PE, Brasil
Colegiado de Pós-Graduação em Biociências
– Universidade Federal do Vale do São
Francisco, Petrolina, PE, Brasil

RESUMO: *Triplaris gardneriana* (Polygonaceae), conhecida no nordeste brasileiro como pajeú, possui várias atividades biológicas comprovadas, tais como, antioxidante, antimicrobiana, anticolinesterásica, fotoprotetora, entre outras. Devido a sua importância biológica da espécie, a química ganhou importância, evidenciando a presença de uma série de compostos, dentre eles, fenóis e flavonoides. Diante do interesse terapêutico destes compostos presentes na espécie, associada à necessidade de quantificação destes e a ausência de métodos analíticos validados para o seu doseamento, objetivou-se desenvolver e validar metodologias analíticas por espectrofotometria de absorção no ultravioleta/visível (UV/Vis) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) para sua quantificação nas folhas de *T. gardneriana*. O método por CLAE-DAD permitiu identificar e quantificar isoquercetina (87,88 $\mu\text{g/mL}$) e quercetina (5,12 $\mu\text{g/mL}$) no extrato etanólico. Enquanto que, o método por espectrofotometria UV-Vis quantificou os flavonoides totais (0,37 mg/mL) expressos em quercetina. Ambos os métodos analíticos garantiram rapidez, seletividade, linearidade ($R^2 > 0,99$), exatidão e precisão. Sendo assim, as metodologias propostas

atenderam a todos os requisitos indicados para validação de uma matriz vegetal e podem ser seguramente aplicadas para quantificação dos marcadores químicos e farmacológicos nas análises de controle de qualidade da espécie.

PALAVRAS - CHAVE: Pajeú. Isoquercetina. Quercetina. Controle de qualidade. Método analítico.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS BY HPLC-DAD AND UV-VIS FOR QUANTIFICATION OF FLAVONOIDS IN THE LEAVES OF *TRIPLARIS GARDNERIANA* WEDD. (POLYGONACEAE)

ABSTRACT: *Triplaris gardneriana* (Polygonaceae), known in northeastern Brazil as pajeú, has several proven biological activities, such as, antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, photoprotective, among others. Due to its biological importance of the species, chemistry gained importance, evidencing the presence of a series of compounds, among them, phenols and flavonoids. In view of the therapeutic interest of these compounds present in the species, associated with the need for their quantification and the absence of validated analytical methods for their measurement, the objective was to develop and validate analytical methodologies by ultraviolet / visible absorption spectrophotometry (UV / Vis) and by high performance liquid chromatography (HPLC-DAD) for its quantification in *T. gardneriana* leaves. The HPLC-DAD method allowed the identification and quantification of isoquercetin (87.88 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and quercetin (5.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in the ethanolic extract. While, the UV-Vis spectrophotometry method quantified the total flavonoids (0.37 mg/mL) expressed in quercetin. Both analytical methods guaranteed speed, selectivity, linearity ($R^2 > 0.99$), accuracy and precision. Thus, the proposed methodologies met all the requirements indicated for the validation of a plant matrix and can be safely applied to quantify the chemical and pharmacological markers in the quality control analyzes of the species.

KEYWORDS: Pajeú. Isoquercetin. Quercetin. Quality control. Analytical method.

1 | INTRODUÇÃO

O gênero *Triplaris* (Polygonaceae) compreende cerca de 25 espécies distribuídas especificamente nas Américas do Sul e Central (Hussein et al., 2005). Dentre as espécies, destaca-se a *Triplaris gardneriana* Wedd. conhecida no nordeste do Brasil como pajeú. Devido ao amplo espectro de atividades biológicas da espécie, a química ganhou importância, evidenciando a presença de uma série de compostos. Dentre eles, fenóis e flavonoides (Macêdo et al., 2015; Almeida et al., 2017; Lopes Neto et al., 2017), terpenos (Carneiro et al., 2010; Macêdo, 2015), esteroides (Braz Filho; Rodrigues, 1974; Macêdo et al., 2016), ácidos e álcoois graxos (Macêdo et al., 2016).

Recentemente, um estudo conseguiu identificar treze compostos fenólicos por CLAE-DAD-IES-EM nas folhas de *T. gardneriana*, incluindo procianidinas, flavanóis e flavonóis (Macêdo, 2020). Os compostos encontrados são quercetina-hexosídeo, quercetina-pentosídeo, quercetina-ramnobiósídeo, miricetina-hexosídeo, miricetina-pentosídeo,

dímero de procianidina, epi-catequina, galato de catequina, quercetina, rutina, quercitrina, isoquercetina, quercetina-*O*-(*O*-galoil)-hexosídeo, quercetina 3- α -L-arabinofuranosídeo e 2'-*O*-galoilquercitrina, dentre eles, a isoquercetina foi identificado como o composto majoritário (Macêdo, 2015, Macêdo et al., 2015; Paiva, 2018; Macêdo et al.; 2019; Macêdo, 2020).

Como exposto, a maioria dos metabólitos secundários identificados por CLAE-DAD e/ou CLAE-EM nas sementes e folhas de *T. gardneriana* foram os flavonóis, o que comprova que constituem a principal classe química da espécie, devido a sua maior distribuição. Corroborando também com outros estudos que evidenciaram essa afirmação, no qual, mostraram que os flavonóis poderiam ser considerados os marcadores químicos do gênero *Triplaris* (Oliveira, Conserva e Lemos, 2008; Hussein et al., 2005).

Diante do interesse terapêutico dos compostos flavonoidicos presente nessa espécie, associada à necessidade de quantificação destes, considerando que há apenas um método validado por CLAE-DAD para o doseamento da quercetina descrito na literatura para a espécie (Macêdo et al., 2019), faz-se necessário desenvolver e validar metodologias analíticas por espectrofotometria de absorção no ultravioleta/visível (UV/Vis) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) para sua quantificação.

Nessa perspectiva, a padronização de fitoterápicos e a garantia da sua eficácia e segurança requerem métodos analíticos adequados para a detecção e quantificação de seus marcadores (Ziliotto, Farina e Souza, 2012). A validação de metodologia analítica para fitoterápicos deve ser feita de acordo com o disposto nas Resoluções RE 899/03 e RDC 166/17 (Brasil, 2003; Brasil, 2017) e diretrizes da International Conference on Harmonization (ICH, 2005), nas quais, determinam que a validação de metodologias analíticas necessita ser específica, robusta, sensível, precisa e exata, constituindo fundamental importância para o controle de qualidade de matrizes vegetais e produtos oriundos delas.

Dessa forma, como o composto quercetina foi isolado das folhas de *T. gardneriana* (Macêdo, 2015; Macêdo et al., 2019) e a isoquercetina identificada como composto majoritário da espécie (Macêdo, 2020), este trabalho tem por objetivo desenvolver e validar métodos analíticos pela técnica CLAE-DAD para quantificar simultaneamente isoquercetina e quercetina, e também por espectrofotometria na região do UV-Vis para quantificação dos flavonoides totais, expressos em quercetina para que possa ser usada rotineiramente nos laboratórios de controle de qualidade das folhas de *T. gardneriana*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As folhas de *T. gardneriana* foram coletadas no município de Santa Maria da Boa Vista - Pernambuco, Brasil, em julho de 2013, localizado a 349 m de altitude (08 ° 47'59, 00 S, 039 ° 50 '42, 40 W). Uma exsicata da planta foi depositada no Herbário da Universidade

Federal do Vale do São Francisco (HVASF) sob registro 21221 e no SISGEN, sob registro nº A1C54A4.

2.2 Obtenção do extrato etanólico (Tg-EtOH)

O material vegetal foi submetido a um processo de secagem em estufa com circulação de ar a 45 °C durante cinco dias. Posteriormente, foi pulverizado em moinho de facas, obtendo-se material vegetal seco e pulverizado (100 g de pó seco). Maceração exaustiva foi utilizada para preparar o extrato etanólico (Tg-EtOH), utilizando etanol a 95%, por 3 dias, realizando sucessivas extrações a cada 72 h. A solução extrativa foi concentrada em um evaporador rotativo sob pressão reduzida a 50 °C, obtendo-se 6 g do extrato etanólico de *T.gardneriana* (Tg-EtOH). Uma solução estoque a 1 mg/mL em metanol foi utilizada para iniciar os desenvolvimentos dos métodos analíticos.

2.3 Desenvolvimento do método analítico por CLAE-DAD

2.3.1 Instrumentação e condições cromatográficas

O método analítico foi desenvolvido e validado usando um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu® LC-20 com detector de arranjo de diodos (DAD), equipado com um sistema quaternário de bombas modelo LC - 20ADVP, degaseificador modelo DGU - 20A, detector PDA modelo SPD - 20AVP, forno modelo CTO - 20ASVP, injetor automático modelo SIL - 20ADVP e controlador modelo SCL - 20AVP, sendo os dados tratados através do software Shimadzu® LC solution 1.0 (Japão).

