



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

DAVID LUIZ OLIVEIRA RAMOS

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO SIMPLES E DE BAIXO CUSTO  
PARA DETECÇÃO DE FLUOXETINA EM PRODUTOS EMAGRECEDORES**

UBERLÂNDIA

2018

DAVID LUIZ OLIVEIRA RAMOS

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO SIMPLES E DE BAIXO CUSTO  
PARA DETECÇÃO DE FLUOXETINA EM PRODUTOS EMAGRECEDORES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

**Orientador:** Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz.

UBERLÂNDIA

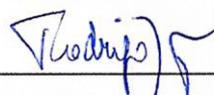
2018

DAVID LUIZ OLIVEIRA RAMOS

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO SIMPLES E DE BAIXO CUSTO  
PARA DETECÇÃO DE FLUOXETINA EM PRODUTOS EMAGRECEDORES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Instituto de Química da Universidade  
Federal de Uberlândia como requisito parcial  
para obtenção do título de Bacharel em  
Química Industrial.

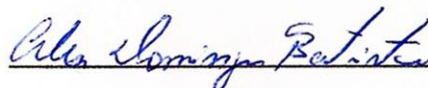
Uberlândia, 18 de Dezembro de 2018



---

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz.

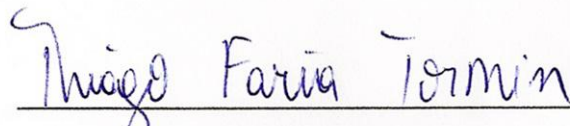
(Orientador)



---

Prof. Dr. Alex Domingues Batista

(Examinador)



---

Prof. Dr. Thiago Faria Tormin

(Examinador)

## AGRADECIMENTOS

- . Aos meus pais e demais familiares pelo carinho e incentivo;
- . Aos meus amigos de graduação pela companhia;
- . Aos meus companheiros do Nupe, em especial ao Jhonys Machado e Thiago Oliveira, pela paciência, dedicação e ensinamentos;
- . Aos professores Eduardo Richter e Rodrigo Muñoz pela confiança e orientação;
- . Aos membros da banca, Rodrigo Muñoz, Alex Domingues, Thiago Tormin e Nivia Coelho por aceitarem o convite e contribuírem para o aprimoramento do trabalho;
- . À Universidade Federal de Uberlândia e Instituto de Química pelo o espaço físico e materiais concedidos;
- . À CNPq, FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro;
- . À todos aqueles que de alguma maneira me ajudaram nesta jornada!

**"Todos nós desejamos ter superpoderes.  
Todos desejamos que pudéssemos fazer mais  
do que podemos fazer."**

**Stan Lee**

## RESUMO

O presente trabalho demonstra a potencialidade do sistema de Análise por Injeção em Batelada (BIA) e da voltametria de onda quadrada (SWV) usando diamante dopado com boro (BDD) como eletrodo de trabalho para a triagem rápida de fluoxetina (FLU) em suplementos termogênicos, medicamentos manipulados para emagrecimento e fitoterápicos emagrecedores. A técnica SWV foi explorada no modo estacionário e hidrodinâmico (BIA-SWV) empregando o método de adição de padrão. Os métodos propostos foram desenvolvidos usando como eletrólito suporte  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e os parâmetros da SWV otimizados foram: incremento de potencial ( $\Delta E_s$ ) igual a  $5 \text{ mV}$ ; amplitude ( $a$ ) de  $40 \text{ mV}$  e frequência ( $f$ ) de  $60 \text{ s}^{-1}$ . No método empregando BIA-SWV, o volume e velocidade de injeção otimizados foram  $150 \mu\text{L}$  e  $75 \mu\text{L s}^{-1}$ , respectivamente. O método SWV apresentou faixa linear de  $1$  a  $40 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU ( $r = 0,998$ ). Os métodos propostos foram aplicados na triagem de quatro amostras: Thermodrol<sup>®</sup>, Chá Verde, quitosana, garcinia e em um medicamento manipulado para emagrecimento. Para a técnica SWV (célula estacionária) foram obtidos os seguintes resultados para os estudos de adição e recuperação: Thermodrol<sup>®</sup>:  $98 \pm 6\%$ ; Chá Verde:  $112 \pm 3\%$ ; medicamento emagrecedor:  $103 \pm 2\%$ ; quitosana:  $65 \pm 3\%$  e garcinia:  $104 \pm 4\%$ . Por BIA-SWV foram obtidos os seguintes resultados nos estudos de adição e recuperação: Thermodrol<sup>®</sup>:  $34 \pm 2\%$ ; Chá Verde:  $117 \pm 2\%$ ; medicamento emagrecedor:  $93 \pm 3\%$ ; quitosana:  $68,5 \pm 0,5\%$  e garcinia:  $70 \pm 5\%$ .

**Palavras Chave:** Voltametria de onda quadrada. Análise por injeção em batelada. Diamante dopado com boro. Fluoxetina.

## ABSTRACT

This work demonstrates the potential of batch injection analysis (BIA) system and square wave voltammetry (SWV) using boron doped diamond (BDD) as working electrode for the rapid screening of fluoxetine (FLU) in thermogenic supplements, manipulated and phytotherapeutic medicines for weight loss. The SWV technique was explored in stationary and hydrodynamic mode (BIA-SWV) using the standard addition method. The proposed methods were developed using  $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$  as supporting electrolyte and the SWV optimized parameters were: step potential ( $\Delta E_s$ ) of 5mV; amplitude ( $a$ ) of 40 mV and frequency of  $60 \text{ s}^{-1}$ . In the proposed method using BIA-SWV, volume and speed of optimized injection were  $150 \text{ }\mu\text{L}$  and  $75 \text{ }\mu\text{L s}^{-1}$ , respectively. The SWV method presented a linear range of 1 to  $40 \text{ mg L}^{-1}$  of FLU ( $r = 0.998$ ). The proposed methods were applied in the analysis of four samples: Thermodrol<sup>®</sup>, green tea, chitosan, garcinia and a manipulated weight-loss medicine. For the SWV technique (stationary cell) the following results were obtained for the addition and recovery studies: Thermodrol<sup>®</sup>:  $98 \pm 6\%$ ; green tea:  $112 \pm 3\%$ ; weight loss medicine:  $103 \pm 2\%$ ; chitosan:  $65 \pm 3\%$  and garcinia:  $104 \pm 4\%$ . With BIA-SWV the following results were obtained for the addition and recovery studies: Thermodrol<sup>®</sup>:  $34 \pm 2\%$ ; green tea:  $117 \pm 2\%$ ; weight loss medicine:  $93 \pm 3\%$ ; chitosan:  $68,5 \pm 0,5\%$  and garcinia:  $70 \pm 5\%$ .

**Keywords:** Square Wave Voltammetry. Batch Injection Analysis. Boron Doped Diamond (BDD). Fluoxetine.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura molecular da Fluoxetina .....17
- Figura 2.** Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.....20
- Figura 3.** Esquema de uma célula BIA adaptada para o uso do eletrodo de BDD.....21
- Figura 4.** Etapas de operação de um sistema BIA com detecção eletroquímica (amperometria) e respectivo pico transiente obtido **(A)** antes da injeção **(B)** durante a injeção **(C)** final da injeção **(D)** dispersão **(E)** equilíbrio final.....22
- Figura 5.** Esquema mostrando um procedimento de análise com o sistema BIA-SWV: **(a)** eletrodo de referência; **(b)** eletrodo auxiliar; **(c)** ponteira da micropipeta; **(d)** micromotor DC. Os estágios do procedimento são: **(A)** Etapa de condicionamento; **(B)** etapa de injeção; **(C)** aplicação da SWV; **(D)** sistema BIA-SWV pronto para uma nova injeção.....23
- Figura 6.** **(A)** Esquema da célula BIA utilizada no trabalho; **(B)** Imagem da célula BIA.....29
- Figura 7.** Célula de polipropileno utilizada nos experimentos estacionários com eletrodo de BDD posicionado no fundo da mesma.....30
- Figura 8.** **(A)** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para FLU (50 mg L<sup>-1</sup>) com a variação de pH: pH 2 (—), pH 4 (—), pH 6 (—), pH 8 (—) e pH 10 (—). **(B)** Variação da corrente (●) e do potencial (■), obtida a partir da variação do pH.....31



**Figura 9.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para 40 mg L<sup>-1</sup> de FLU em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> em função dos valores ΔEs step (1 a 10 mV). Demais parâmetros de onda quadrada:  $f = 50 \text{ s}^{-1}$  e  $a = 50 \text{ mV}$ , em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> .....32

**Figura 10.** Relação entre a corrente de pico e a variação dos valores de ΔEs para os voltamogramas da Figura 9 .....32

**Figura 11.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para FLU 40 mg L<sup>-1</sup> em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> em função da variação dos valores de amplitude (10 a 150 mV). Parâmetros de onda quadrada: ΔEs= 2mV e  $f = 50 \text{ mV}$ .....33

**Figura 12.** Relação entre a corrente de pico e a variação dos valores de amplitude para os voltamogramas da Figura 11.....34

**Figura 13.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para FLU 40 mg L<sup>-1</sup> em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> em função da variação dos valores de frequência (10 a 160 s<sup>-1</sup>). Parâmetros de onda quadrada: ΔEs= 5mV e  $a = 40 \text{ mV}$ , em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> .....35

**Figura 14.** Relação entre a corrente de pico e a variação dos valores de frequência para os voltamogramas da Figura 9. (A)  $i$  vs  $f$ ,  $r = 0,984$ ; (B)  $i$  vs  $f^{1/2}$ ,  $r = 0,997$ .....35

**Figura 15.** Curva obtida para soluções de 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 e 50 mg L<sup>-1</sup> de FLU em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>.  $r = 0,998$ . Eletrólito: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> ; ET: BDD; ΔEs= 5mV;  $a = 40 \text{ mV}$ ;  $f = 50 \text{ mV}$ .....36

**Figura 16.** Resultados obtidos por SWV para soluções contendo FLU nas concentrações de 5 ppm e 30 ppm (n = 10). Demais condições: Fig. 15.....**37**

**Figura 17.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Thermodrol em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após (—) dopagem com 20 ppm de FLU (—). Demais condições: Fig. 15.....**38**

**Figura 18.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> do Fármaco em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após dopagem com 20 ppm de FLU(—). Demais condições: Fig. 15 .....**39**

**Figura 19.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> do chá verde em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após dopagem com 20 ppm de FLU(—). Demais condições: Fig. 15.....**40**

**Figura 20.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> da quitosana em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após dopagem com 20 ppm de FLU (—). Demais condições: Fig. 15.....**41**

**Figura 21.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> de garcinia em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após dopagem com 20 ppm de FLU(—). Demais condições: Fig. 15.....**42**

**Figura 22. (A)** Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução de Thermodrol (1000 mg L<sup>-1</sup>) em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, dopada com 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU e adições sequenciais (n = 4) de 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU; **(B)** Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”, r = 0,972. Demais condições, conforme Fig. 15.....**43**

**Figura 23.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução do medicamento para emagrecimento ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....43

**Figura 24.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução Chá Verde ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,997$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....44

**Figura 25.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução de Quitosana ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....44

**Figura 26.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução de Garcinia ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....45

**Figura 27.** Variação da corrente de oxidação da FLU em função do volume de injeção com velocidade de injeção igual a  $75 \mu\text{L s}^{-1}$ . Concentração da FLU =  $30 \text{ mg L}^{-1}$ ; Eletrólito:  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ; ET: BDD. Parâmetros de SWV.....46

**Figura 28.** Variação da corrente de oxidação da FLU em função da velocidade de injeção com volume injetado de  $150 \mu\text{L}$ . Demais condições, conforme Fig. 27.....47

**Figura 29.** (A) Voltamogramas de BIA SWV obtidos para uma solução de Thermodrol ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....48

**Figura 30. (A)** Voltamogramas de BIA SWV obtidos para uma solução do medicamento para emagrecimento ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; **(B)** Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,996$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....**48**

**Figura 31. (A)** Voltamogramas de BIA SWV obtidos para uma solução Chá Verde ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; **(B)** Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,993$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....**49**

**Figura 32. (A)** Voltamogramas de BIA SWV obtidos para uma solução de Quitosana ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; **(B)** Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....**49**

**Figura 33. (A)** Voltamogramas de BIA SWV obtidos para uma solução de Garcinia ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , dopada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; **(B)** Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$ . Demais condições, conforme Fig. 15.....**50**

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Características analíticas do método proposto (SWV) e resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação.....**45**

**Tabela 2.** Características analíticas do método proposto (BIA SWV) e resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação.....**50**

**Tabela 3.** Comparação dos resultados obtidos para a determinação de fluoxetina nas amostras a partir dos métodos propostos.....**51**

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

FLU: fluoxetina

$f$ : Frequência

$a$ : Amplitude

$\Delta E_s$ : Incremento de potencial

BR: Tampão Britton- Robinson

LD: Limite de detecção

LQ: Limite de quantificação

DP: Desvio padrão

DPR: Desvio padrão relativo

DPb: Desvio padrão do branco;

DPx: Desvio padrão da concentração encontrada;

R: Coeficiente de correlação linear

$a$ : Interseção com o eixo y ou coeficiente linear;

$b$ : Inclinação da curva de calibração ou sensibilidade do método.

$y$ : Resposta da medida (absorbância, altura ou área do pico, etc.);

$x$ : Concentração do analito;

$\bar{x}$  - Concentração do analito média encontrada.

$C_1$  - Concentração do analito na amostra fortificada,

$C_2$  - Concentração do analito na amostra não fortificada,

$C_3$  - Concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

SWV - do inglês “*Square wave voltammetry*” que refere-se a voltametria de onda quadrada;

BIA - do inglês “*Batch injection analysis*” que refere-se a análise por injeção em batelada;

BIA-SWV - refere-se à voltametria de onda quadrada acoplada à análise por injeção em batelada.