O método foi desenvolvido usando uma coluna de fase reversa (RP) C-18 Eclipse Plus da Agilent (4.6 x 250 mm, 5 µm) mantida a 30°C. A fase móvel utilizada foi um gradiente de solvente: 0,3% de ácido fórmico diluído em água ultrapurificada como solvente A e metanol como solvente B. O fluxo empregado foi de 0,8 mL/min com o gradiente a seguir (A%:B%): 0 min (80:20), 3 min (80:20), 10 min (65:35), 20 min (50:50), 30 min (30:70), 45 min (30:70), 50 min (80:20) e 55 min (80:20). As análises foram realizadas em triplicata, nos quais foram injetados 20 µL de solução de Tg-EtOH e feito o monitoramento no comprimento de onda de 370 nm. Todas as soluções foram degaseificadas e filtradas através de membrana filtrante de 0,45 µm (Chromafil® Xtra), antes de serem analisadas no cromatógrafo.

2.3.2 Substancias Químicas de Referência

Foram utilizadas no desenvolvimento da impressão digital cromatográfica vinte e três Substancias Químicas de Referência (SQRs). Dentre eles, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico, ácido protocatecuico, ácido tânico, apigenina, crisina, fisetina, hesperidina, isoquercetina, campferol, lupeol, miricetina, narigenina, quercetina, resveratrol, rutina, escopoletina, cisilol, β-sistoterol glicosilado, harmana e hesperitina foram adquiridos comercialmente da Sigma Aldrich®.

2.3.3 Identificação de compostos por CLAE-DAD

Foram analisados 23 SQRs (Tabela 6), individualmente, para investigar sua presença no extrato etanólico de *T. gardneriana* empregando o método cromatográfico determinado. Os padrões foram diluídos em metanol, sendo a concentração final de 200 µg/mL e injetados 5 µL. Após análise, foi realizada uma comparação entre as substâncias investigadas e os picos encontrados no cromatograma obtido a partir do extrato etanólico da droga vegetal. Os picos foram confirmados por comparação do seu tempo de retenção e por espectros de DAD ($\lambda_{\text{máx}}$), ambos avaliados no comprimento de onda 370 nm, exceto ácido tânico e β -sisterol glicosilado que foram analisados em 255 nm.

2.4 Validação do método analítico por CLAE-DAD

Para a validação do método analítico para o extrato etanólico obtido das folhas e a quercetina (SQR), os seguintes parâmetros foram avaliados: seletividade, linearidade, limite de detecção e limite de quantificação, precisão (repetitividade e precisão intermediária) exatidão e robustez, de acordo com os padrões estabelecidos pela RE nº 166/17 da ANVISA (Brasil, 2017) e diretrizes da International Conference on Harmonization (ICH, 2005). As análises foram realizadas em triplicata e a confiabilidade dos parâmetros foi avaliada por meio da análise do coeficiente de variação (CV%) ou desvio padrão (DP), não sendo admitidos acima de 5% para padrões analíticos e 15% para extratos vegetais (Brasil, 2003). Os dados foram tratados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) *one-way* e *two-way*, quando aplicável com um nível de significância de 95%. Análise estatística e gráficos foram obtidos em OriginPro8® e/ou Excel®.

2.4.1 Parâmetros de validação

2.4.1.1 Seletividade

A seletividade foi demonstrada pela análise de uma solução a 1000 µg/mL de uma solução metanólica do extrato etanólico de outra espécie, a *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill, sob as mesmas condições cromatográficas do extrato em estudo e as substâncias de referência quercetina e isoquercetina. Esse parâmetro foi verificado através da sobreposição dos cromatogramas obtidos relacionando aos tempos de retenção e espectros de UV dessas substâncias.

2.4.1.2 Linearidade

A linearidade foi verificada a partir da análise de três curvas construídas com a solução do extrato etanólico em metanol grau HPLC, em sete níveis de concentração: 250; 500; 750; 1000; 1500; 1750 e 2000 µg/mL a partir de uma solução estoque de 5 mg/mL, correspondendo 80 a 120% da faixa de trabalho. Os padrões analíticos também foram

avaliados em uma série de concentrações. Entretanto, a QUE e ISO variaram de 0,5 a 50 µg/mL a partir de uma solução estoque de 500 µg/mL. As amostras foram sonicadas em ultrassom por 6 min para facilitar a solubilização do processo. Os testes foram realizados em triplicata para obter a curva de calibração da média desses valores. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente através do cálculo de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, a fim de definir o coeficiente de determinação (R^2). Adicionalmente, realizou-se a análise de resíduo na regressão da curva analítica.

2.4.1.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estimados de acordo com as equações:

$$LD = DP_a \times 3/IC \quad (1)$$

$$LQ = DP_a \times 10/IC \quad (2)$$

Onde DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo Y, obtido das três curvas da linearidade e IC é a média dos coeficientes angulares (inclinação da reta) das respectivas curvas (Brasil, 2017).

2.4.1.4 Precisão

A precisão foi determinada por análises em sextuplicatas na concentração do ponto médio da curva (1000 µg/mL). A precisão foi avaliada em dois níveis: repetitividade (precisão intracorrída) e precisão intermediária (precisão inter-corrídas), por analistas distintos em dois dias consecutivos, sendo expressas como coeficiente de variação (CV%) segundo a equação $CV = DP/CMD$, em que DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada. (Brasil, 2017).

2.4.1.5 Exatidão

A exatidão do método cromatográfico foi determinada por análises em triplicata de três soluções do extrato e quercetina (QUE) em diferentes faixas de concentração, sendo uma em baixa (250), média (1000) e alta (2000 µg/mL) para o extrato e 0,5; 20 e 50 µg/mL para a QUE. A exatidão E(%) foi expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. A exatidão também foi avaliada pela taxa de recuperação a partir da adição do analito (QUE) de concentração conhecida no extrato nas concentrações 250, 1000, 2000 µg/mL, adicionou-se 10, 25 e 50 µL de quercetina (20 µg/mL), respectivamente. Calculou-se a taxa de recuperação R(%) das quantidades de analito adicionadas na amostra através da equação:

$$R(\%) = \frac{CTQ - CQE}{CT} \times 100$$

Onde, CTQ compreende a concentração total de QUE (padrão QUE adicionado ao extrato de *T. gardneriana*), CQE compreende a concentração de QUE existente no extrato e CT a concentração teórica do padrão QUE. R(%) é a recuperação obtida (Brasil, 2017).

2.4.1.6 Robustez

A robustez do método cromatográfico foi observada mediante variações ocasionadas no método original no fluxo (0,6 e 1,0 mL/min) e na temperatura do forno da coluna (28 e 32 °C). Os dados obtidos foram comparados com os do método original proposto mediante comparação feita através da análise de variância.

2.5 Desenvolvimento do método analítico por espectrofotometria no UV-Vis

2.5.1 Procedimento geral para quantificação de flavonoides totais

A análise foi realizada no espectrofotômetro com detector UV-Vis modelo IL -592 (EVEN®) utilizando-se cubetas de vidro com 1 cm de caminho ótico. Inicialmente, foi preparada uma solução estoque (5 mg/mL) utilizando 0,5 g de Tg-EtOH obtido das folhas de *T. gardneriana*, que foi solubilizado em 10 mL de MeOH (correspondente a 10% do volume total) em seguida, sonicou-se por 10 minutos até a solubilização total sendo o volume ajustado para 100 mL água destilada. A partir da solução estoque foi preparada a solução trabalho a 1 mg/mL. A determinação de flavonoides totais seguiu-se a metodologia descrita por Macêdo et al. (2015), visto que, já foi utilizada para quantificar flavonoides totais nas folhas de *T. gardneriana*, com modificações.

Em cubetas, 0,30 mL dessa solução foi misturada com 1,50 mL de água destilada seguido da adição de 90 µL de uma solução de NaNO₂ 5%. Após 6 minutos, 180 µL de uma solução de AlCl₃.6H₂O 10% foi adicionada e deixou-se repousar durante 5 min. Em seguida, foi adicionado 600 µL de NaOH 1M. Por fim, adicionou-se 330 µL de água destilada e promoveu-se a homogeneização, procedimento com complexação (Tg-EtOH-PCC). Também foi feito esse mesmo procedimento sem complexação (Tg-EtOH-PSC), substituindo o AlCl₃ por água destilada. Imediatamente, realizou-se uma varredura espectrofotométrica na região de comprimentos de onda (λ) de 330 a 600 nm (de 5 em 5 nm) com o objetivo de identificar em qual comprimento de onda o extrato apresentava valores de absorvância máximos. Sendo então considerado como comprimento de onda adequado para quantificação de flavonoides totais expressos como mg de equivalentes de quercetina por grama de extrato em *T. gardneriana*. Utilizou-se como solução do branco apenas água destilada para substituir o extrato sendo a absorvância registrada.

2.5.2 *Desenvolvimento do método por UV-Vis*

Foram avaliados os seguintes parâmetros para desenvolvimento do método analítico: avaliação da cinética de complexação (0, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 min), concentração da solução de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2,5%, 5,0 % e 10% m/v) e volume da solução de cloreto de alumínio a 10% (m/v) (140, 160, 180 e 200 μL), conforme descrito a seguir.

2.5.3 *Determinação do tempo para leitura*

Para a determinação do tempo adequado de leitura, avaliou-se a cinética de complexação nos intervalos de 0, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 min, após adição de 180 μL da solução de AlCl_3 10% (m/v), no comprimento de onda adequado encontrado para o extrato com e sem os tempos de 5 e 6 min, conforme metodologia citada anteriormente.

2.5.4 *Concentração e volume da solução de cloreto de alumínio*

Foram preparadas três soluções de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ diluídas em água destilada com concentrações diferentes, uma baixa, média e alta (2,5%, 5,0 % e 10% m/v), a fim de analisar se a concentração do cloreto de alumínio influenciava na análise no tempo determinado. Volumes diferentes (140, 160, 180 e 200 μL) da solução de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de concentração escolhida também foram analisados.

2.6 **Validação do método analítico por UV-Vis**

Após definir os melhores parâmetros supracitados, iniciou-se o processo de validação do método analítico por UV-Vis. Para validação do procedimento analítico foram avaliados os mesmos parâmetros do método validado por CLAE-DAD, acrescentando a precisão por reprodutibilidade. A confiabilidade dos parâmetros avaliados foi observada pelo coeficiente de variação (CV%). Para cada parâmetro avaliado, foi determinado um CV% menor que 5% para o padrão e menor que 15% para o extrato (Brasil, 2003) e tratados estatisticamente por Análise de Variância (ANOVA) *one-way* ou *two-way*, quando aplicável, com um nível de significância de 95%.

2.6.1 *Seletividade*

Esse parâmetro foi verificado através da sobreposição dos espectros do padrão quercetina (0,25 mg/mL, concentrações mais altas estoura o pico de absorção) e amostras obtidas a partir de Tg-EtOH com e sem adição de AlCl_3 (10% m/v) obtidos no intervalo de comprimento de onda compreendido de 330 a 600 nm.

2.6.2 *Linearidade, limites de detecção e quantificação*

A linearidade foi verificada a partir da análise de três curvas construídas com a solução extrativa (5 mg/mL) diluída em sete níveis de concentrações: 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0;

2,5 mg/mL, visto que a partir da maior concentração ocorre o estouro do pico de absorção. As curvas foram construídas empregando-se os valores médios das absorbâncias obtidas a partir das triplicatas em cada nível de concentração testada, em função da concentração. Para quantificação de flavonoides em equivalentes de quercetina foi obtida uma curva de calibração para o padrão (5 mg/mL) diluída em seis níveis de concentração 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mg/mL, uma vez que, nestas concentrações não foi observado o estouro do pico de absorção. Os resultados foram tratados estatisticamente através do cálculo de regressão linear, com o objetivo de determinar a equação da reta e o coeficiente de determinação (R^2), sendo o valor mínimo aceitável $R^2 \geq 0,99$. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados da mesma forma que o método cromatográfico a partir as três curvas de linearidade (Brasil, 2017).

2.6.3 Precisão

A precisão do método foi avaliada nos níveis de repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A repetitividade foi verificada por seis determinações individuais de mesma concentração (0,5 mg/mL). Para o parâmetro precisão intermediária, foi realizada da mesma forma, em sextuplicata em triplicata ($n=18$), onde analisou a variação entre dois analistas em dois dias diferentes, ambas também na mesma concentração de 0,5 mg/mL. A reprodutibilidade foi realizada em espectrofotômetro UV distintos, EVEN® (modelo IL -592) e Nova Instruments® (modelo NOVA-1600 UV), utilizando triplicata da amostra a 1 mg/mL.

2.6.4 Exatidão

A exatidão foi avaliada através da taxa de recuperação, a partir da adição de uma quantidade conhecida de quercetina (QUE), flavonoide presente no Tg-EtOH. Preparou-se o procedimento com extrato a 1 mg/mL com complexação, no qual foi realizada a leitura e, posteriormente acrescentou-se 100 μ L da solução de QUE a 200 μ g/mL. O resultado da recuperação foi obtido pela equação: $R (\%) = \frac{CTF - CFE}{CFP} \times 100$, onde: R é a recuperação em porcentagem, CTF corresponde à concentração total de flavonoide (QUE) adicionada a solução do Tg-EtOH; CFE corresponde à concentração da QUE no Tg-EtOH e CFP corresponde à concentração teórica do padrão QUE.

2.7 Robustez

A robustez do método foi analisada a partir da variação dos fabricantes do solvente MeOH (Synth® e Dinâmica®-UV/HPLC) e dos comprimentos de ondas (463 e 467 nm). Os resultados foram expressos a partir da média de três determinações na concentração de 1 mg/mL.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desenvolvimento do método analítico por CLAE-DAD

Neste estudo, de forma preliminar, utilizou as condições da análise cromatográfica do método validado e utilizado por Macêdo et al., (2019) para identificar e quantificar a quercetina isolada das folhas de *T. gardneriana*, anteriormente. No entanto, no método analítico do nosso estudo, com a identificação por CLAE-DAD da isoquercetina, constituinte majoritário, utilizando um padrão analítico e com a confirmação por CLAE-EM em estudo anterior (Macêdo, 2020) foram feitas várias modificações obtendo-se um novo método cromatográfico eficaz para a identificação e quantificação da quercetina e da isoquercetina, simultaneamente em Tg-EtOH das folhas de *T. gardneriana* seguida da validação do método.

No método anterior a análise foi realizada com uma coluna de fase reversa C-18 de outro fornecedor em um tempo de análise menor (45 minutos), porém maior fluxo (1,0 mL/min) e temperatura (35 °C). O método do nosso estudo manteve a mesma fase móvel, porém modificou-se o gradiente da fase móvel para melhorar as resoluções entre os picos, consequentemente, aumentou o tempo para 55 minutos. O fluxo foi baixado para 0,8 mL/min e a temperatura para 30 °C, parâmetro importante, que ao ser diminuído as chances de levar a degradação das moléculas são minimizadas. Pois, é sabido que o calor nem sempre pode ser empregado, já que muitas substâncias são instáveis em altas temperaturas durante o processo (Simões et al., 2010).

O cromatograma (Figura 1) obtido mostrou 6 picos bem resolvidos. Para identificar as substâncias presentes no extrato etanólico, 23 SQRs foram submetidos às mesmas condições. O tempo de retenção e os espectros UV obtidos dos padrões analíticos (Tabela 1) foram comparados com aqueles obtidos a partir de Tg-EtOH visando identificar as substâncias.

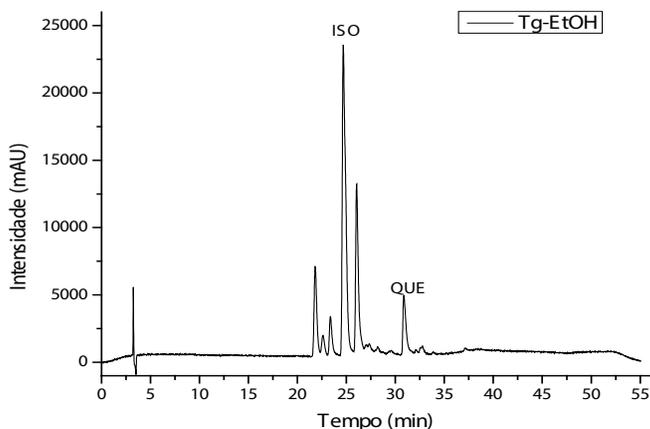


Figura 1. Cromatograma obtido a partir do extrato etanólico das folhas de *T. gardneriana* em 370 nm.