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	17
1.1. Considerações Gerais .....	17
1.2. Fluoxetina .....	17
1.3. Amostras e reagentes .....	18
1.4. Técnicas analíticas utilizadas no controle de qualidade de suplementos e farmacos emagrecedores .....	19
1.5. Voltametria de onda quadrada .....	20
1.6. Análise por injeção em batelada .....	21
1.7. Técnica BIA-SWV .....	23
1.8. Validação do procedimento analítico .....	24
1.8.1. Especificidade e Seletividade .....	24
1.8.2. Linearidade .....	24
1.8.3. Limite de Detecção .....	25
1.8.4. Limite de Quantificação .....	25
1.8.5. Repetibilidade .....	26
1.8.6. Recuperação .....	26
1.9. Método de Adição de Padrão .....	27
2. Objetivos.....	27
3. Metodologia.....	27
3.1. Amostras e reagentes .....	27
3.2. Preparo das soluções e amostras .....	28
3.3. Medidas voltamétricas.....	28
3.4. Sistema BIA e estacionário .....	29
4. Resultados e Discussão.....	30
4.1. Comportamento Eletroquímico da FLU e o efeito do pH .....	30
4.2. Otimizações dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada ...	31
4.2.1. Incremento de potencial .....	32
4.2.2. Amplitude de aplicação dos pulsos de potencial .....	33
4.2.3. Frequência de aplicação dos pulsos de potencial .....	34
4.3. Faixa Linear.....	36
4.4. Repetibilidade .....	37
4.5. Aplicação do método desenvolvido para triagem de amostras reais .....	38

4.5.1. Thermodrol® .....	38
4.5.2. Medicamento para emagrecimento .....	39
4.5.3. Chá Verde .....	40
4.5.4. Quitosana e garcinia .....	41
4.6. Análises de FLU nas amostras por SWV / adição de padrão .....	42
4.7. Adaptação do método ao sistema portátil BIA-SWV .....	46
4.8. Análise das amostras por BIA SWV/ calibração externa e comparação com o método SWV/adicação de padrão .....	47
5. Conclusões .....	52
6. Referências Bibliográficas .....	53



# 1. Introdução

## 1.1. Considerações Gerais

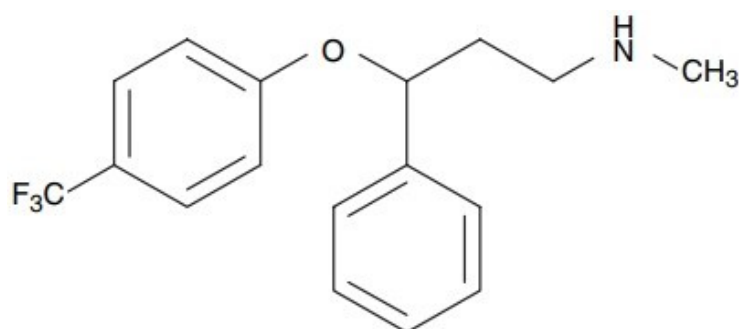
A obesidade é considerada uma crise de saúde pública global (The Global Burden of Disease, 2017). Neste cenário é cada vez maior a busca por produtos emagrecedores, como medicamentos manipulados, fitoterápicos e suplementos termogênicos comercializados livremente em farmácias e supermercados. Entretanto, existem relatos científicos da existência de substâncias adulterantes adicionadas nas formulações desses produtos, podendo estar ou não declaradas no rótulo (CORREIA, 2008).

A presença de drogas sintéticas, como adulterantes, em fitoterápicos e suplementos termogênicos é uma prática ilegal relatada com frequência no Brasil e em outros países (CORREIA, 2008; LIANG *et al*, 2006). Dentre as classes de substâncias mais utilizadas para a adulteração dessas formulações estão os estimulantes como a cafeína e efedrina, anorexígenos como a sibutramina, e antidepressivos (LIANG *et al*, 2006; PARK *et al*, 2012; ZEMOLIN, 2015).

## 1.2. Fluoxetina

A fluoxetina (FLU), cuja fórmula estrutural está apresentada na **Figura 1**, é conhecida como um inibidor seletivo da recaptação da serotonina no terminal pré-sináptico e por isso é utilizada como princípio ativo de antidepressivos.

**Figura 1.** Estrutura molecular da Fluoxetina.



Fonte: LENCASTRE *et al*, 2006.

O cloridrato de fluoxetina é indicado para o tratamento de depressão, ansiedade e uma das suas reações adversas durante o tratamento é a perda de peso, o que contribui para a sua indicação informal para o tratamento de obesidade. O grande problema da utilização da fluoxetina contra a obesidade é a recuperação gradativa do peso, em geral após os seis primeiros meses de tratamento. Outras reações adversas também ocorrem no sistema neurológico, como distúrbios psicológicos incluindo pensamento suicida. Ainda existem interações indesejáveis da fluoxetina quando administrada simultaneamente com pelo menos 90 substâncias, como o etanol, ácido acetilsalicílico e anti-inflamatórios não hormonais, como o diclofenaco, ibuprofeno e nimesulida (CARLINI *et al*, 2009).

### **1.3. Técnicas analíticas utilizadas no controle de qualidade de suplementos e fármacos emagrecedores**

A fraude de produtos farmacêuticos e/ou alimentícios constitui uma violação às Leis da Vigilância Sanitária e o desconhecimento por parte dos usuários pode levar ao consumo da fluoxetina com bebidas alcoólicas, ou demais substâncias, gerando interações que podem exacerbar os efeitos no Sistema Nervoso Central. Portanto, levando em consideração a quantidade expressiva de consumidores de produtos emagrecedores no Brasil e a facilidade de acesso a eles, torna-se relevante o estudo da presença de compostos adulterantes em amostras usadas para perda de peso e o desenvolvimento de métodos analíticos adequados ao controle de qualidade dessas formulações (CORREIA, 2008; ZEMOLIN, 2015).

As técnicas analíticas normalmente utilizadas para a determinação de fluoxetina e no controle de qualidade de suplementos e fármacos emagrecedores são as cromatográficas (DUNN *et al*, 2011; LENCASTRE *et al*, 2006; WILSON *et al*, 2016; YOUSSEF *et al*, 2014). Estas técnicas, apesar de terem várias vantagens (resultados precisos, equipamentos automatizados, etc), apresentam algumas limitações, como a necessidade de uso de etapas trabalhosas de pré-tratamento das amostras, uso de equipamentos complexos, custo de aquisição e uso de solventes orgânicos (geração de resíduos com considerável toxicidade). Portanto, o uso destas técnicas em larga escala ou em laboratórios com infraestrutura mínima ou mesmo em análises em campo tem limitações (FENG *et al*, 2007; SANZINI *et al*, 2011; DECONINCK *et al*, 2015).

#### 1.4. Técnicas eletroanalíticas e o eletrodo de diamante dopado com boro (BDD)

As técnicas eletroquímicas de análise com o uso do eletrodo de diamante dopado com boro, (BDD, do inglês, “*boron doped diamond*”) vem sendo cada vez mais utilizadas em áreas distintas para a determinação de diferentes anólitos (PEREIRA *et al*, 2013; FREITAS *et al*, 2017; FREITAS *et al*, 2016; HASONŇ *et al*, 2008; KONDO *et al*, 2013; LOURENÇÃO *et al*, 2009; PETRUCCI *et al*, 2015; PINO *et al*, 2015; SARADA *et al*, 2000; TEIXEIRA *et al*, 2015; ZHANG *et al*, 2015). A principal característica dessas técnicas é a relação entre a concentração do analito e a corrente elétrica gerada pela sua oxidação e ou redução aliada à possibilidade de medidas diretas nas amostras, pois não é necessária, em alguns casos, a separação e purificação prévia da amostra (TORMIN *et al*, 2011; PEREIRA *et al* 2013; FREITAS *et al* 2016).

O diamante puro não é um material condutor de eletricidade, devido as suas características isolantes (band-gap de 5 eV e resistividade da ordem de  $1 \times 10^{16} \Omega \text{ cm}$ ). Entretanto, quando devidamente dopado passa a se tornar um material condutor, e portanto, promissor para ser utilizado como eletrodo (SWAIN, 2007). O boro é o dopante mais utilizado para produzir eletrodos de diamante e isso se deve ao fato de o boro apresentar energia de ativação mais baixa como transportador de carga (0,37 eV) (KRAFT, 2007).

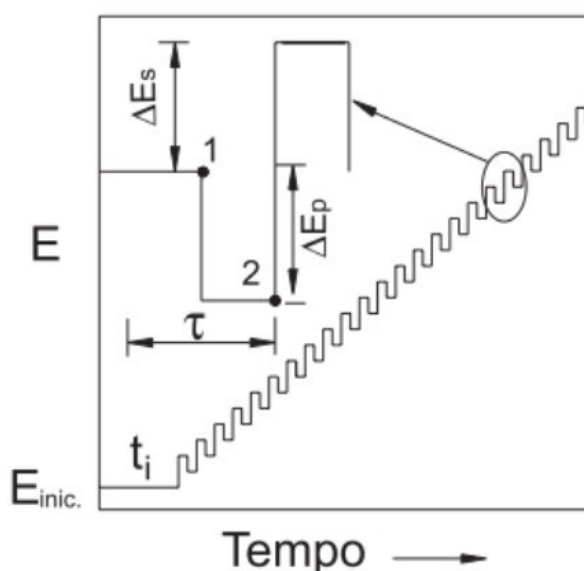
A produção do BDD é realizada principalmente pela deposição química a partir da fase vapor (CVD, do inglês, “*chemical vapor deposition*”), baseado na deposição de um filme de diamante sobre vários tipos de substratos diferentes por meio da ativação de uma fase gasosa introduzida em um reator com ativação por filamento quente de tungstênio ou por plasma de micro-ondas. Geralmente, o reagente gasoso utilizado é o metano (diluído em hidrogênio). Porém, outras substâncias orgânicas podem ser usadas como fonte de carbono, como metanol, acetona e etanol. Os dopantes mais empregados são o boro e seus derivados, como  $\text{B}_2\text{H}_6$ , que por não possuir carbono ou oxigênio em sua composição, evita a inclusão de outros elementos dentro do reator além de ser mais facilmente encontrado, porém, é altamente tóxico, explosivo e reativo. Outros dopantes comumente empregados são trimetilborato e  $\text{B}_2\text{O}_3$  (o mais comum), mas antes devem ser solubilizados em acetona ou metanol (DE BARROS *et al.*, 2005; KRAFT, 2007).

## 1.5. Voltametria de onda quadrada

Dentre as diversas técnicas eletroanalíticas a voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *Square-wave voltammetry*) se destaca por ser uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis consiste em uma varredura de potencial linear usando uma onda quadrada combinada e um potencial de escada aplicado a um eletrodo estacionário. Os limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas espectroscópicas. Além disso, a análise dos parâmetros característicos desta técnica possibilita a avaliação cinética e mecanística do processo eletródico em estudo (BARD *et al*, 2003).

A forma da curva de corrente-potencial (**Figura 2**) é originária da aplicação de potenciais de altura,  $\Delta E_s$ , denominada amplitude do pulso de potencial, que podem variar com uma escada de potencial com duração  $\tau$  (período). As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante de forma diferencial. Esta medida precede um tempo inicial onde o eletrodo de trabalho é polarizado a um potencial onde a reação redox não ocorre (SOUZA, MACHADO, AVACA, 2003).

**Figura 2.** Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.

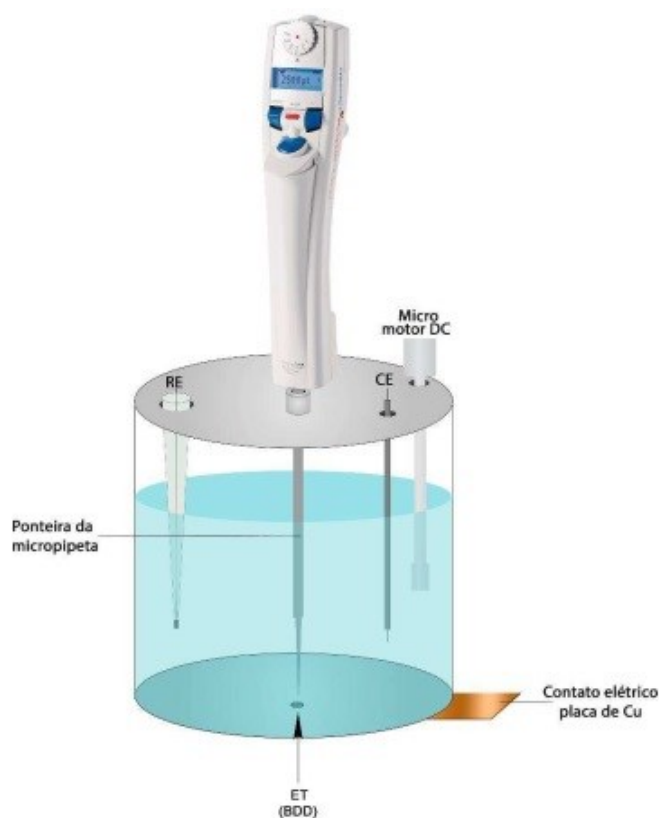


Fonte: SOUZA, MACHADO, AVACA, 2003.

## 1.6. Análise por injeção em batelada

Na década 90 um procedimento eletroquímico chamado de análise por injeção em batelada (BIA, do inglês, “*batch injection analysis*”) foi apresentado. Essa nova técnica consiste na injeção de pequenos volumes de solução amostra ou padrão, diretamente sobre um detector (eletrodo) imerso em uma solução inerte contida em uma célula com o auxílio de uma micropipeta (WANG *et al.*, 1994). A **Figura 3** mostra o esquema de uma célula BIA adaptada para o uso do BDD. A injeção da solução é feita na posição oposta ao eletrodo de trabalho (configuração “*wall-jet*”). O sistema pode ainda ser operado com ou sem a agitação da solução no interior da célula (PEREIRA *et al.*, 2012).

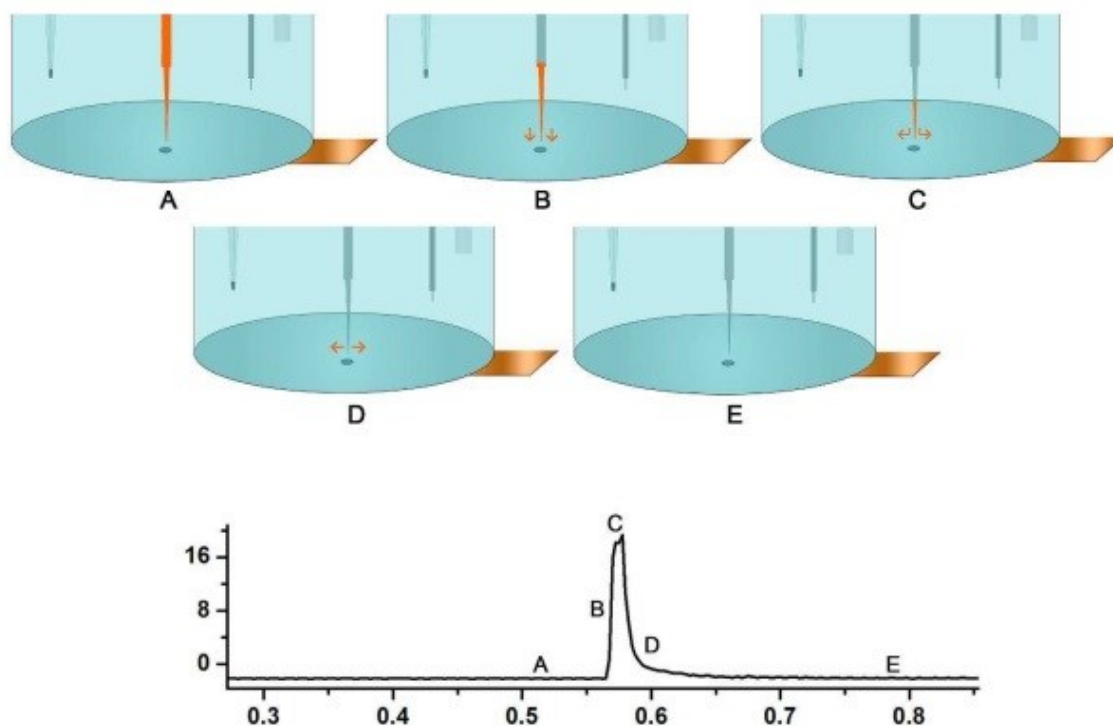
**Figura 3.** Esquema de uma célula BIA adaptada para o uso do eletrodo de BDD.