A partir da triagem utilizando os padrões analíticos (Tabela 1) foi possível identificar três substâncias. Uma delas, a quercetina (TR= 30,8 min), já isolada do extrato etanólico das folhas (Macêdo, 2015; Macêdo et al., 2019), também identificada atualmente, no extrato aquoso das folhas (Paiva, 2018) e extrato etanólico das sementes de *T. gardneriana* (Almeida et al, 2017). No cromatograma obtido a substância majoritária (TR= 24,6 min) foi identificada como isoquercetina ou rutina, praticamente no mesmo tempo de retenção e espectro de UV iguais como mostra a Tabela 1. Apenas pela análise por CLAE-DAD não seria possível confirmar qual substância seria. Porém, a partir de uma análise por CLAE-DAD-EM foi possível confirmar pela massa do composto m/z 464 u.m.a que corresponde a massa da isoquercetina (Macêdo, 2020), também identificada por CLAE-DAD nas sementes de *T. gardneriana* (Almeida et al, 2017).

SQRs	TR	$\lambda_{\text{máx}}$
Ácido gálico	5,0	202/271
Ácido clorogênico	13,6	213/325
Ácido cafeico	15,9	217/323
Ácido protocatecuico	19,8	199/343
Ácido <i>p</i> -cumárico	20,1	206/309
Ácido tânico	37,4	262/400/407
Resveratrol	25,2	206/305
Rutina	24,86	201/256/355
Isoquercetina	24,98	204/256/355
Miricetina	27,1	207/253/371
Fisetina	27,9	208/247/360

Quercetina	30,8	198/255/370
Kaempferol	33,8	198/265/366
Apigenina	34,5	213/267/338
Cisiliol	34,2	203/255/272/346
Crisina	39,0	198/267/313
Hesperidina	24,7	201/284
Hesperitina	31,96	205/231/288
Narigenina	31,0	200/230/289
Scopoletina	19,8	208/297/344
Sistoterol glicosilado	37,4	194/262/395
Lupeol	33,9	195/263/362
Harmana	16,8	218/243/300/365

*TR=Tempo de retenção; $\lambda_{\text{máx}}$ = Comprimento de onda máximo

Tabela 1. Resultados obtidos após análise dos padrões analíticos pelo método desenvolvido por CLAE-DAD para Tg-EtOH.

3.2 Validação do método analítico por CLAE-DAD

O desempenho do sistema cromatográfico selecionado foi avaliado de acordo com os parâmetros estabelecidos de acordo com a United States Food and Drug Administration (US-FDA, 2000): resolução entre picos que deve ser > 2 , no qual, indica o grau de separação entre duas substâncias; fator de cauda, referente à simetria dos picos que deve ser $\leq 2,0$; fator de retenção (k'), no qual, está relacionado à razão dos tempos que os analitos ficam na fase estacionária e fase móvel que deve ser > 2 ; e número de pratos teóricos, geralmente > 2000 , no qual, é uma indicação da eficiência da separação cromatográfica. Os valores desses parâmetros para o método desenvolvido foram calculados automaticamente pelo software do equipamento e todos estavam dentro dos limites especificados como mostrados na Tabela 2. Conforme descrito, a adequação do sistema foi comprovada através da análise dos parâmetros supracitados.

Amostra		Tempo de retenção (minutos)	Fator de retenção (k')	Fator de cauda	Resolução	Pratos teóricos (N)
Tg-EtOH	QUE	30,8	8,7	2,86	2,1	264795,825
	ISO	24,6	6,7	1,98	2,2	138646,027
QUE (SQR)		30,8	8,9	2,35	49,2	305698,838
ISO (SQR)		24,8	7,1	1,58	77,0	327326,353

Tabela 2. Parâmetros cromatográficos do método validado de *T. gardneriana* por CLAE-DAD.

A seletividade do método cromatográfico que se refere à capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de outros componentes na amostra foi demonstrado analisando-se a amostra de outra espécie, a *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill, nos quais, foram possíveis de observação dois picos cromatográficos nos tempos de retenções de 30,8 e 24,6 min, correspondentes aos picos da quercetina (QUE) e isoquercetina (ISO), respectivamente em ambos cromatogramas (Figura 2). No entanto, a isoquercetina não está presente no extrato de *J. mutabilis*. A confirmação da identidade da QUE e ISO se deu pela análise dos espectros de UV de ambos os extratos e dos padrões ISO e QUE, nos quais apresentam comprimentos de onda em absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) em 256/356 nm e 255/370 nm, respectivamente, conforme demonstrado na Figura 3 e 4.

A seletividade do padrão QUE foi comprovada a partir do método analítico em questão que consegue identificar e quantificar substâncias muito semelhantes separando-as em tempos de retenção diferentes, tais como o flavonol fisetina (TR= 27,9 min; $\lambda_{\text{máx}}$ =247/360 nm) que separa em tempo de retenção diferente da QUE, como mostrado na Tabela 1.

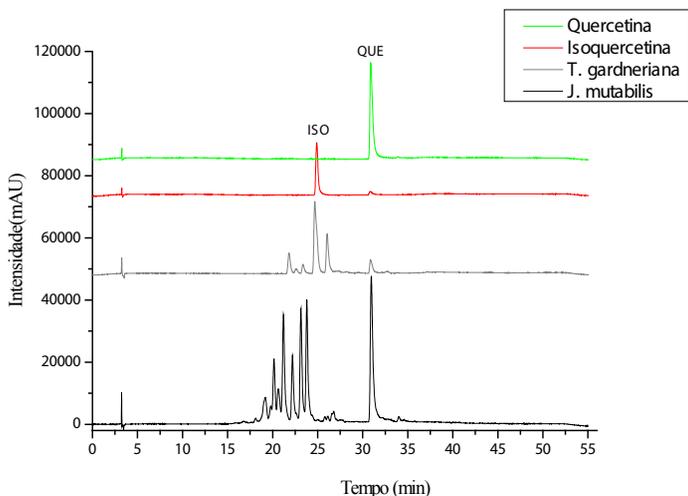


Figura 2. Seletividade do método com os padrões analíticos e as espécies *J. mutabilis* (Pohl) Baill e *T. gardneriana* em 370 nm.

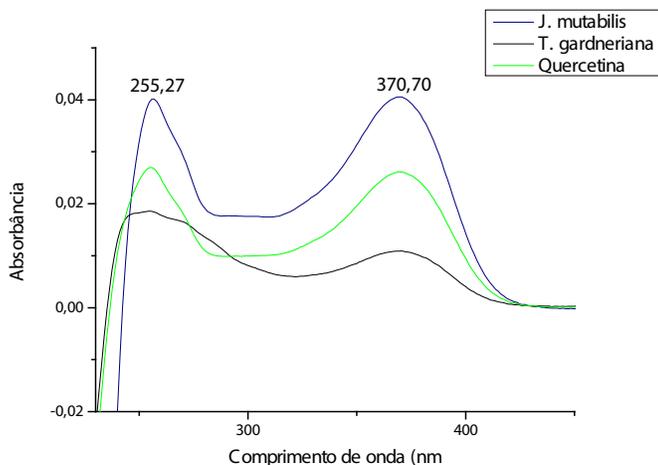


Figura 3. Espectros de absorvância no UV de *J. mutabilis*, *T. gardneriana* e da quercetina.

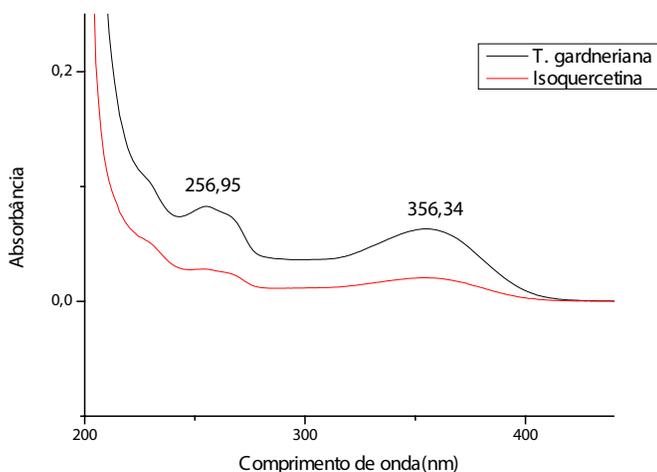


Figura 4. Espectros de absorvância no UV de *T. gardneriana* e da isoquercetina.

Para a linearidade do método cromatográfico, os coeficientes de determinações obtidos para a análise de regressão foram $R^2 > 0,99$ para o extrato e padrões como mostrados na Figura 5 e 6, comprovando que mais de 99% do método apresentou linearidade satisfatória entre o aumento da concentração de analito e a resposta cromatográfica. As curvas de calibração são lineares no intervalo de concentrações testadas para o extrato [250-2000 $\mu\text{g/mL}$] e padrões [0,5-50 $\mu\text{g/mL}$] correspondentes à faixa de 80-120% da concentração doseada de quercetina e isoquercetina na amostra. Além disso, a análise dos gráficos de resíduos obtidos das curvas mostraram-se homocedásticos. Dessa forma, a sensibilidade

do método foi determinada a partir das três curvas de calibração na determinação da menor concentração de QUE e ISO que podem ser detectadas (LD) e quantificadas (LQ). Sendo o LD= 2,05 µg/mL e LQ= 6,21 µg/mL para a QUE (SQR); LD= 0,47 µg/mL e LQ= 1,44 µg/mL para a ISO (SQR).

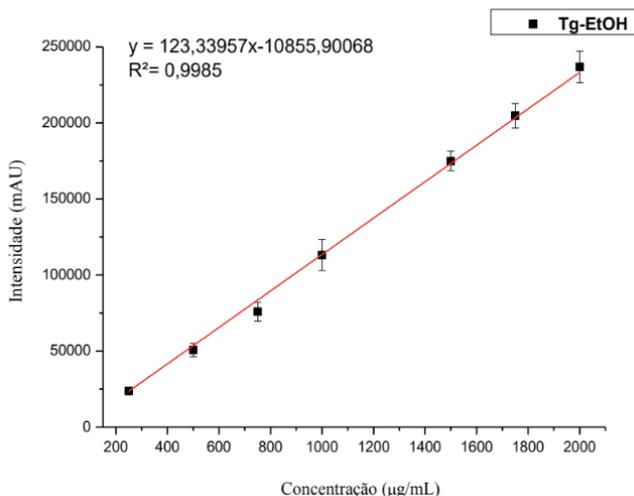


Figura 5. Representação gráfica da linearidade de Tg-EtOH obtido das folhas de *T. gardneriana*.

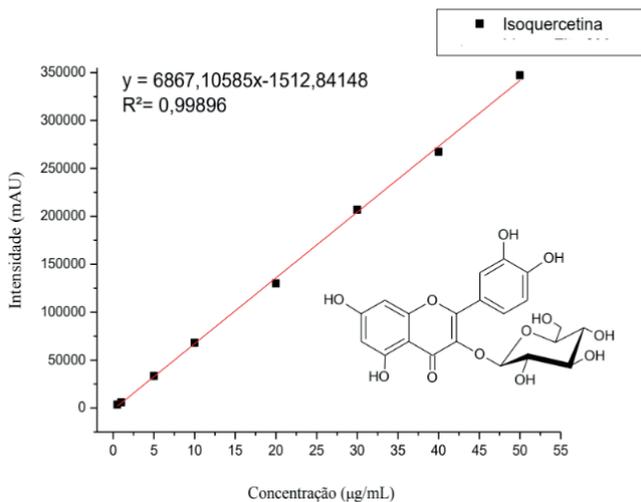
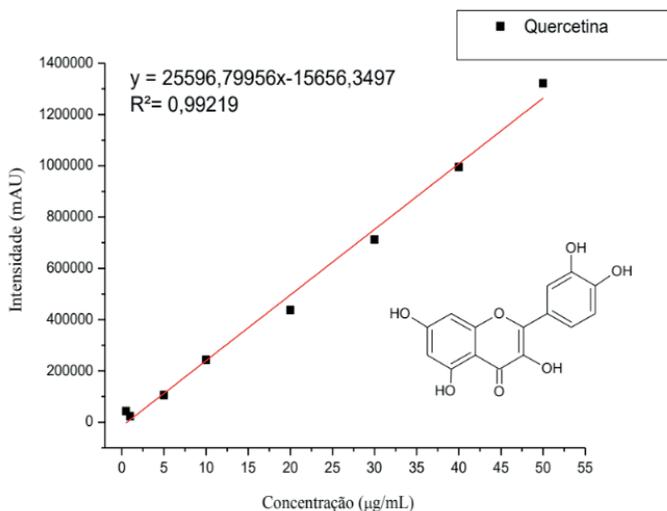


Figura 6. Representação gráfica da linearidade dos padrões analíticos isoquercetina e quercetina.



Este parâmetro também foi avaliado pela análise da curva de calibração das substâncias identificadas no extrato, utilizando o método dos mínimos quadrados e análise de variância (ANOVA). A ANOVA confirmou que o método proposto foi considerado linear e indica que não há falta de ajuste ($p < 0,05$), como pode ser visto na Tabela 3. Todas as análises mostraram resultados satisfatórios com valores de F calculados (cal) abaixo dos valores tabelados (tab) de F, no nível de significância 95%.

Amostra	Fonte*	Modelo	Resíduo	Total
Tg-EtOH	<i>SQ</i>	509129863,238083	119374417767,714	119883547630,952
	<i>gl</i>	2	18	20
	<i>MQ</i>	254564931,6	6631912098,20635	-
	<i>F cal</i>	0,0384	-	-
	<i>F tab</i>	3,5546	-	-
QUE (SQR)	<i>SQ</i>	47410570030,58	4958019031410,37	5005429601440,96
	<i>gl</i>	2	21	23
	<i>MQ</i>	23705285015,292	236096144352,88	-
	<i>F cal</i>	0,1004	-	-
	<i>F tab</i>	3,4668	-	-
ISO (SQR)	<i>SQ</i>	3491910489,25	352146259383,25	355638169872,50
	<i>gl</i>	2	21	23
	<i>MQ</i>	1745955244,63	16768869494,44	-
	<i>F cal</i>	0,1041	-	-
	<i>F tab</i>	3,4668	-	-

*Nível de significância 95% ($p < 0,05$); SQ= Soma quadrática; gl= grau de liberdade; MQ= Média quadrática.

Tabela 3. Análise de variância (ANOVA) para as curvas do extrato e padrões por CLAE-DAD.

No método cromatográfico, os valores de CV(%) obtidos durante a avaliação da precisão intra-dia (n = 6, três repetições cada) e inter-dia (2 dias, n = 6) foram inferiores a 5,0%, mostrando um boa precisão do método (Tabela 4) para o extrato, já que, é aceitável uma variabilidade de até 15% para extratos vegetais (Brasil, 2003). A comparação entre as médias indicaram que não existe diferenças significativas entre as médias dos grupos (F cal < F tab). No entanto, a avaliação da precisão inter-dia para o padrão QUE se mostrou impreciso quando compara os dias (F cal > F tab), no entanto, entre os analistas no mesmo dia não apresentaram diferenças estatísticas (F cal < F tab).

Amostra	Analista	Concentração (Dia 1)	Concentração (Dia 2)	Repetitividade	
Tg-EtOH	QUE	1	5,26± 2,81	4,96± 3,59	5,12± 3,29
		2	4,95± 4,14	5,01± 3,73	
	ISO	1	83,56± 2,21	82,93± 2,30	87,88± 1,53
		2	81,66± 1,94	79,66± 5,05	
(SQR)	QUE	1	19,58± 2,34	22,26± 2,46	22,34± 2,28
		2	20,15± 4,15	21,75± 2,19	

*Valores da concentração em média por µg/mL ± coeficiente de variação (CV%), n=6, p<0,05.

Tabela 4. Resultados obtidos na análise de precisão intermediária e repetitividade.

A determinação da exatidão do extrato e QUE foi calculada separadamente para cada uma das concentrações analisadas (Tabela 5) e foram encontrados resultados entre 100,76 a 118,21%. Na exatidão por recuperação, no qual foi adicionado QUE (20 µg/mL) no extrato, o valor de recuperação obtido variou de 103,44 a 108,92% como mostrados na Tabela 6.

Amostra	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração experimental (µg/mL)	DP*	CV*(%)	E*(%)
Tg-EtOH	250	251,9	0,039	2,6	100,76
	1000	1038,4	0,169	3,29	103,84
	2000	2054,3	0,269	2,72	102,72
QUE	0,5	-	-	-	-
	10	23,64	0,087	0,37	118,21
	50	58,61	0,372	0,61	117,23

*DP=desvio padrão; CV (%)=coeficiente de variação; E (%) =Exatidão; n=3, p<0,05.

Tabela 5. Resultados obtidos nos testes de exatidão do método por CLAE-DAD.

Os resultados da exatidão encontram-se dentro dos parâmetros estabelecidos pela ANVISA, que determinam que os valores de exatidão não devem ser inferiores a 95% e o desvio não exceder 15% (Brasil, 2003). Em relação aos valores superiores a 100% podem indicar erros experimentais, como calibração de pipeta, por exemplo, aceitando até 110%.

Concentração (µg/mL)	Concentração de QUE (µg/mL)	Concentração após adição de QUE (µg/mL)	Recuperação (%)	DP*	CV(%)*
250	1,5	3,8	104,57	16,2	15,49
1000	4,56	10,69	108,92	6,49	5,96
2000	8,76	19,51	103,44	8,98	8,68

*DP=Desvio padrão; CV (%)=coeficiente de variação; n=3, p<0,05.