Fonte: da SILVA, 2017.

A passagem das espécies eletroativas sobre a superfície do eletrodo de trabalho resulta em sinais transientes (picos), onde os conceitos envolvendo um sistema BIA com detecção eletroquímica podem ser explicados pelas etapas apresentadas na **Figura 4**.

**Figura 4.** Etapas de operação de um sistema BIA com detecção eletroquímica (amperometria) e respectivo pico transiente obtido **(A)** antes da injeção **(B)** durante a injeção **(C)** final da injeção **(D)** dispersão **(E)** equilíbrio final.



Fonte: da SILVA, 2017.

Antes da injeção da solução contendo a espécie estudada, observa-se uma corrente residual constante gerada a partir do eletrólito inerte e aplicação de um potencial (**Figura 4A**). Quando ocorre a injeção da solução sobre o eletrodo de trabalho (**Figura 4B**), há um rápido aumento da corrente faradaica até chegar em um valor máximo (**Figura 4C**). A magnitude da corrente observada é proporcional à concentração da solução injetada, se esta se encontra na faixa linear de resposta. Após a injeção ocorre uma queda do sinal em direção a linha de base (**Figura 4D**) até atingir o equilíbrio existente antes da injeção (corrente residual; **Figura 4E**).

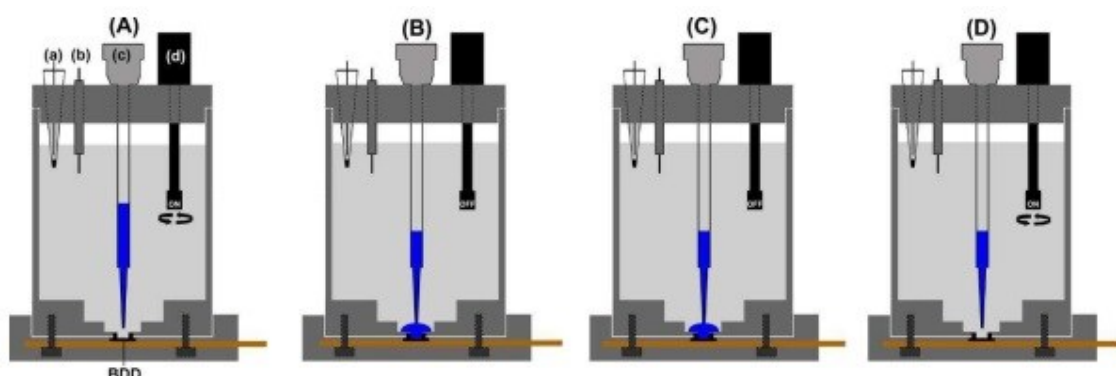
O retorno da corrente ao patamar da linha de base antes da injeção pode ser acelerado através do uso de agitação mecânica da solução no interior da célula BIA (PEREIRA *et al.*, 2012). Na operação do sistema BIA, parâmetros como velocidade e volume de injeção necessitam ser reprodutíveis. Para este fim, a utilização de pipetas eletrônicas com dispensação programável (WANG *et al.*, 1992) possibilita que esta operação tenha alta reprodutibilidade (GIMENES *et al.*, 2012).

## 1.7. Técnica BIA-SWV

A técnica SWV acoplada a BIA possibilita a triagem e quantificação rápida de espécies em amostras simples e complexas apresentando vantagens sobre as demais técnicas, como menor geração de resíduos, menor custo de aquisição, uso de equipamentos relativamente simples e com características portáteis (FREITAS *et al*, 2017; PEREIRA *et al*, 2013; QUINTINO *et al*, 2004; TORMIN *et al*, 2014; TORMIN *et al*, 2016; WANG *et al*, 1991).

A **Figura 5** mostra um esquema de como geralmente ocorre a análise em um sistema BIA-SWV (**Figura 5A**). Um potencial de condicionamento (opcional) pode ser aplicado ao eletrodo de trabalho. Durante essa etapa, para maior eficiência, a solução dentro da célula BIA normalmente é agitada; (**Figura 5B**) uma alíquota de solução amostra ou padrão (~100 µL) é injetada sobre a superfície do eletrodo de trabalho com solução no interior da célula no estado estacionário (a alíquota injetada permanece junto ao eletrodo por um curto período de tempo); (**Figura 5C**) após a injeção, uma varredura por SWV é realizada na faixa de potencial selecionada; (**Figura 5D**) a solução no interior da célula BIA é agitada novamente para que a alíquota injetada seja removida da superfície do eletrodo (elevada diluição). Após essa etapa um novo procedimento de análise pode ser realizado.

**Figura 5.** Esquema de um procedimento de análise com o sistema BIA-SWV: **(a)** eletrodo de referência; **(b)** eletrodo auxiliar; **(c)** ponteira da micropipeta; **(d)** micromotor DC. Os estágios do procedimento são: **(A)** Etapa de condicionamento; **(B)** etapa de injeção; **(C)** aplicação da SWV; **(D)** sistema BIA-SWV pronto para uma nova injeção.



Fonte: OLIVEIRA *et al.*, 2016.

## **1.8. Validação do procedimento analítico**

Para a validação de um procedimento é necessário realizar os estudos de alguns parâmetros analíticos, tais como especificidade, seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, repetibilidade, recuperação, dentre outros. A seguir uma breve descrição dos parâmetros utilizados no presente trabalho (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2007; HARRIS, 2016).

### **1.8.1. Especificidade e seletividade**

Um método específico é capaz de gerar resposta para apenas um analito em específico. Um método seletivo é capaz de identificar vários analitos, mas pode distinguir a resposta de um analito da de outros. Portanto, quando desenvolvemos um método analítico para o teste de especificidade e seletividade é preciso analisar o sinal do analito na presença das impurezas que possivelmente estarão presentes no meio. (FREITAS, 2015; HARRIS, 2016; INMETRO, 2007).

### **1.8.2. Linearidade**

Linearidade é a capacidade de um método analítico produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração da espécie analítica em uma dada faixa de concentração. A relação matemática entre o sinal medido (área ou altura do pico) e a concentração ou massa da espécie de interesse, muitas vezes, pode ser expressa como uma equação de reta chamada de curva analítica (FREITAS, 2015; HARRIS, 2016; INMETRO, 2007).

A equação da reta que relaciona as duas variáveis é:

$$y = a + bx$$

Onde:

y = resposta da medida (absorbância, altura ou área do pico, etc.);

x = concentração;

a = interseção com o eixo y, quando x = 0;

b = inclinação da curva de calibração = sensibilidade.



O coeficiente de correlação linear ( $r$ ) permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor é a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. A relação linear descrita pela equação da reta só é válida em um determinado intervalo de massa ou concentração da espécie medida, no qual se pode construir uma curva analítica linear e é a chamada faixa linear dinâmica. Para definição da faixa linear de resposta, necessita-se de pelo menos cinco níveis crescentes de concentração, no mínimo três análises de cada concentração, com estimativa do desvio padrão relativo inferior a 5% (FREITAS, 2015; HARRIS, 2016; INMETRO, 2007; ANVISA, 2003; EMEA, 1995).

### **1.8.3. Limite de Detecção**

O limite de detecção (LD) é a menor concentração da espécie analítica que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (FREITAS, 2015; INMETRO, 2007; HARRIS, 2016). Para os métodos que empregam uma curva analítica, o LD pode ser expresso como:

$$LD = \frac{3 \times DPb}{b}$$

Onde:

DPb = desvio padrão do branco;

b = coeficiente angular da curva analítica ou sensibilidade da calibração.

### **1.8.4. Limite de Quantificação**

O Limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão (concordância entre os vários resultados obtidos da mesma forma) e exatidão (é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro). (FREITAS, 2015; HARRIS, 2016). O LQ pode ser calculado utilizando a seguinte equação:

$$LQ = \frac{10 \times DPb}{b}$$

### 1.8.5. Repetibilidade

É o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas de condições de repetitividade (mesmo procedimento de medição; mesmo observador; mesmo instrumento usado sob mesmas condições; mesmo local, e repetições em curto espaço de tempo) (INMETRO, 2007).

A repetibilidade do método é verificada contemplando o intervalo linear do método e pode ser expressa quantitativamente como o desvio padrão ou desvio padrão relativo de uma série de medidas (FREITAS, 2015). O desvio padrão relativo (DPR) é calculado da seguinte forma:

$$\text{DPR (\%)} = \frac{\text{DPx}}{\bar{x}}$$

Onde:

DPx = Desvio padrão da concentração encontrada;

$\bar{x}$  = Concentração média encontrada.

### 1.8.6. Recuperação

A recuperação (ou fator de recuperação) é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (FREITAS, 2015; INMETRO, 2007). A recuperação é calculada a partir da equação:

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

Onde:

$C_1$  = concentração do analito na amostra fortificada,

$C_2$  = concentração do analito na amostra não fortificada,

$C_3$  = concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

É importante considerar que a eficiência de um método analítico varia em função da concentração da substância (RIBANI, 2004). Na maioria dos casos, a dispersão dos resultados aumenta com a diminuição da concentração e a recuperação pode diferir substancialmente em altas e baixas concentrações. Por esse motivo, a recuperação deve

ser avaliada na faixa de concentração esperada para o composto de interesse. Isto pode ser feito adicionando à substância (analito) em pelo menos três diferentes concentrações, por exemplo, próximo ao limite de quantificação, próximo à concentração máxima permitida pelo método em teste e em uma concentração próxima à média da faixa de uso do método (RIBANI, 2004; FREITAS, 2015).

### **1.9. Método de adição de padrão**

O método de adição de padrão consiste na adição de quantidades conhecidas de analito à amostra e a partir do aumento do sinal é deduzido a quantidade de analito presente. Uma condição para a utilização desse método é que a resposta da medida (absorbância, altura ou área do pico, etc.) seja proporcional à concentração do analito. A adição de padrão é utilizada para desconsiderar o efeito de matriz, ou seja, quando qualquer substância presente na amostra afeta o sinal analítico (HARRIS, 2016).

## **2. Objetivos**

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um método eletroquímico simples, de baixo custo e com características portáteis para a triagem rápida de fluoxetina em suplementos termogênicos, medicamentos manipulados e fitoterápicos emagrecedores. Propomos dois métodos: **(I)** Utilizando a SWV associada a célula eletroquímica convencional (modo estacionário); **(II)** utilizando a voltametria de onda quadrada associada a um sistema de análise por injeção em batelada (BIA-SWV); ambos utilizando diamante dopado com boro (BDD) como eletrodo de trabalho, eletrodo de Ag/AgCl como eletrodo de referência e um fio de platina como contra eletrodo.

## **3. Metodologia**

### **3.1. Amostras e reagentes**

O padrão de fluoxetina (FLU) de origem sintética foi adquirido da empresa Fagron – Índia. As amostras de um medicamento manipulado e de fitoterápicos usados com o objetivo de emagrecimento, quitosana, chá verde (*Camellia sinensis*) e garcinia (*Garcinia cambogia*), foram adquiridas em farmácias magistrais. O suplemento

termogênico Thermodrol<sup>®</sup> foi adquirido em uma loja especializada. O ácido sulfúrico utilizado foi adquirido da empresa Vetec<sup>®</sup>, o hidróxido de sódio e o ácido bórico na empresa Panreac Química<sup>®</sup> e os ácidos acético e fosfórico pela empresa Synth<sup>®</sup>.

### **3.2. Preparo das soluções e amostras**

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada (resistividade superior a 18 MΩ cm) obtida de sistema de purificação Direct-Q (Millipore). Todos os reagentes utilizados apresentavam pureza analítica e foram usados sem purificação prévia.

A solução estoque de FLU foi preparada na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> em meio de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> perfazendo 10 mL de solução. Para a análise, as soluções de FLU foram obtidas a partir da diluição de alíquotas da solução estoque em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> conforme cada concentração final correspondente.

As soluções amostras foram preparadas a partir da dissolução de 1 g do produto em água deionizada e diluídas em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH≈1) obtendo uma solução final de 1000 mg L<sup>-1</sup> para a posterior análise no sistema eletroquímico. No preparo desse eletrólito suporte, 5,30 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> comercial (98 %) foram diluídos em água em um balão volumétrico de 1,00 L.

Para o estudo de efeito do pH no comportamento eletroquímico da FLU utilizamos como eletrólito a solução tampão Britton-Robbinson (BR) que foi preparada pela mistura dos ácidos bórico, acético e fosfórico. A concentração final do tampão BR foi de 0,12 mol L<sup>-1</sup>. Os diferentes pHs foram ajustados com solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>.

### **3.3. Medidas voltamétricas**

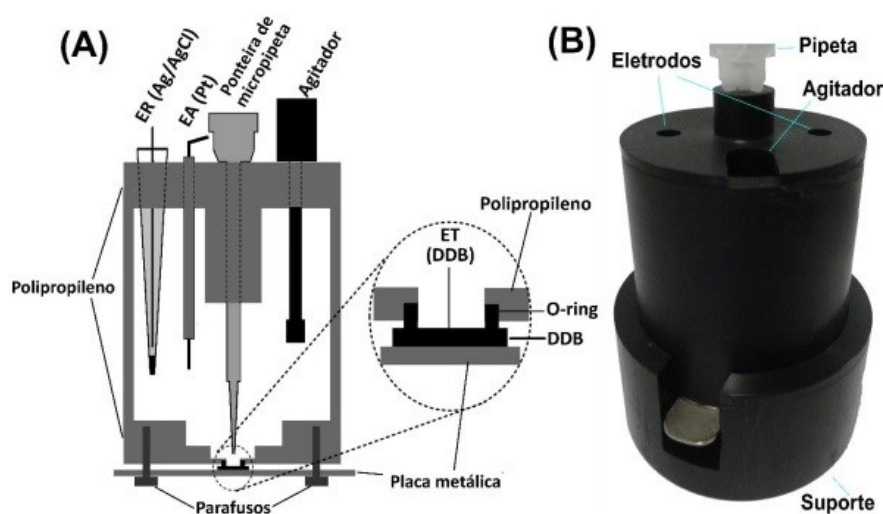
Na realização das medidas voltamétricas foi utilizado um potenciostato/galvanostato da Autolab modelo μAUTOLAB tipo III, interfaceado a um computador através do software NOVA 2.1. Nas medidas sob condições portáteis, pode ser utilizado um mini potenciostato portátil do modelo 910 PSTA mini da DropSens e um notebook, ambos funcionais com a utilização de bateria interna. Neste trabalho, foram realizadas correções da linha-base a partir do software NOVA 2.1. Todas as medidas foram realizadas em triplicata (n=3) e os dados foram tratados através dos softwares Excel 2013 e Origin Pro 8.

### 3.4. Sistemas BIA e estacionário

Nos estudos realizados com o sistema BIA, utilizou-se uma célula construída no próprio laboratório a partir de um tarugo de polipropileno com as seguintes dimensões:  $\varnothing = 7,5$  cm; comprimento: 6 cm. Com auxílio de um torno (oficina da Faculdade de Engenharia Mecânica – UFU), um orifício com as seguintes dimensões foi efetuado no tarugo:  $\varnothing_{\text{interno}} = 6$  cm; profundidade = 5 cm; volume total =  $\approx 150$  mL (TORMIN, 2011). Uma tampa de polipropileno foi fixada no lado aberto do tarugo. Um orifício foi feito tanto na tampa quanto na base do tubo.