Tabela 6. Resultados obtidos nos testes de exatidão por recuperação método por CLAE-DAD.

Verificou-se para o método cromatográfico que o mesmo também apresentou robustez intrínseca, pois ao analisar amostras na concentração de 1000 µg/mL em triplicata e em diferentes condições (temperaturas 28 e 30 °C; fluxos 0,6 e 1,0 mL/min), as respostas permaneceram dentro das especificações exigidas pela legislação, com valores de CV(%) inferiores a 5,0% como mostra a Tabela 7.

Parâmetro	Variável	Marcador químico	Concentração	F cal	F tab	CV(%)
Fluxo	0,6 mL/min	QUE	6,68 ± 3,57	60,43	7,71	3,57
		ISO	114,07 ± 3,97	86,85	7,71	3,97
	1,0 mL/min	QUE	5,20 ± 2,57	0,008	7,71	2,57
		ISO	88,39 ± 1,64	0,02	7,71	1,64
Temperatura	28 °C	QUE	5,29 ± 4,58	0,47	7,71	4,58
		ISO	88,03 ± 1,47	0,24	7,71	1,47
	32 °C	QUE	5,10 ± 1,94	0,99	7,71	1,94
		ISO	53,99 ± 2,75	916,84	7,71	2,75
QUE (SQR)	0,6 mL/min	-	31,67 ± 1,56	800,6	7,71	1,56
	1,0 mL/min	-	19,91 ± 9,99	12,45	7,71	9,99
	28 °C	-	23,78 ± 1,23	0,77	4,26	1,22
	32 °C	-	23,44 ± 1,47	0,77	4,26	1,47

*Valores da concentração em média por µg/mL ± coeficiente de variação (CV%); n=3, p<0,05.

Tabela 7. Resultados dos testes de robustez de Tg-EtOH para avaliação de QUE e ISO por CLAE-DAD.

Exceto, no fluxo 0,6 mL/min, no qual, o extrato não foi robusto para quantificação de QUE e ISO e na temperatura 32 °C não foi robusto para quantificar apenas a isoquercetina ($F_{cal} > F_{tab}$). O padrão QUE foi robusto apenas a variações de temperatura $F_{cal} < F_{tab}$ (Tabela 7).

3.3 Análise por espectrofotometria na região do UV-Vis

3.3.1 Desenvolvimento do método

Para selecionar o comprimento de onda adequado para a amostra foi realizada uma varredura nos comprimentos de onda na faixa de 330 a 600 nm com a solução trabalho de Tg-EtOH (1 mg/mL) com PSC e PCC. De acordo com os resultados da determinação do comprimento de onda de maior absorvidade, como demonstrado na Figura 7 o comprimento ideal para as análises foi de 465 nm. Macêdo (2015) e Macêdo et al. (2015) já haviam analisado o extrato etanólico e frações das folhas de *T. gardneriana* com a mesma metodologia, porém, no comprimento de onda de 510 nm e utilizando o padrão catequina, sem analisar quais os melhores parâmetros para amostra e sem validar o método .

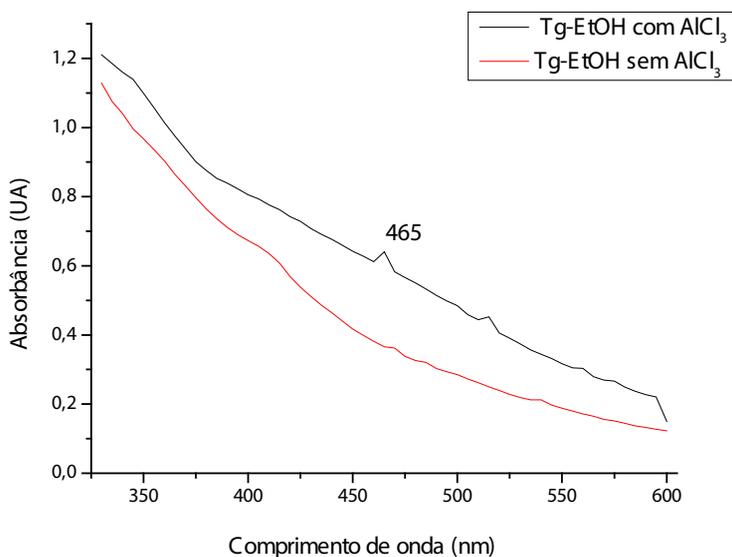


Figura 7. Curva de varredura da análise da solução teste de 1 mg/mL para Tg-EtOH com sobreposição de PSC e PCC.

Observou-se que a cinética de complexação do $AlCl_3$ (Figura 8) com os flavonoides não apresentou diferenças estatísticas ($F_{cal} 1,50 < F_{tab} 2,51$, ANOVA *one-way*) quando se analisa imediatamente no tempo zero ou após 60 minutos, a reação de complexação

acontece de forma imediata, isso esperando 6 minutos antes de adicionar a solução de AlCl_3 e 5 minutos antes de adicionar a solução de NaOH , conforme metodologia. Ao contrário, quando não aguarda esses tempos de 5 e 6 minutos, adiciona os reagentes na sequência as absorvâncias sofrem alterações significativas a partir de 15 minutos ($F_{\text{cal}} 13,34 > F_{\text{tab}} 7,71$), como mostra a Figura 8. A diferença entre as duas formas de análise confirmada pelo teste estatístico ANOVA *one-way* ($F_{\text{cal}} 676,99 > F_{\text{tab}} 4,49$) e pelo decaimento da absorvância na análise imediata, mostra que o método mais adequado é que aguarda os tempos de 5 e 6 min antes da adição dos reagentes já mencionados, indicando que a espera proporciona o máximo de complexação dos flavonoides.

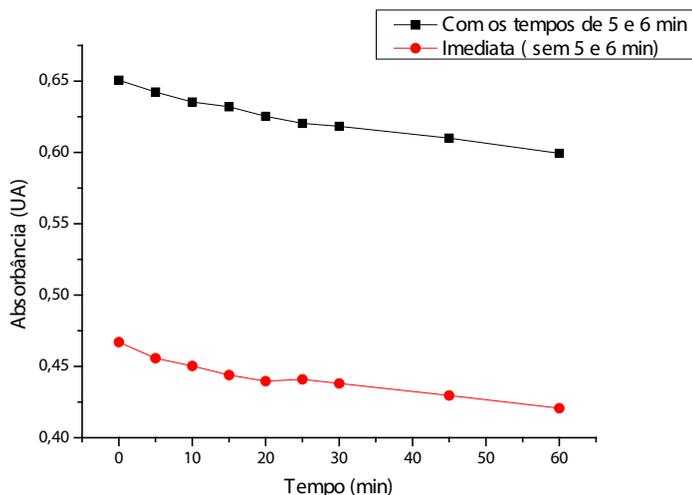


Figura 8. Curvas da cinética de complexação do AlCl_3 com os flavonoides em relação ao tempo.

3.3.2 Concentração e volume da solução de cloreto de alumínio

Em relação à avaliação da concentração da solução de cloreto de alumínio a 2,5; 5,0 e 10% m/v, observou-se que não houve diferença entre as menores concentrações ($F_{\text{cal}} 0,848 < F_{\text{tab}} 7,71$), no entanto o máximo de absorvância foi observado na concentração de 10%, indicando que nessa concentração proporciona o máximo de complexação. A análise estatística realizada pela ANOVA *one-way*, confirma que há diferença estatística entre a concentração de 10% e as concentrações menores ($F_{\text{cal}} 19,29 > F_{\text{tab}} 5,14$). Desta forma, no restante das análises usou-se a concentração de 10% para o cloreto de alumínio.

Posteriormente, testou-se os volumes dessa solução (140, 160, 180 e 200 μL), de acordo com os dados, não houve diferença significativa entre os volumes 160, 180 e 200 μL ($F_{\text{cal}} 3,29 < F_{\text{tab}} 5,14$), porém o volume de 180 μL se diferencia do volume 140 μL (F_{cal}

27,5 > $F_{tab 7,71}$), o que mostra que há um decréscimo na absorvância quando diminui o volume para 140 μL . Diante disso, optou por trabalhar com o volume 180 μL , já que não há diferenças entre 160 e 200 μL , mantendo o mesmo volume da metodologia.

3.3.3 Validação por UV-Vis

A legislação preconiza que o método pode ser considerado seletivo se nenhum interferente apresentar absorvância no comprimento de onda específico para a molécula a ser analisada (ICH, 2005; Brasil, 2017). Para as amostras analisadas, o comprimento de onda máximo determinado para a leitura (465 nm) em Tg- EtOH (Figura 7, p. 149) é distinto do comprimento de onda máximo da QUE isolada (370 nm), demonstrando que o método mostrou-se seletivo para determinar a quantidade de flavonoides totais na amostra analisada.