Além do orifício para o posicionamento da ponteira do sistema de injeção, a tampa superior pode conter até três orifícios: dois para fixação dos eletrodos auxiliar e referência e um para a inserção do agitador mecânico (quando necessário). O sistema de agitação é composto por um micro-motor DC 12 V usado originalmente em secadores de cabelos e brinquedos elétricos. Ao eixo deste micromotor foi adaptada uma haste de teflon e a velocidade de agitação (700 a 4000 rpm) é controlada com uma fonte universal de tensão variável de 3 a 12 V (PEREIRA, 2012). Quanto maior a voltagem selecionada, maior é a rotação do motor. A **Figura 6 (A e B)** ilustram a célula BIA utilizada no trabalho.

**Figura 6.** (A) Esquema da célula BIA utilizada no trabalho; (B) Imagem da célula BIA.

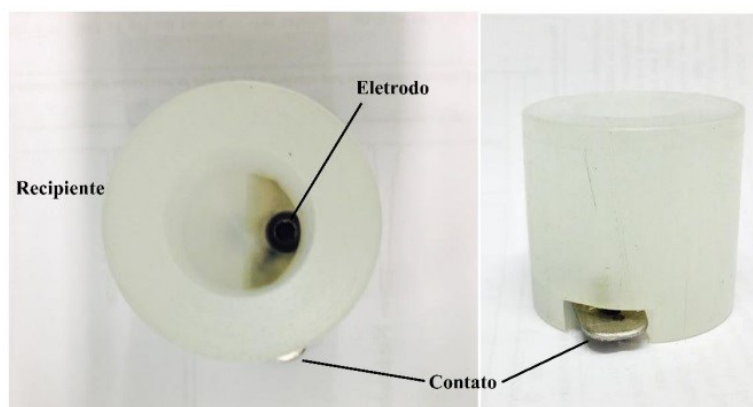


Fonte: FREITAS, 2015.

A célula foi construída de forma que durante a injeção, a ponteira fique posicionada a aproximadamente 2 mm do eletrodo de trabalho com o objetivo de obter resultados reprodutíveis durante as análises (QUINTINO, 2004). Para a injeção de soluções neste sistema foi utilizada uma pipeta eletrônica (Eppendorf® Multipette stream) que permite injeções de 10 a 1000  $\mu\text{L}$  (usando um combitip® de 1000  $\mu\text{L}$ ) com velocidades de injeção de 28 a 250  $\mu\text{L s}^{-1}$ .

Nas medidas voltamétricas estacionárias com o eletrodo de BDD, uma célula de polipropileno com volume total de 10 mL foi utilizada. Nesta célula, o eletrodo de BDD (0,7 x 0,7 cm) foi posicionado no fundo da mesma com auxílio de um anel (“o-ring”) de borracha, e fixado (pressionado) sobre o anel com auxílio de parafusos, similar ao apresentado na **Figura 7**.

**Figura 7.** Célula de polipropileno utilizada nos experimentos conduzidos em sistema estacionário com eletrodo de BDD posicionado no fundo da mesma.



Fonte: FREITAS, 2015.

Como eletrodos de trabalho, referência e auxiliar foram usados, respectivamente, BDD, Ag/AgCl (KCl sat.) miniaturizado (PEDROTTI, 1996) e um fio de platina.

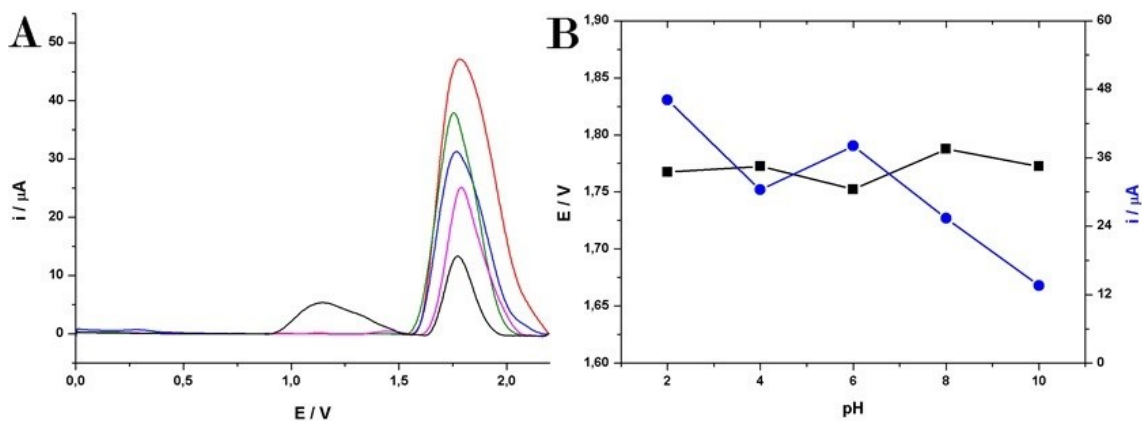
## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Comportamento eletroquímico da FLU e o efeito do pH

Inicialmente o comportamento eletroquímico da FLU foi estudado em função do pH, foi utilizado um tampão Britton-Robinson (BR) 0,04 mol L<sup>-1</sup>, variando o pH de 2 a 10 com adição de alíquotas de solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>. A **Figura 8A** mostra os

voltamogramas de onda quadrada obtidos para a FLU neste estudo. **Figura 8B** ilustra a variação do potencial (E) e da corrente de pico (i) em função pH.

**Figura 8.** (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para FLU ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ) com a variação de pH: pH 2 (—), pH 4 (—), pH 6 (—), pH 8 (—) e pH 10 (—). (B) Variação da corrente (●) e do potencial (■), obtida a partir da variação do pH.



A partir da **Figura 8A** podemos observar uma corrente de pico de oxidação entre 1,7 e 1,8 V (característico da FLU) em soluções com pH até 9 e dois picos em solução com pH 10 (1,1 e 1,8 V). Na **Figura 8B** podemos observar que na faixa de pH estudada (2 ao 10), o potencial de oxidação da FLU se manteve praticamente constante e a corrente de pico vai diminuindo com o aumento do pH. Testes também foram realizados em meio de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH  $\approx 1$ ) e uma corrente de  $36,8 \mu\text{A}$  foi observada para  $50 \text{ mg L}^{-1}$ . Portanto, como a solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  também é usada no pré-tratamento eletroquímico dos eletrodos de BDD, esta solução foi selecionada para os demais estudos como eletrólito suporte

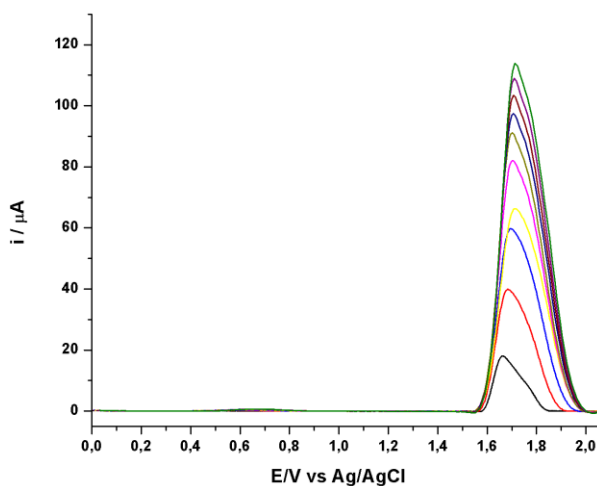
#### 4.2. Otimizações dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada (SWV)

No desenvolvimento de um método de análise empregando SWV, os seguintes parâmetros instrumentais necessitam ser otimizados para obtenção de melhor resposta em termos de sensibilidade, estabilidade e largura (perfil) de pico: incremento de varredura de potencial ( $\Delta E_s$ ), frequência de aplicação dos pulsos de potenciais ( $f$ ) e amplitude de pulsos de potencial ( $a$ ).

#### 4.2.1. Incremento de potencial

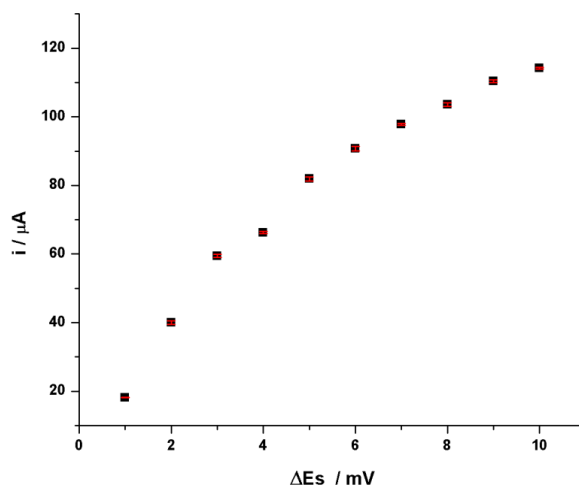
O incremento de potencial ( $\Delta E_s$ ) foi avaliado no intervalo entre 1 e 10 mV, mantendo-se constante a frequência e amplitude de aplicação de pulso em  $50 \text{ s}^{-1}$  e 50 mV, respectivamente. Os voltamogramas de onda quadrada registrados neste estudo são apresentados na **Figura 9**.

**Figura 9.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para  $40 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em função dos valores  $\Delta E_s$  step (1 a 10 mV). Demais parâmetros de onda quadrada:  $f = 50 \text{ s}^{-1}$  e  $a = 50 \text{ mV}$ , em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .



A relação entre a corrente de pico e os valores  $\Delta E_s$  para os voltamogramas da **Figura 9** é apresentada pela curva na **Figura 10**.

**Figura 10.** Relação entre a corrente de pico e a variação dos valores de  $\Delta E_s$  para os voltamogramas da Figura 9, com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ .



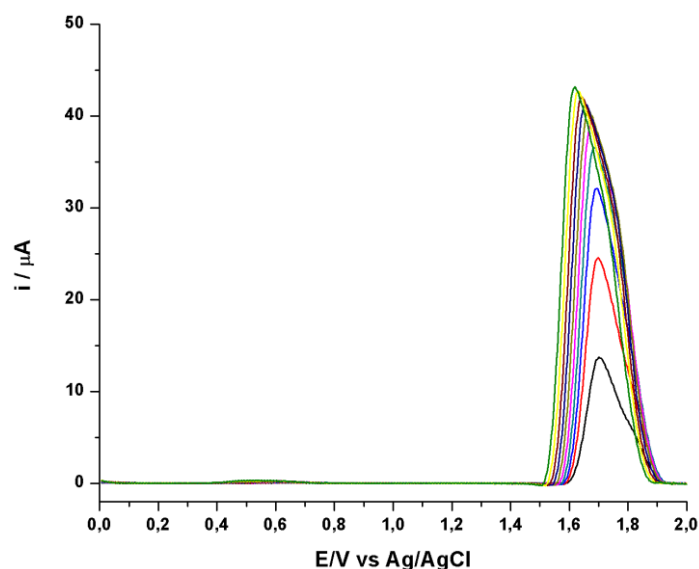


A partir da análise da **Figura 9** visualizou-se que o aumento no  $\Delta E$ s provocou um aumento na intensidade da corrente, porém, um aumento na largura do pico, o que pode ser um problema na separação da FLU de outros compostos eletroativos presentes em amostras complexas. Com base nesta observação e com os dados obtidos **Figura 10**, o valor de  $\Delta E$  escolhido foi o de 5 mV, o qual apresentou um desvio padrão relativo (DPR) igual a 0,7% para  $n=3$ .

#### 4.2.2. Amplitude de aplicação dos pulsos de potencial

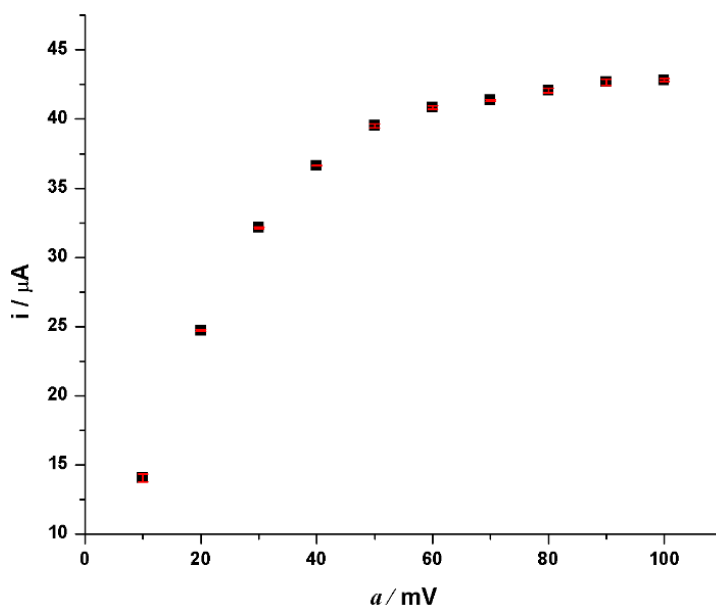
A variação da amplitude de aplicação dos pulsos de potenciais na oxidação da FLU foi avaliada, para leitura de soluções contendo 40 mg L<sup>-1</sup>. A **Figura 11** mostra os voltamogramas obtidos mediante a variação deste parâmetro entre 10 e 100 mV, mantendo-se constante a  $f$  em 50 s<sup>-1</sup> e o  $\Delta E$ s em 2 mV.

**Figura 11.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para leitura de FLU 40 mg L<sup>-1</sup> em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> em função da variação dos valores de amplitude (10 a 150 mV). Parâmetros de onda quadrada:  $\Delta E$ s= 2mV e  $f$ = 50 mV.



A relação entre a corrente de pico e a variação dos valores de amplitude para os voltamogramas da **Figura 11** é mostrada através da curva na **Figura 12**.

**Figura 12.** Relação entre a corrente de pico e a variação dos valores de amplitude para os voltamogramas da Figura 11, com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ .

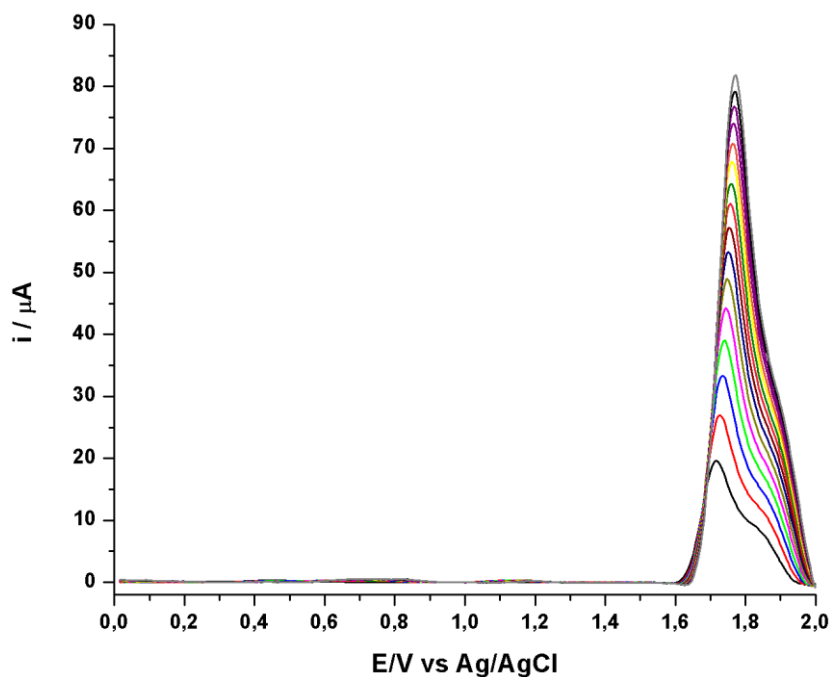


Analisando a **Figura 11**, observou-se que com o aumento da amplitude de pulso, há um aumento da corrente de oxidação, no entanto, altos valores de amplitude provocou alargamento do pico. Com base nessa observação e com os dados obtidos pela curva da **Figura 12**, o valor de  $a$  escolhido foi o de 40 mV que apresentou um desvio padrão relativo (DPR) igual a 0,1% para  $n=3$ .

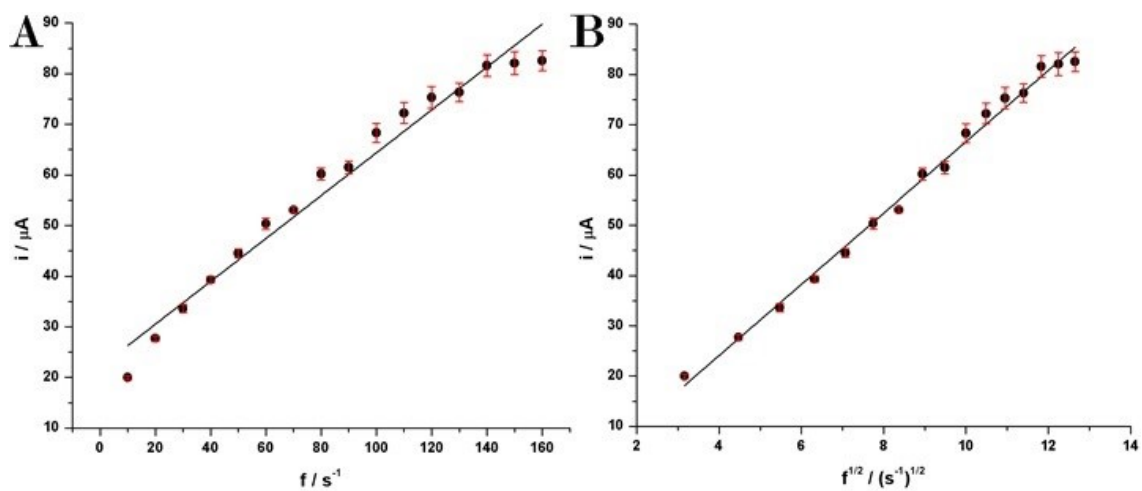
#### 4.2.3. Frequência de aplicação dos pulsos de potencial

A **Figura 13** apresenta os voltamogramas de onda quadrada registrados para a FLU, com frequência de aplicação de pulso variando entre 10 e 160  $\text{s}^{-1}$ , mantendo-se constante a  $a$  em 40 mV e o  $\Delta E_s$  em 5 mV.

**Figura 13.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para leituras FLU 40 mg L<sup>-1</sup> em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> em função da variação dos valores de frequência (10 a 160 s<sup>-1</sup>). Parâmetros de onda quadrada: ΔEs= 5mV e a = 40 mV.



**Figura 14.** Relação entre a corrente de pico e a variação dos valores de frequência para os voltamogramas da Figura 9. (A)  $i$  vs  $f$ ,  $r = 0,984$ ; (B)  $i$  vs  $f^{1/2}$ ,  $r = 0,997$ , com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ .

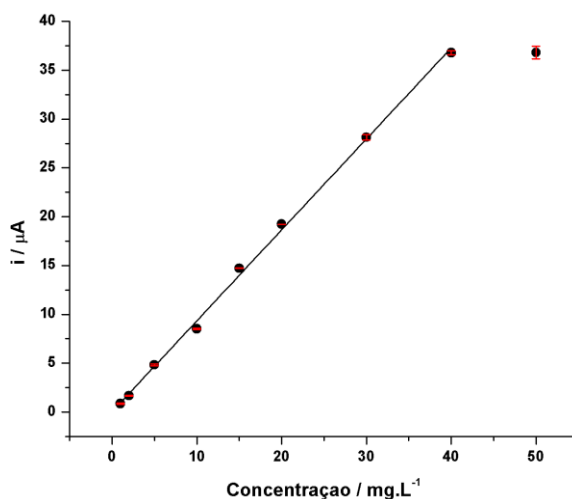


No processo de oxidação da FLU sob condições otimizadas anteriormente, o aumento da frequência de aplicação de pulsos de potencial provocou um aumento na corrente de pico. Conforme a teoria proposta por (O'DEA; RIBES; OSTERYOUNG, 1993), em sistemas envolvendo processos de adsorção de espécies eletroativas na superfície do eletrodo, a corrente de pico varia linearmente com a frequência de aplicação da onda quadrada. Foi observado nas **Figura 14 A e B** que a relação entre corrente de pico e raiz quadrada da frequência de aplicação de onda quadrada apresenta melhor linearidade, apresentando coeficiente de correlação igual a 0,997. Isso é um indicativo de que o transporte de massa das espécies eletroativas na superfície do eletrodo de BDD é preferencialmente controlado por difusão e não envolve, exclusivamente, adsorção de FLU e/ou produtos de sua oxidação. A partir dos dados obtidos pela **Figura 14**, a frequência escolhida foi a de  $60 \text{ s}^{-1}$  com DPR igual a 2,3 % para  $n=3$ .

### 4.3. Faixa Linear

Após a otimização dos parâmetros da SWV foi avaliada a faixa de concentração da FLU onde existe uma relação linear com a corrente de oxidação da espécie. A **Figura 15** apresenta a curva de calibração (corrente de oxidação vs concentração) obtida para soluções contendo 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 e 50  $\text{mg L}^{-1}$  de FLU.

**Figura 15.** A curva analítica obtida para soluções contendo 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 e 50  $\text{mg L}^{-1}$  de FLU em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ( $r = 0,998$ ). Eletrólito suporte:  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; ET: BDD;  $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ ;  $a = 40 \text{ mV}$ ;  $f = 50 \text{ mV}$ , com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ .

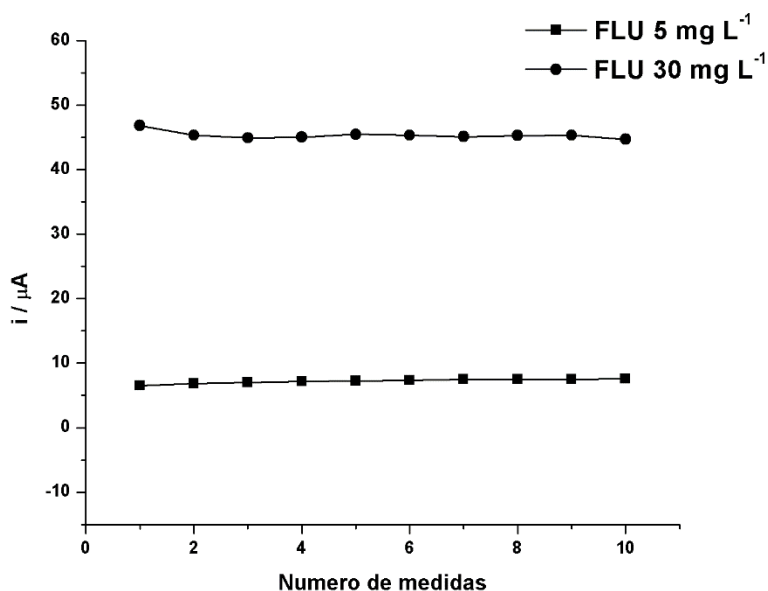


Após análise da **Figura 15** ( $r = 0,998$ , inclinação de  $0,932 \pm 0,0152 \mu\text{A L mg}^{-1}$  e intercepto de  $0,0197 \pm 0,306 \mu\text{A}$ ), é possível afirmar que a linearidade se encontra entre as concentrações de 2 a  $40 \text{ mg L}^{-1}$ . Valores acima de  $40 \text{ mg L}^{-1}$  prejudicam a linearidade do método proposto, a resposta deixa de ser linear.

#### 4.4. Repetibilidade

Após a definição das melhores condições de trabalho, um estudo para avaliação da repetibilidade foi realizado em sistema estacionário. Na **Figura 16** são apresentados os resultados obtidos para 10 injeções sucessivas de soluções contendo FLU em duas concentrações diferentes,  $5 \text{ mg L}^{-1}$  e  $30 \text{ mg L}^{-1}$ .

**Figura 16.** Resultados obtidos por SWV em sistema estacionário para soluções contendo FLU nas concentrações de 5 e  $30 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 10$ ). Demais condições: Fig. 15.



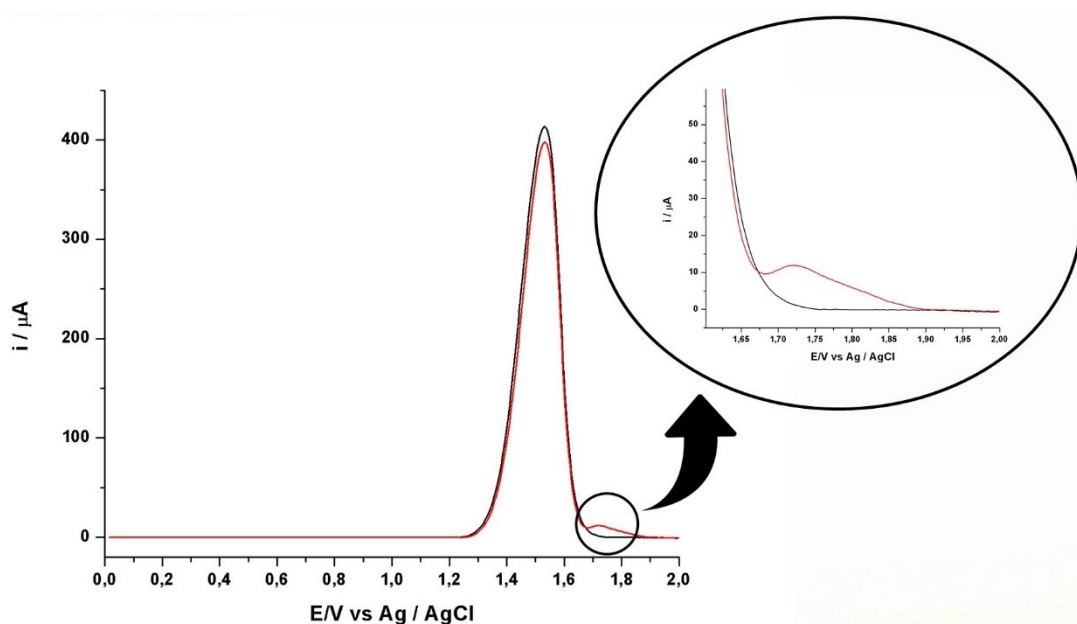
Os resultados apresentados na **Figura 16** atestam pouca variação na corrente de pico de oxidação da FLU registrada ao longo das medidas repetitivas, evidenciando a ausência de contaminação significativa da superfície do eletrodo e uma boa estabilidade do sistema. O desvio padrão relativo calculado para  $5 \text{ mg L}^{-1}$  foi de 4,6 % e para  $30 \text{ mg L}^{-1}$  igual 1,2%.

#### 4.5. Aplicação do método desenvolvido para triagem (“screening”) de FLU em amostras reais

##### 4.5.1. Thermodrol®

O Thermodrol® é um suplemento alimentar, estimulante e termogênico a base de cafeína anidra, extrato de guaraná e extrato de noz cola, com 420 mg de cafeína por cápsula. Inicialmente, o procedimento para triagem desse suplemento foi estudado por voltametria de onda quadrada usando diamante dopado com boro (BDD) como eletrodo de trabalho. Na **Figura 17** é apresentado o voltamograma obtido para uma solução de Thermodrol® 1000 mg L<sup>-1</sup> (diluída 100 vezes em em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>) antes e após ser fortificada com 20 mg L<sup>-1</sup> de uma solução estoque de FLU.

**Figura 17.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Thermodrol em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após (—) fortificação com 20 mg L<sup>-1</sup> de FLU (—). Demais condições: Fig. 15.

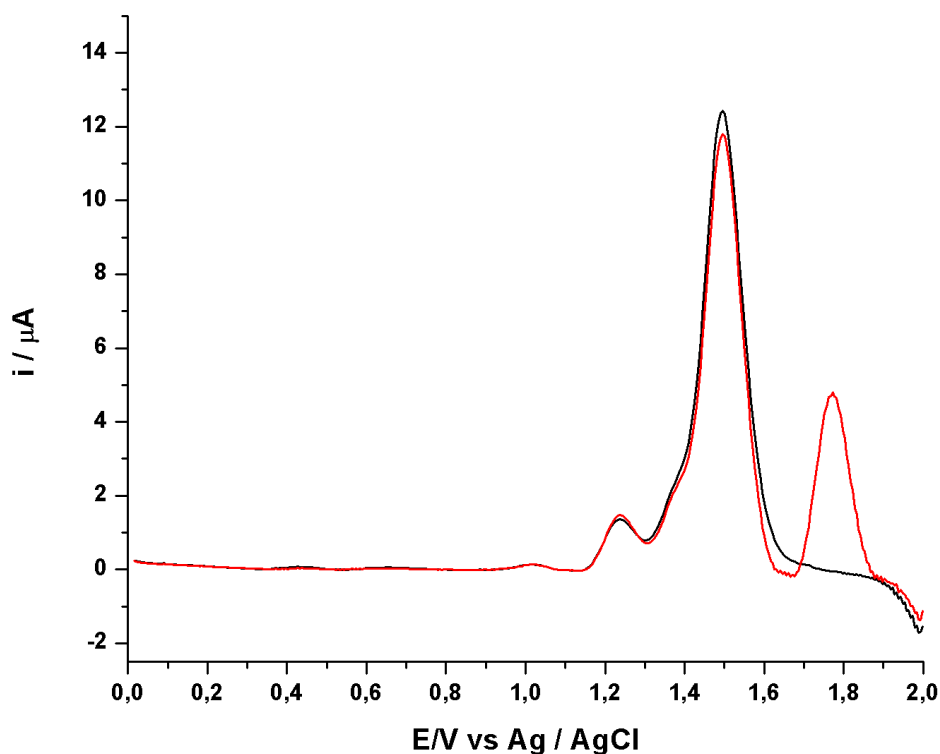


Analisando a **Figura 17** é possível observar o pico característico da cafeína (CAF), em aproximadamente 1,5 V nos dois experimentos realizados. No entanto, um pico característico da FLU, em aproximadamente 1,7 V, é observado somente na solução após (—) a adição de 20 ppm de FLU. Portanto, nessas condições, é possível detectar a presença de FLU no suplemento Thermodrol®, e consequentemente, a ausência.