A complexação da Quercetina- Al^{3+} causa um deslocamento batocrômico, ou seja, um deslocamento dos seus máximos de absorção para regiões de maior comprimento de onda, o que possibilita a quantificação dos flavonoides sem sofrer influência de outros compostos fenólicos presentes na amostra (Peixoto Sobrinho et al., 2012). Os espectros das amostras analisadas apresentaram absorvâncias numa faixa semelhante quando complexado com AlCl_3 , individualmente. Porém, diferente do espectro da QUE isolada, visto que no extrato existem outros flavonoides e outros milhares de compostos que podem influenciar no comprimento de absorção máxima da amostra.

Na validação, foi utilizada a QUE como flavonoide para determinação de flavonoides totais nessa espécie, uma vez que, a QUE está presentes nas folhas, e ainda foi comprovada a presença majoritária de isoquercetina, derivado quercetinico glicosilado, além de outros flavonóis que já foram identificados nas folhas de *T. gardneriana* (Macêdo, 2015; Macêdo et al., 2015; Macêdo et al., 2019; Macêdo, 2020).

O parâmetro de linearidade da resposta espectrofotométrica foi avaliado tanto para o padrão analítico QUE quanto para Tg-EtOH. O método espectrofotométrico apresentou linearidade a 465 nm para Tg-EtOH nas concentrações testadas (0,05-2,5 mg/mL). A equação da regressão linear média obtida a partir de três curvas de calibração, foi $y = 0,5162x + 0,0252$, em que y é a absorvância (nm) e x a concentração (mg/mL) em equivalentes de QUE. O coeficiente de determinação obtido foi $R^2=0,9989$, comprovando a adequação do método no intervalo avaliado (Brasil, 2017). O padrão também teve relação linear entre o aumento da concentração do analito e a resposta espectrofotométrica na faixa de intervalo analisado, com $R^2=0,9952$, isto significa que 99,52% da variabilidade experimental foi explicada satisfatoriamente pela equação obtida $y = 1,5535x + 0,0023$. As duas curvas apresentaram valores residuais homocedásticos, confirmando a homocedasticidade do método. Os valores dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram 0,05 e 0,15 mg/mL, respectivamente.

A exatidão por recuperação definida como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo analítico foi avaliado através da adição de uma quantidade conhecida do padrão QUE (200 µg/mL) na solução teste. O resultado da recuperação foi obtido em porcentagem pela equação descrita nos procedimentos de validação. Os dados experimentais obtidos revelaram a média de recuperação do padrão de 102,7% e coeficiente de variância 1,22%, atestando este valor como aceitável (Brasil, 2017). Os dados demonstram que o método analítico desenvolvido é satisfatoriamente exato.

O método desenvolvido demonstrou ser preciso nos três níveis avaliados: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade, ou seja, foi capaz de proporcionar resultados próximos de uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (ICH, 2005; Brasil, 2017). O método apresentou uma boa repetibilidade, visto que, o CV(%) foi inferior ao especificado pela legislação como mostra a Tabela 8.

Amostra	Analista	Concentração (Dia 1)	Concentração (Dia 2)	F cal	F tab	Repetitividade
Tg-EtOH	1	0,191± 1,72	0,188± 2,32	0,76	4,75	0,299± 1,72
	2	0,184± 2,38	0,189± 2,52			

*Valores da concentração em média por mg/mL ± coeficiente de variação (CV %), n=6, p<0,05.

Tabela 8. Resultados obtidos na análise de precisão intermediária e repetitividade do método por UV-vis.

Em relação à precisão intermediária, o método foi preciso para análises realizadas por analistas diferentes em dias consecutivos, estando à variação encontrada, dentro dos limites especificados, uma vez que, os dados não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($F_{cal} < F_{tab}$) com nível de significância de 0,05, de acordo com a ANOVA *two-way* (Tabela 8). A reprodutibilidade foi atendida, quando avaliados equipamentos distintos, de acordo com a ANOVA *one-way* ($F_{cal} < F_{tab}$) com nível de significância de 0,05, mostrados na Tabela 9.

Parâmetro	Variáveis (marca)	Concentração	F cal	F tab
Espectrofotômetro UV-Vis	EVEN®	0,371± 4,04	0,35	7,71
	Nova Instruments®	0,378± 1,39		

*Valores da concentração em média por mg/mL ± coeficiente de variação (CV %), n=6, p<0,05.

Tabela 9. Resultados obtidos na análise de reprodutibilidade do método por UV-Vis.

Foi constatado que o método possui robustez intrínseca em meio às variações realizadas (Tabela 10). Os fatores da robustez foram avaliados em triplicata individualmente e todos os parâmetros conjuntamente. Os resultados apresentaram F_{cal} inferiores aos F_{tab} , conforme ANOVA *one-way*, demonstrando que não há diferença entre as variáveis analisadas de forma individual e em todos os fatores analisados (ANOVA, *two-way*, $F_{cal} < F_{tab}$).

Parâmetro	Variável	Concentração	F_{cal}	F_{tab}
Marca do solvente	Synth®	0,373 ± 2,48	0,35	7,71
	Dinâmica®	0,367 ± 4,99		
Comprimento de onda (nm)	463	0,394 ± 1,70	1,15	7,71
	467	0,388 ± 1,91		
Interação fatores (ANOVA two-way)	-	-	1,28	4,75

*Valores da concentração em média por mg/mL ± coeficiente de variação (CV %), n=3, p<0,05.

Tabela 10. Resultados da robustez para o método avaliado por UV-Vis.

Os métodos analíticos propostos neste trabalho foram desenvolvidos a fim de disponibilizar procedimentos analíticos para quantificação dos marcadores químicos de *T. gardneriana* devido à ausência de métodos oficiais para a referida espécie, no intuito de quantificar o marcador químico majoritário, além de oferecer outro método validado otimizado para identificar e quantificar a quercetina na espécie (Macêdo et al., 2019).

Os métodos desenvolvidos neste estudo podem ser considerados intercambiáveis, uma vez que, as amostras aplicadas na validação de ambos foi a mesma. Entretanto, as metodologias apresentam faixas de linearidade distintas e complementares. O método cromatográfico é mais eficiente para o controle de qualidade de matrizes vegetais, devido a sua maior sensibilidade e seletividade para quantificação de isoquercetina e quercetina em extratos e produtos obtidos dessa espécie. No entanto, a espectrofotometria na região do UV-Vis é uma alternativa mais acessível, rápida e de baixo custo para o doseamento de flavonoides das drogas vegetais na rotina laboratorial (Peixoto Sobrinho et al., 2012; Figueirêdo et al., 2015; Alencar Filho et al., 2019).

Os dados confirmam que os métodos encontram-se em conformidade com a legislação vigente e apresenta confiabilidade dos resultados. Os parâmetros estudados garantiram rapidez, seletividade, linearidade, exatidão e precisão, apresentando-se, portanto, validados conforme as resoluções 899/2003 e 166/2017 da ANVISA. A validação dos métodos por diferentes técnicas permitirá a continuação dos estudos envolvendo

extratos de *T. gardneriana*, a fim de comparar a influência de diferentes métodos de extração no conteúdo dessas substâncias e diferentes épocas de coletas das folhas.

4 | CONCLUSÃO

As metodologias recomendadas neste trabalho podem ser seguramente aplicadas para quantificação dos marcadores químicos nas análises de controle de qualidade de *T. gardneriana*, pois, demonstraram estar em conformidade com a legislação. O método cromatográfico permite quantificar isoquercetina e quercetina em matérias-primas obtidas da espécie. Para testes mais simples, a metodologia por espectrofotometria para doseamento de flavonoides totais pode ser aplicada devido a sua rapidez e baixo custo. Destarte, considera-se a relevância desse estudo, visto a ausência de métodos analíticos validados para o doseamento de flavonoides totais, sobretudo o constituinte majoritário na espécie em questão.

REFERÊNCIAS

Almeida, T. S., 2016. Identificação, atividade antioxidante e análise toxicogenômica de compostos fenólicos de sementes de *Triplaris gardneriana* Wedd. Univ. Fed. do Ceará (215p).

Almeida, T. S. de, Neto, J. J. L., Sousa, N. M. de, Pessoa, I. P., Vieira, L. R., Medeiros, J. L. de, Boligon, A. A., Hamers, A. R. M., Farias, D. F., Peijnenburg, A., Carvalho, A. F. U., 2017. Phenolic compounds of *Triplaris gardneriana* can protect cells against oxidative stress and restore oxidative balance. Biomed. Pharmacother. 93, 1261–1268. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.050>

Alencar Filho, J. M., Teixeira, H. A., Carvalho, I. S., Alencar, M. V. V. O., Souza, N.A. C., Araújo, T. C. L., Pereira, E. C. V., Amariz, I. A., Sampaio, P. A., Rolim-Neto, P. J., Rolim, L. A., Araújo, E. C. C. (2019). Development and validation of an analytical method for quantification of total flavonoids in *Alternanthera brasiliana* by ultraviolet-visible absorption spectrophotometry. 18, 920-927.