#### 4.5.2. Medicamento utilizado no emagrecimento

O medicamento avaliado foi manipulado em uma farmácia magistral local. A composição do medicamento era a seguinte: 150 mg de Bupropiona, 20 mg de Furosemida, 150 mg de Spirulina e 150 mg de Sinetrol. Esta formulação foi estudada nas mesmas condições da amostra anterior. Na **Figura 18** são apresentados os voltamogramas obtidos para uma solução deste medicamento antes (—) e após (—) a adição de FLU.

**Figura 18.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> da formulação em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após a fortificação com 20 mg L<sup>-1</sup> de FLU(—). Demais condições: Fig. 15.

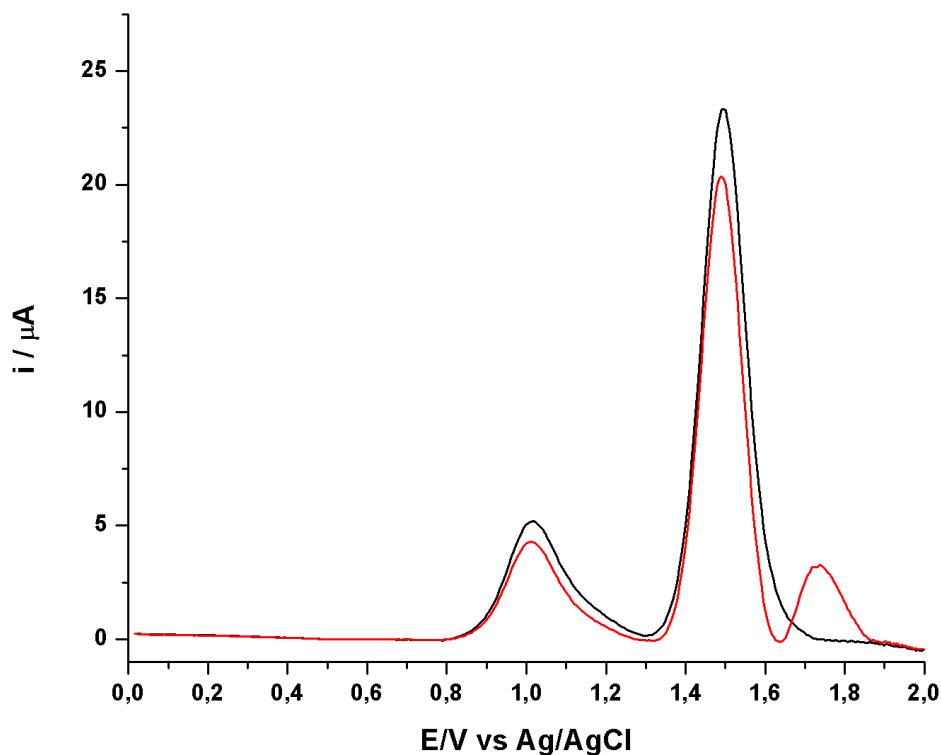


Na **Figura 18** podemos observar picos em aproximadamente 1,2 V e 1,5 V em ambas as soluções (amostra não fortificada e fortificada com FLU). No entanto, o pico característico da FLU, em aproximadamente 1,7 V, somente é observado na solução após a adição de 20 ppm de FLU (—). Mais uma vez é possível concluir que a detecção da presença ou ausência de FLU neste tipo de amostra é possível.

### 4.5.3. Chá verde

O chá verde é considerado um fitoterápico emagrecedor, pois tem sido demonstrado, em modelos de células animais e humanas que esse chá pode promover o emagrecimento corporal e auxiliar na prevenção e tratamento da obesidade (FREITAS, *et al.* 2007). O chá verde foi estudado nas mesmas condições das amostras anteriores e na **Figura 19** são apresentados os voltamogramas obtidos.

**Figura 19.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> do chá verde em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após fortificação com 20 mg L<sup>-1</sup> de FLU(—). Demais condições: Fig. 15.



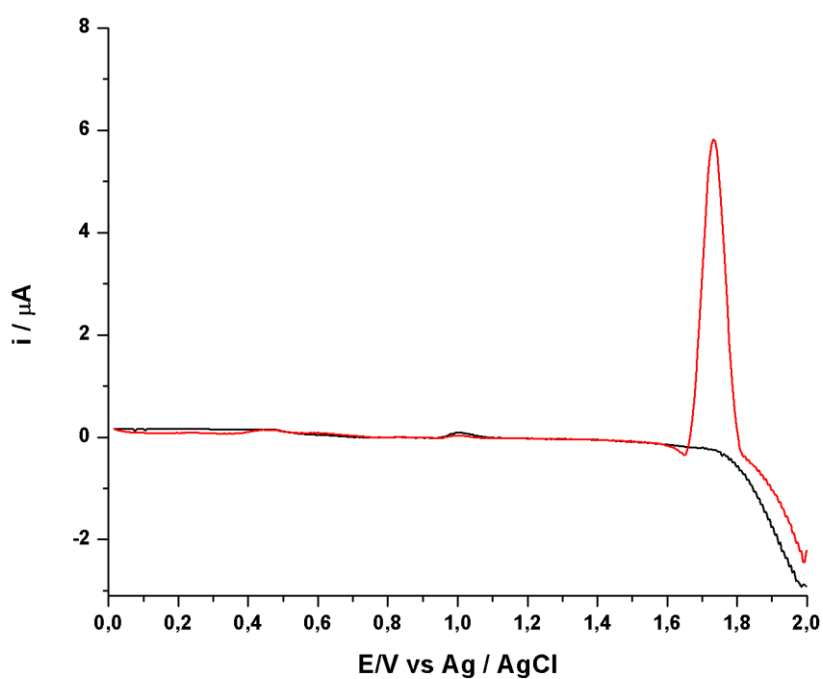
Na **Figura 19** é possível observar picos em aproximadamente 1,0 V e 1,5 V em ambas as soluções. No entanto, o pico característico da FLU, em aproximadamente 1,7 V, somente é observado na solução após a adição de 20 mg L<sup>-1</sup> de FLU (—). Podemos concluir que a detecção da presença ou ausência de FLU na amostra de chá verde é possível.



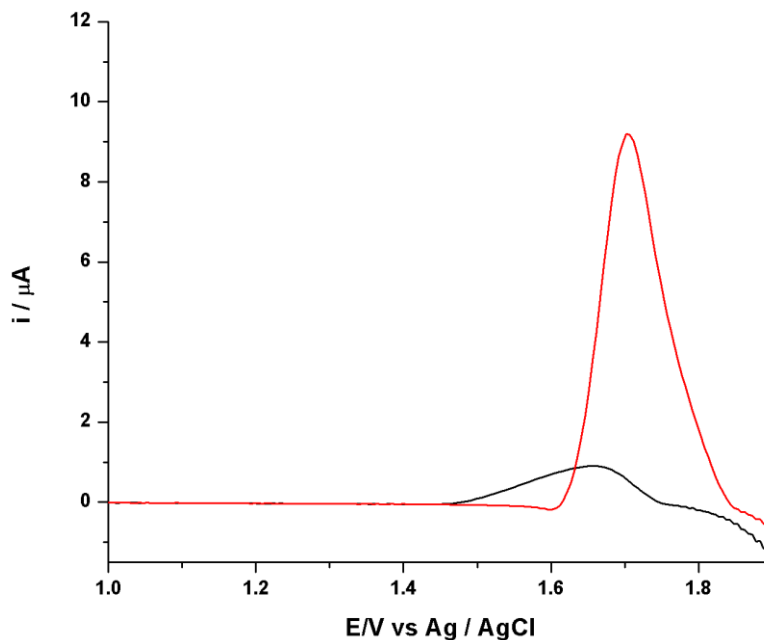
#### 4.5.4. Quitosana e garcinia

A quitosana e a garcinia são suplementos fitoterápicos que podem ser utilizados para o combate da obesidade em humanos (DAMIAN, *et al.* 2005; ROSA, *et al.* 2016). Estes suplementos foram estudados sob as mesmas condições das amostras anteriores. Nas **Figuras 20 e 21**, respectivamente, são apresentados os voltamogramas obtidos antes e após a adição de 20 mg L<sup>-1</sup> de FLU.

**Figura 20.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> da quitosana em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após fortificação com 20 mg L<sup>-1</sup> de FLU (—). Demais condições: Fig. 15.



**Figura 21.** Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> de garcinia em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> antes (—) e após dopagem com 20 mg L<sup>-1</sup> de FLU(—). Demais condições: Fig. 15.

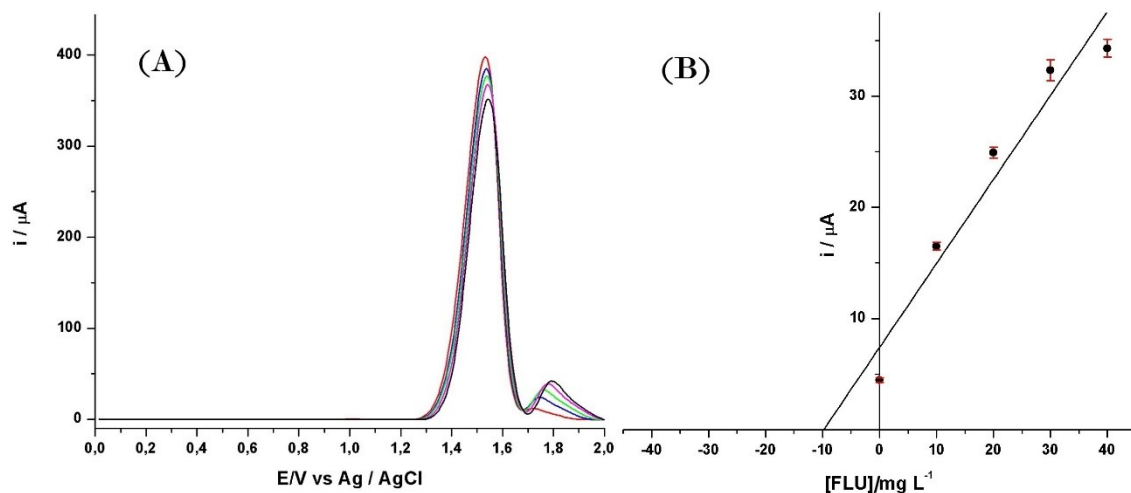


Na **Figura 20** é possível observar que o pico característico da FLU, em aproximadamente 1,7 V, somente é observado na solução após a fortificação com 20 mg L<sup>-1</sup> de FLU (—). Na **Figura 21** observou-se que na análise da solução contendo somente Garcinia (sem adição de FLU), existe onda alargada na região de potencial entre 1,6 e 1,7 V. Após a dopagem com FLU, o pico aumenta e apresenta melhor definição em 1,7 V. Conclui-se então, que é possível detectar a presença ou ausência da FLU na amostra de quitosana, porém no caso da garcinia a detecção pode ser dificultada pela presença de alguma substância interferente na amostra que oxida na mesma região de potencial da FLU.

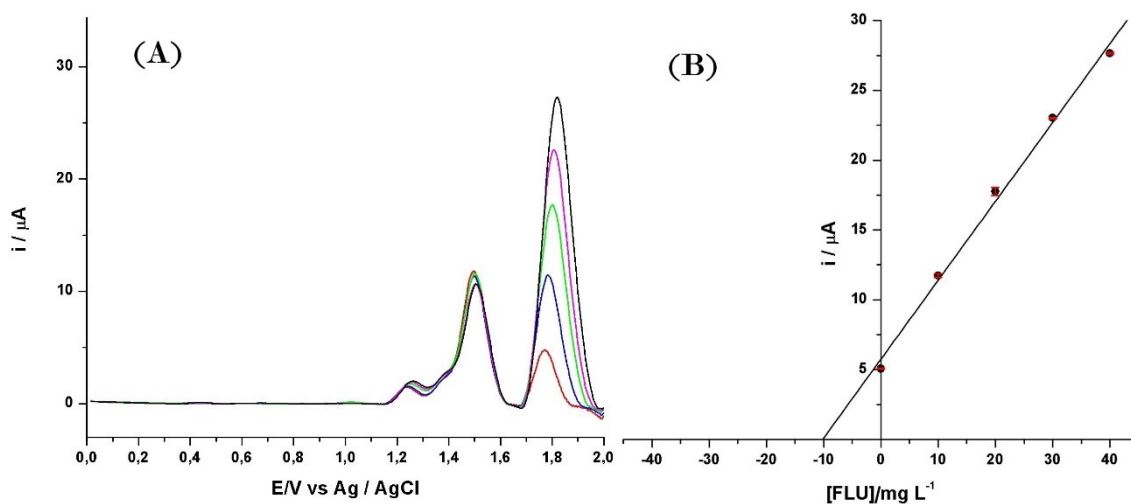
#### **4.6. Determinação de FLU nas amostras por SWV utilizando o método de adição de padrão**

As amostras em estudo foram analisadas utilizando a técnica SWV e o método de adição de padrão. As **Figuras 22, 23, 24, 25 e 26** ilustram os voltamogramas obtidos e as respectivas curvas de adição de padrão obtidas. A **Tabela 1** reúne as características analíticas do método proposto e os percentuais obtidos nos estudos de adição e recuperação.

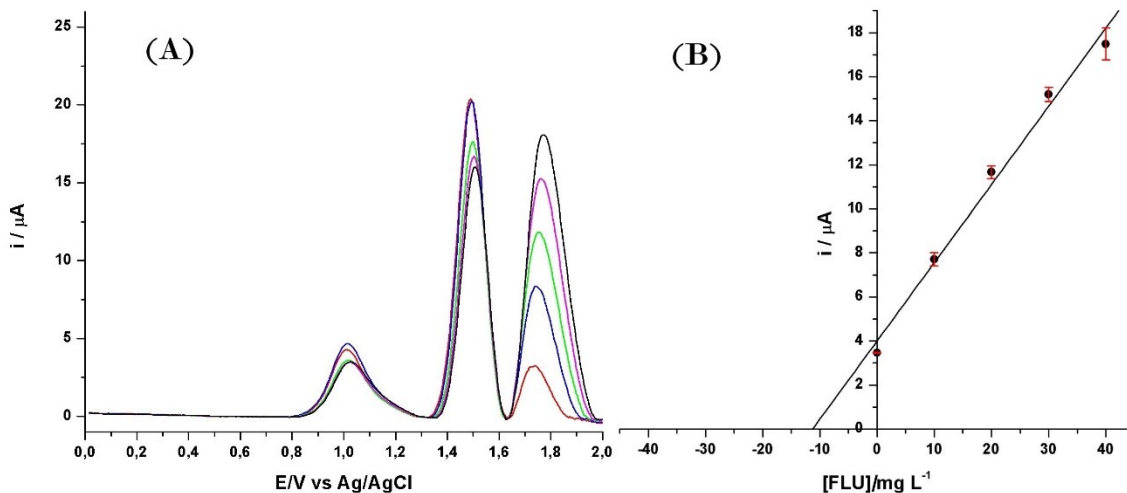
**Figura 22.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução de Thermodrol ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , fortificada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,972$ , com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ . Demais condições, conforme Fig. 15.



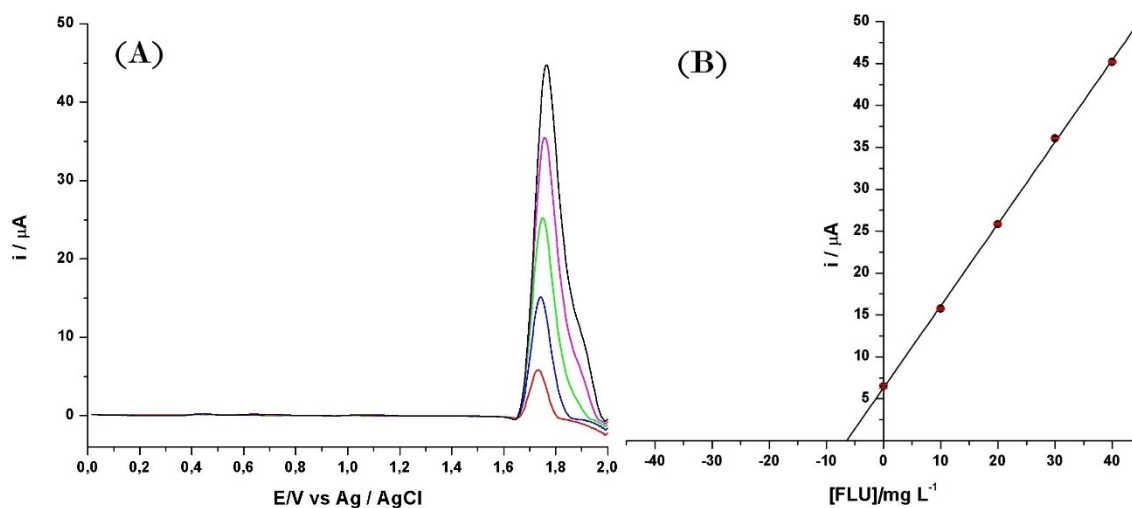
**Figura 23.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução do medicamento para emagrecimento ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , fortificada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$ , com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ . Demais condições, conforme Fig. 15.



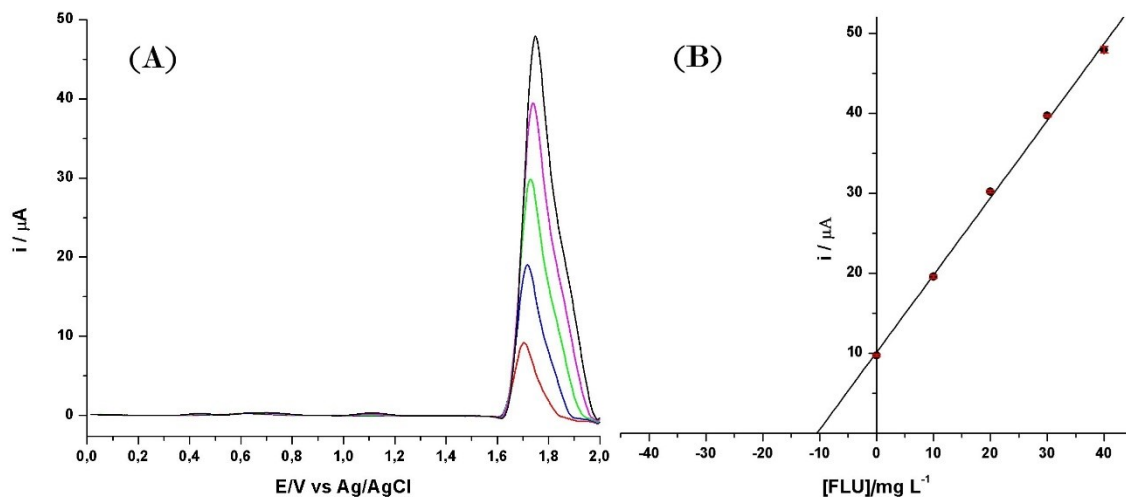
**Figura 24.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução Chá Verde ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , fortificada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,997$ , com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ . Demais condições, conforme Fig. 15.



**Figura 25.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução de Quitosana ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , fortificada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$ , com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ . Demais condições, conforme Fig. 15.



**Figura 26.** (A) Voltamogramas de SWV obtidos para uma solução de Garcinia (1000 mg L<sup>-1</sup>) em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, fortificada com 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU e adições sequenciais (n = 4) de 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”, r = 0,999, com os respectivos desvios padrões para n=3. Demais condições, conforme Fig. 15.



**Tabela 1.** Características analíticas do método proposto (SWV) e resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação, com os respectivos DPRs para n=3.

Característica	Thermodrol®	Chá Verde	Farmáco emagrecedor	QUI	GAR
<b>r</b>	0,972	0,997	0,999	0,999	0,999
<b>Inclinação</b> ( $\mu\text{A L mg}^{-1}$ )	$0,756 \pm 0,0266$	$0,355 \pm 0,0129$	$0,562 \pm 0,00393$	$0,977 \pm 0,0817$	$0,965 \pm 0,0137$
<b>Intercepto</b> ( $\mu\text{A}$ )	$7,40 \pm 0,249$	$4,00 \pm 0,532$	$5,78 \pm 0,0923$	$6,32 \pm 0,225$	$10,1 \pm 0,264$
<b>LD (mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,991	0,449	0,492	0,690	0,820
<b>LQ (mg L<sup>-1</sup>)</b>	3,30	1,50	1,64	2,30	2,73
<b>Recuperação</b> (%)	$98 \pm 6\%$	$112 \pm 3\%$	$103 \pm 2\%$	$65 \pm 3\%$	$104 \pm 4\%$

Onde: r = coeficiente de correlação; LD = Limite de detecção; LQ = Limite de quantificação

A partir dos resultados apresentados na **Tabela 1**, podemos afirmar que a técnica SWV e o método de adição de padrão podem ser usados com sucesso para detecção e quantificação de FLU em amostras de Thermodrol® com recuperação de  $98 \pm 6\%$ , chá verde  $112 \pm 3\%$ , formulação para emagrecimento  $102 \pm 2\%$  e na garcinia  $104 \pm 4\%$ ;

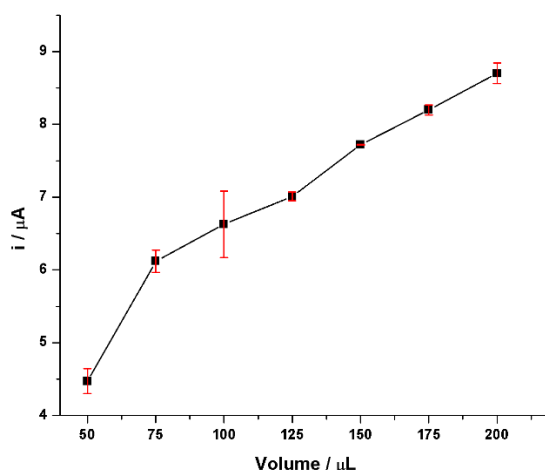
pois as recuperações estão compreendidas na faixa entre 70 e 120%, a qual é recomendada pela literatura (ANVISA, 2003; EMEA, 1995). Porém, no caso da amostra de quitosana, a recuperação obtida foi fora dessa faixa ( $65 \pm 3\%$ ). Estudos com o intuito de contornar este problema serão realizados na sequência do desenvolvimento do trabalho.

#### 4.7. Adaptação do método ao sistema portátil BIA-SWV

Os estudos até aqui apresentados foram realizados utilizando o modo estacionário. Este procedimento é difícil de ser implementado em análises fora do ambiente de um laboratório. Portanto, para viabilizar as análises em campo, estudos foram realizados para adaptação do método ao sistema portátil BIA-SWV.

Inicialmente, os parâmetros volume e velocidade de injeção foram estudados. O volume de injeção foi estudado com injeções de 50 a 200  $\mu\text{L}$  fixando uma velocidade de injeção igual a  $75 \mu\text{L s}^{-1}$  utilizando injeções de uma solução de FLU  $30 \text{ mg L}^{-1}$  em meio de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . A **Figura 27** apresenta o gráfico da corrente de pico para a oxidação da FLU em função da variação do volume de injeção.

**Figura 27.** Variação da corrente de oxidação da FLU em função do volume de injeção com velocidade de injeção igual a  $75 \mu\text{L s}^{-1}$  e com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ . Concentração da FLU =  $30 \text{ mg L}^{-1}$ ; Eletrólito:  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; ET: BDD. Parâmetros de SWV.

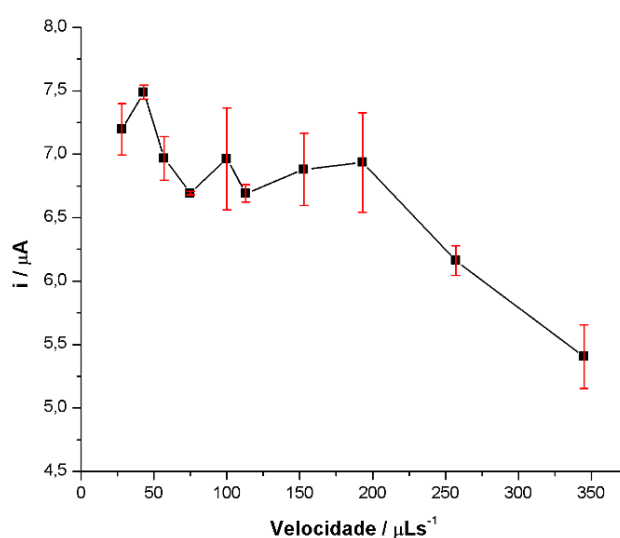


Através dos resultados exibidos na **Figura 27** é possível verificar que há um aumento nas correntes de oxidação da FLU com o aumento do volume de injeção. Isto ocorre devido ao aumento na quantidade de massa na superfície do eletrodo de trabalho. O sinal de corrente de pico não chegou a um valor máximo e constante, provavelmente,

devido à elevada área do eletrodo de trabalho (22,9 mm<sup>2</sup>). O volume de injeção escolhido foi de 150 µL com DPR = 0,1 % para n=3.

Para os estudos de velocidade de injeção, foram realizadas injeções de 25 a 350 µL s<sup>-1</sup> fixando um volume de injeção igual a 150 µL utilizando uma solução de FLU 30 mg L<sup>-1</sup> em meio de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A **Figura 28** ilustra a curva obtida em função da variação da velocidade de injeção e a corrente de pico para a oxidação da FLU.

**Figura 28.** Variação da corrente de oxidação da FLU em função da velocidade de injeção com volume injetado de 150 µL e com os respectivos desvios padrões para n=3. Demais condições, conforme Fig. 27.

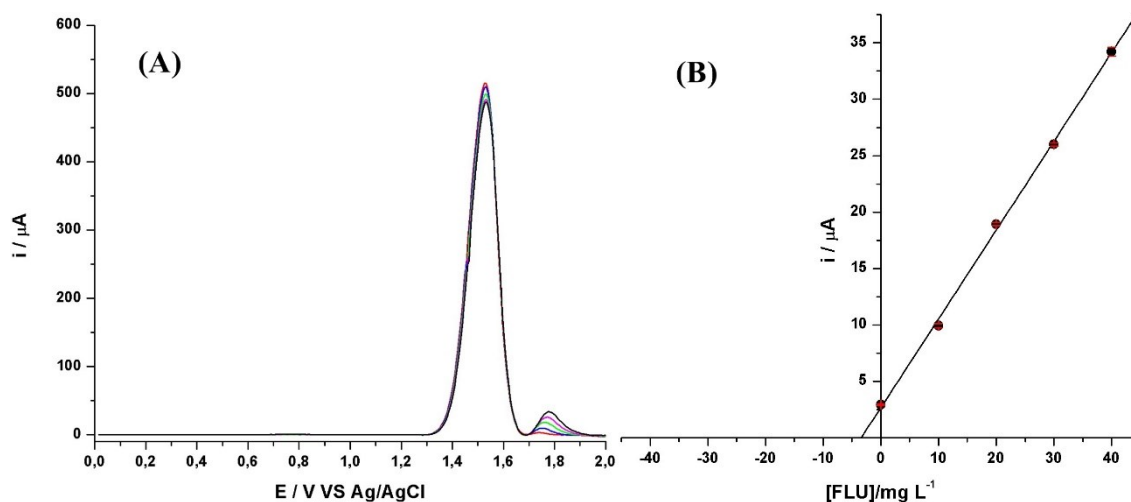


Os resultados exibidos na **Figura 28** atestam que há uma diminuição nas correntes de oxidação da FLU com o aumento da velocidade de injeção. Isto ocorre porque apesar de haver um aumento na taxa de transporte de massa para a superfície do eletrodo de trabalho, este aumento não é acompanhado pela forma de detecção ou é limitada pela lixiviação do analito devido à velocidade do fluxo de solução sendo injetada ser maior. A velocidade de injeção de 75 µL s<sup>-1</sup> com DPR = 0,2 % para n=3.

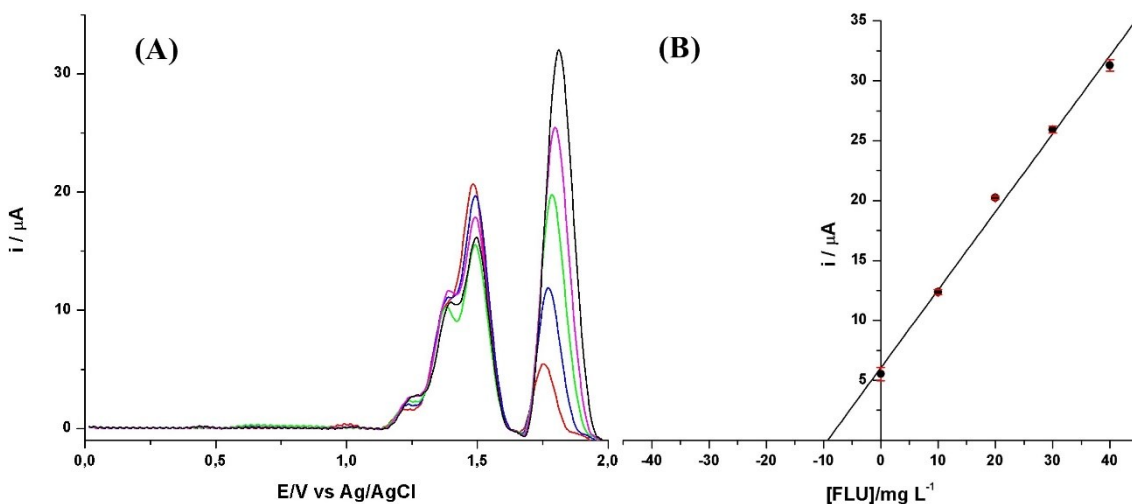
#### 4.8. Análises de FLU nas amostras por BIA SWV utilizando o método de adição de padrão

Após as otimizações, realizou-se as análises das amostras reais utilizando o sistema BIA-SWV com o método adição de padrão. As **Figuras 29, 30, 31, 32 e 33** apresentam os voltamogramas e as curvas de adição de padrão obtidas.

**Figura 29.** (A) Voltamogramas de BIA-SWV obtidos para uma solução de Thermodrol (1000 mg L<sup>-1</sup>) em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, fortificada com 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU e adições sequenciais (n = 4) de 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”, r = 0,999 e com os respectivos desvios padrões para n=3. Demais condições, conforme Fig. 15.