Braz Filho, R.; Rodrigues, A. S., 1974. Constituintes químicos de *Triplaris gardneriana*. In: XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 1974, Recife, Pernambuco. Ciência e Cultura. 26, 184.

Brasil, 2003. Resolução Específica nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. Diário Of. [da] República Fed. do Bras. 2003, 12.

Brasil, 2017. RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Of. [da] República Fed. do Bras. 2017, 22.

Carneiro, J.G.D.M.E., Cito, A.M.D.G.L., Pessoa, E.D.F., 2010. Constituintes voláteis do fruto do pajeuzeiro (*Triplaris* sp.). Rev. Bras. Frutic. 32, 907–909. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000088>

Figueirêdo, C. B. M., Alves, L.D.S., Silva, C.C. de A.R., Soares, M F. de L. R., Ferreira, P. de A., da Silva, R.M.F., Rolim-Neto, P.J., 2015. Doseamento de flavonoides totais das partes aéreas de *Thuja occidentalis* linn. (Cupressaceae). Rev. Ciencias Farm. Basica e Apl. 36, 509–516.

Hussein, A.A., Barberena, I., Correa, M., Coley, P.D., Solis, P.N., Gupta, M.P., 2005. Cytotoxic flavonol glycosides from *Triplaris cumingiana*. J. Nat. Prod. 68, 231–233. <https://doi.org/10.1021/np049803g>

International conference on harmonization. ICH. 2005. Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2(R1). Food and Drug Administration, USA 17.

Lopes Neto, J. J. L., Almeida, T. S. de, Medeiros, J. L. de, Vieira, L. R., Moreira, T. B., Maia, A. I. V., Ribeiro, P. R. V., Brito, E.S. de, Farias, D. F., Carvalho, A. F. U., 2017. Impact of bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in biological systems upon the antioxidant activity of the ethanolic extract of *Triplaris gardneriana* seeds. Biomed. Pharmacother. 88, 999–1007. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.109>

Macêdo, S. K. S., 2015. Estudo químico e avaliação da atividade biológica *in vitro* de *Triplaris gardneriana* Wedd . Petrolina-PE. Univ. Fed. do Val. do São Francisco (214p).

Macêdo, S. K. S., Almeida, T. dos S., Ferraz, C. A. A., Oliveira, A.P., Anjos, V. H. A., Siqueira, F. J. A., Araújo, E. C. da C., Alemida, J. R. G. da S., Silva, N. D. S., Nunes, X. P., 2015. Identification of flavonol glycosides and *in vitro* photoprotective and antioxidant activities os *Triplaris gardneriana* Wedd. J. Med. Plants Res. 9, 207–215. <https://doi.org/10.5897/JMPR2014.5555>

Macêdo, S. K. S., Lavor, A. L. de, Silva, N. D. dos S., Almeida, T. dos S., Paulo, I. M. M., Bezerra, G. S., Macedo, F. K. S., Anjos, V. H. A. dos, Filho, J. A. de S., Almeida, J. R. G. da S., Nunes, X. P., 2016. GC-MS analysis of esterified fatty acids obtained from leaves and seeds of *Triplaris gardneriana* Wedd . African J. Pharm. Pharmacol. 10, 623–630. <https://doi.org/10.5897/AJPP2016.4586>

Macêdo, S. K.S., Almeida, T. S., Alencar Filho, J. M. T., Lima, K. S. B., Libório, R. C., Costa, M. M., Rolim Neto, P. J.; Rolim, L.A.; Nunes, X. P. (2019). Phytochemical identification and quantification of quercetin in *Triplaris gardneriana* Wedd. leaves by HPLC-DAD with evaluation of antibacterial activity. Natural product research, 1-6.

Macêdo, S. K.S., 2020. desenvolvimento de matéria-prima padronizada em forma farmacêutica sólida com atividade antinociceptiva à base de *Triplaris gardneriana* Wedd. . Univ. Fed. Rural de Pernambuco (241p).

Oliveira, P.E.S., Conserva, L.M., Lemos, R.P.L., 2008. Chemical constituents from *Triplaris americana* L. (Polygonaceae). Biochem. Syst. Ecol. 36, 134–137. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.06.001>

Paiva, C. M., 2018. Caracterização fitoquímica, estudo das atividades biológicas e toxicológicas de extrato aquoso de folhas de *Triplaris gardneriana* Wedd. Univ. Fed. de Pernambuco (94p).

Peixoto Sobrinho, T. J. S., Gomes, T. L. B., Cardoso, K. C. M., Albuquerque, U. P., Amorim, E. L. C., 2012. Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (*Bauhinia* L.) comercializados em farmácias de Recife/PE. Rev. Bras. Plantas Med. 14, 586–591. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400003>

Simões, C.M.O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L.A., Petrovick, P. R. 2010. **Farmagnosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS.

Ziliotto, J., Farina, C., Souza, K.C.B., 2012. Validação de método analítico para doseamento de flavonoides totais em cápsulas contendo extrato seco de *Passiflora incarnata* L. Rev. Ciencias Farm. Basica e Apl. 33, 341–346.

US-FDA, 2000. United States Food and Drug Administration. Guidance for Industry, Analytical Procedures and Methods Validation.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aço galvanizado 6, 14, 15, 16, 17, 20, 24

Adsorção de íons 8, 130, 131, 133

Agente Antimicrobiano 183

Análise 6, 7, 1, 2, 5, 6, 8, 14, 29, 32, 38, 39, 40, 43, 58, 60, 64, 82, 83, 85, 93, 96, 98, 108, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 116, 117, 119, 120, 122, 123, 125, 127, 135, 136, 137, 146, 162, 200, 241, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 258, 260, 263, 267, 268, 269, 276, 280, 281, 289, 296, 300, 303, 306, 307, 308, 312, 321

Análise Termogravimétrica 85

B

Biofilmes 7, 81, 82, 83, 84

Biomassa 85, 87, 88, 91, 93

C

Capacidade de Retenção 142, 144, 146, 147, 148

Catálise heterogênea 55, 57

Compósitos 6, 36, 37, 38, 41, 42, 43, 159, 164, 197, 203

Compostos voláteis 7, 96, 100, 101

Condutividade térmica 195, 196, 197, 198, 200, 203, 204

Controle de qualidade 3, 4, 105, 106, 126, 127

Co-Precipitação 130, 131, 132, 133, 134, 139, 162

Criminalística 250, 251, 252, 261, 262

D

Decantação 2, 4, 6, 7, 11, 87, 153

E

Eletroquímica 5, 14, 17, 18, 20, 45, 46, 47, 48, 49, 311

Energia ultrassônica 220

F

Fibras vegetais 36, 37, 40, 44, 152

Filmes 8, 10, 14, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 81, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 237, 238, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 261, 318

Fotocatálise 161, 164, 177, 180, 181, 208, 329

I

Inibidores de corrosão 16, 45, 46

Inibidor verde 15, 47, 52

L

Legislação 2, 4, 121, 124, 125, 126, 127, 143

M

Método de síntese 209, 210, 214, 323, 327, 328, 329, 330

Morfologia 13, 36, 38, 41, 43, 130, 133, 200, 201, 202, 209, 210, 211, 212, 213, 220, 309, 310, 312, 314, 316

N

Nanopartículas magnéticas 130, 131, 132, 133, 137, 139, 309, 310, 311

P

Plastificantes 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246

Polímeros Naturais 150, 151

Pré-tratamento 14, 15, 16, 23, 328

Propriedades Mecânicas 10, 15, 36, 39, 43, 151, 152, 237, 238, 241, 243, 245, 246, 247

Q

Química Forense 10, 250, 251, 261, 262

Química Verde 2, 12, 45, 334

Quimiometria 5, 26

R

Revestimentos 81, 196, 197, 241, 310

S

Secagem 2, 4, 7, 8, 11, 58, 98, 107, 153, 260, 329

T

Titulação espectrofotométrica 6, 26, 28, 29

V

Voltametria 69, 309

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

A GERAÇÃO DE NOVOS CONHECIMENTOS NA **QUÍMICA 2**

Eleonora Celli Carioca Arenare
(Organizadora)

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

A GERAÇÃO DE NOVOS CONHECIMENTOS NA **QUÍMICA 2**

Eleonora Celli Carioca Arenare
(Organizadora)