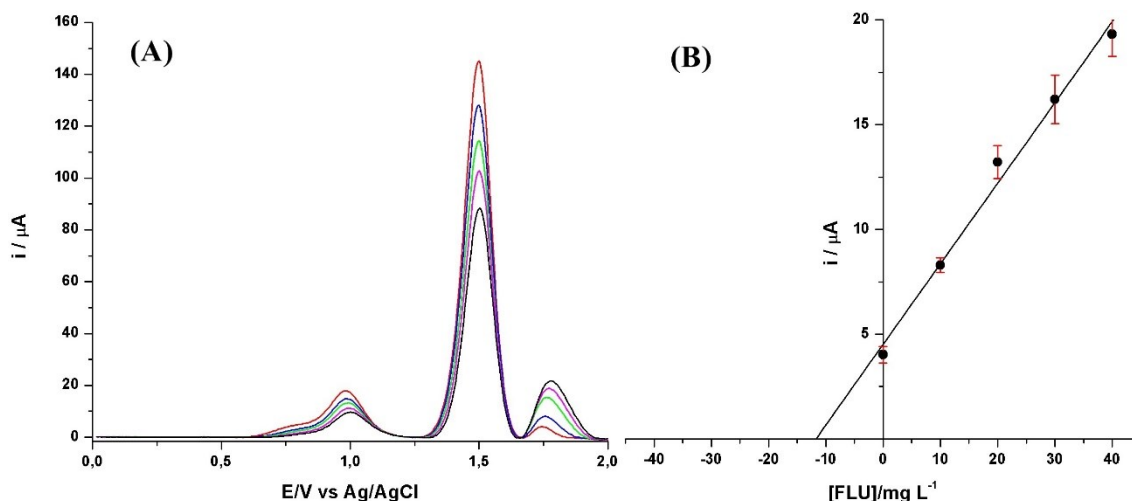


**Figura 30.** (A) Voltamogramas de BIA-SWV obtidos para uma solução do medicamento para emagrecimento (1000 mg L<sup>-1</sup>) em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, fortificada com 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU e adições sequenciais (n = 4) de 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”, r = 0,996 e com os respectivos desvios padrões para n=3. Demais condições, conforme Fig. 15.

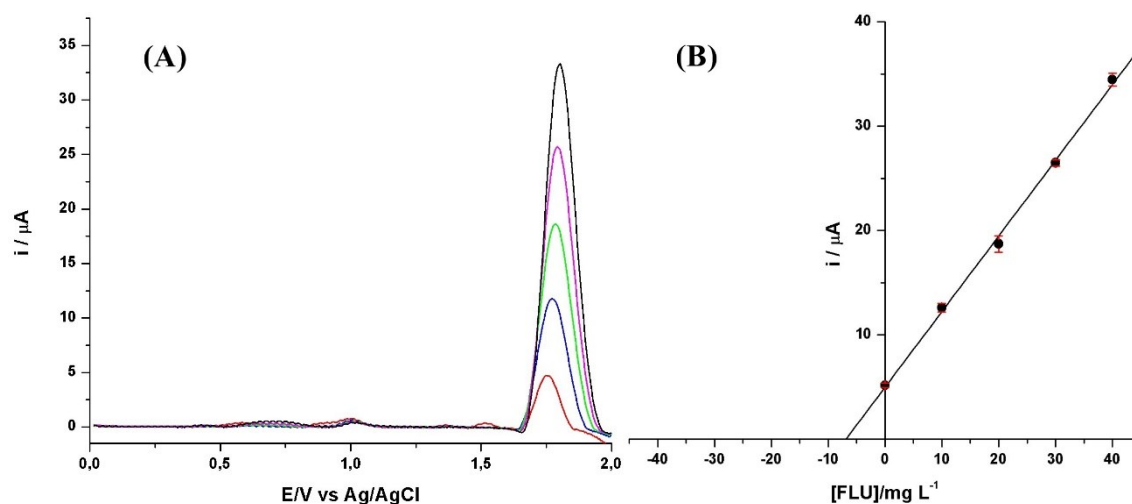




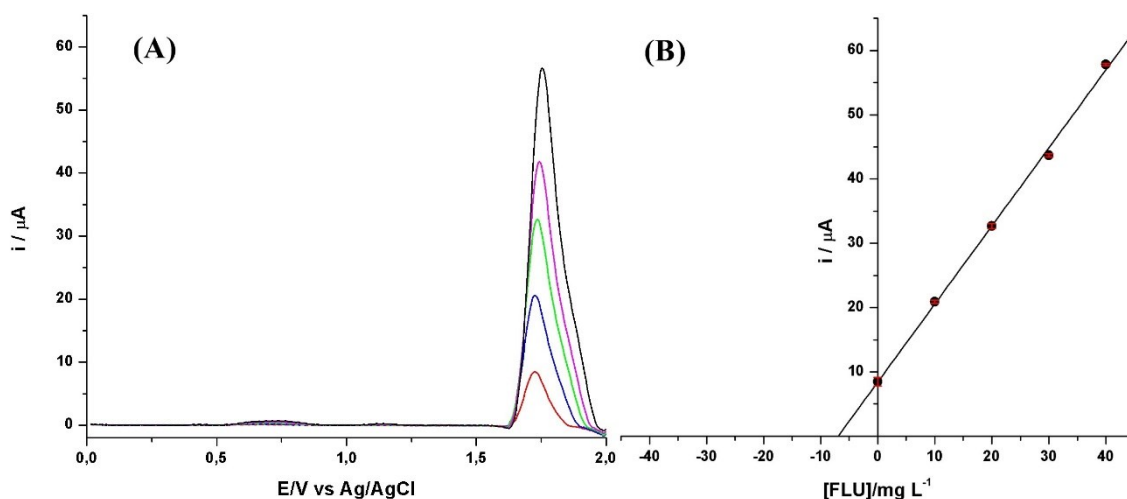
**Figura 31.** (A) Voltamogramas de BIA-SWV obtidos para uma solução Chá Verde ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , fortificada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,993$  e com os respectivos desvios padrões para  $n=3$  Demais condições, conforme Fig. 15.



**Figura 32.** (A) Voltamogramas de BIA-SWV obtidos para uma solução de Quitosana ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , fortificada com  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU e adições sequenciais ( $n = 4$ ) de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”,  $r = 0,999$  e com os respectivos desvios padrões para  $n=3$ . Demais condições, conforme Fig. 15.



**Figura 33.** (A) Voltamogramas de BIA-SWV obtidos para uma solução de Garcinia (1000 mg L<sup>-1</sup>) em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, fortificada com 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU e adições sequenciais (n = 4) de 10 mg L<sup>-1</sup> de FLU; (B) Curva de adição de padrão obtida a partir dos voltamogramas em “A”, r = 0,999 e com os respectivos desvios padrões para n=3. Demais condições, conforme Fig. 15.



A **Tabela 2** reúne as características analíticas do método proposto e as porcentagens obtidas nos estudos de adição e recuperação com com os DPRs para n=3.

**Tabela 2.** Características analíticas do método proposto (BIA SWV) e resultados obtidos nos estudos de adição e recuperação, com os respectivos DPRs para n=3.

Característica	Thermodrol®	Chá Verde	Farmáco emagrecedor	QUI	GAR
<b>r</b>	0,999	0,993	0,996	0,999	0,999
<b>Inclinação (μA L mg<sup>-1</sup>)</b>	0,787 ± 0,008	0,385 ± 0,002	0,651 ± 0,007	0,725 ± 0,015	1,21 ± 0,014
<b>Intercepto (μA)</b>	2,66 ± 0,036	4,51 ± 0,304	6,05 ± 0,195	4,97 ± 0,076	8,42 ± 0,511
<b>LD ( mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,138	2,37	0,897	0,316	1,26
<b>LQ ( mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,458	7,91	2,99	1,05	4,21
<b>Recuperação (%)</b>	34 ± 2%	117 ± 2%	93 ± 3%	68,5 ± 0,5%	70 ± 5%

Onde: r = coeficiente de correlação; LD = Limite de detecção; LQ = Limite de quantificação

A partir dos resultados apresentados na **Tabela 2**, podemos afirmar que a técnica BIA-SWV e o método de adição de padrão podem ser usados com sucesso para detecção e quantificação de FLU em amostras de chá verde com recuperação de  $117 \pm 2\%$ , formulação para emagrecimento  $93 \pm 3\%$  e na garcinia  $70 \pm 5\%$ , pois são resultados aceitáveis de acordo com a literatura (ANVISA, 2003; EMEA, 1995). Porém, no caso da amostra de Thermodrol® e quitosana, as recuperações obtidas foram fora da faixa recomendada (70 a 120%).

A **Tabela 3** apresenta uma comparação dos resultados obtidos entre o método SWV em sistema estacionário e BIA-SWV.

**Tabela 3.** Comparação dos resultados obtidos para a determinação de fluoxetina nas amostras a partir dos métodos propostos.

Amostras	Valores	Valores	Recuperação	Valores	Valores	Recuperação
	adicionados (mg L <sup>-1</sup> )	encontrados (mg L <sup>-1</sup> ) SWV		adicionados (mg L <sup>-1</sup> )	encontrados (mg L <sup>-1</sup> ) BIA-SWV	
<b>Thermodrol</b>	<b>10</b>	$9,8 \pm 0,6$	$98 \pm 6\%$	<b>10</b>	$3,4 \pm 0,1$	$34 \pm 2\%$
<b>Fármaco</b>	<b>10</b>	$10,3 \pm 0,2$	$103 \pm 2\%$	<b>10</b>	$9,3 \pm 0,3$	$93 \pm 3\%$
<b>Chá Verde</b>	<b>10</b>	$11,2 \pm 0,3$	$112 \pm 3\%$	<b>10</b>	$11,7 \pm 2,3$	$117 \pm 2\%$
<b>Quitosana</b>	<b>10</b>	$6,5 \pm 0,3$	$65 \pm 3\%$	<b>10</b>	$6,85 \pm 0,03$	$68,5 \pm 0,5\%$
<b>Garcinia</b>	<b>10</b>	$10,5 \pm 0,4$	$104 \pm 4\%$	<b>10</b>	$7,0 \pm 0,4$	$70 \pm 5\%$

De acordo com os resultados apresentados na **Tabela 3**, podemos afirmar que as duas técnicas apresentaram bons resultados recuperação com excessão para a quitosana nos dois casos e do Thermodrol utilizando BIA-SWV.

A baixa recuperação de FLU em quitosana provavelmete é pelo fato da quitosana ser um biopolímero do tipo polissacarídeo e pouco solúvel em água e soluções ácidas muito diluídas que é o caso do eletrólito utilizado (JANEGITZ, et al. 2007). Para se obter melhores resultados, tanto em do modo estacionário quanto em BIA-SWV, seria mais indicado utilizar para solubilização da quitosana, de acordo com a literatura (JANEGITZ, et al. 2007), ácidos orgânicos como o ácido acético.

No caso do Thermodrol, que apresentou uma recuperação de 34% no BIA-SWV, isso ocorreu provavelmente por causa da chegada rápida e em grande quantidade da cafeína (420 mg por 1,5 g de Thermodrol) na superfície do eletrodo causando interferência na quantificação de fluoxetina, apesar da utilização do método da adição de padrão.

## 5. Conclusões

Neste trabalho foram demonstradas duas possibilidades diferentes para a determinação/triagem de FLU em substâncias utilizadas para emagrecimento por duas técnicas usando SWV, sendo uma no modo estacionário e a outra no modo hidrodinâmico (BIA-SWV), ambas utilizando o método de adição de padrão.

Utilizando o modo estacionário foram obtidos melhores valores de LDs e LQs, valores aceitáveis de DPR (inferior a 5%) e excelentes valores de recuperação, com excessão da quitosana com valor ( $65 \pm 3\%$ ) inferior ao indicado pela literatura (ANVISA, 2003; EMEA, 1995). Consequentemente, nessas condições é possível detectar e quantificar a FLU nas amostras de Thermodrol, chá verde, garcinia e fármaco emagrecedor.

Já com o uso do modo hidrodinâmico (BIA-SWV) foram obtidos melhores resultados de DPRs para as amostras, valores aceitáveis de LDs e LQs, porém apresentou recuperação baixa (inferior a 70%), de acordo com a literatura (ANVISA, 2003; EMEA, 1995), para o Thermodrol ( $34 \pm 2\%$ ) e quitosana ( $68,5 \pm 0,5\%$ ). Portanto, nessas condições é possível a detecção e quantificação de FLU nas amostras de chá verde, garcinia e fármaco emagrecedor.

Conclui-se, portanto, que o método estacionário é melhor e mais prático para a quantificação. No entanto, na triagem das amostras, o sistema BIA possui vantagens como melhor portabilidade (análises *in situ*), além de várias amostras poderem ser analisadas sem necessidade de lavagem/ manipulação da célula e eletrodo usados.

Entretanto as duas técnicas possuem potencialidade para a análise de produtos emagrecedores, pois possibilitam análises rápidas, de custo baixo e com geração mínima de resíduos químicos por análise (uso de pequenos volumes de amostras e reagentes). A simplicidade da instrumentação e do preparo de amostras possibilita que os métodos propostos possam ser utilizados em laboratórios com infraestrutura limitada.

## 6. Referências Bibliográficas

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da saúde. *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*. Resolução – RE nº 899, 29 de maio de 2003.
- BARD, A. J.; STRATMANN, M. *Encyclopedia of Electrochemistry, Volume 3, Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*. [s.l.] Wiley New York, 2003.
- BRETT, C. M. A.; FUNGARO, D. A.; MORGADO, J. M.; GIL, M. H. *Novel polymer-modified electrodes for batch injection sensors and application to environmental analysis*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 468, n.1, p. 26-33, 1999.
- CARLINI, E. A. et al. *Fluoxetina: indícios de uso inadequado*. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*. v. 58, n. 2, p. 97-100, 2009.
- CORREIA, D. *Determinação Voltamétrica de 1,4-benzodiazepínicos e dietilpropiona como adulterantes em fitoterápicos para emagrecimento*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2008.
- COSTA, T. S. *Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos empregando análise por injeção em batelada para a determinação de nafazolina, zinco, feniramina e clorfeniramina em formulações farmacêutica*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2015.
- DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; FRANCISCO, A.; ESPÍRITO SANTO, M. L. P.; TEIXEIRA, E. *Quitosana: Um amino polissacarídeo com características funcionais*. *Alimentação e Nutrição Araraquara*, v. 16, n.2, p. 195-205, 2005.
- DA SILVA, W. P. *Determinação simultânea de propifenazona, paracetamol e cafeína utilizando eletrodo de diamante dopado com boro*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2017.
- DE BARROS, R. C. M.; RIBEIRO, M. C.; SUMODJO, P. T. A.; JULIÃO, M. *Filmes de diamante CVD dopado com boro. Parte I. Histórico, produção e caracterização*. *Química Nova*, v. 28, n. 2, p. 317–325, 2005.
- DECONINCK, E.; KAMUGISHA, A.; CAMPENHOUT, V. P.; COURSELLE, P.; JO, D. B. *Development of a Stationary Phase Optimised Selectivity Liquid Chromatography based screening method for adulterations of food supplements for the treatment of pain*. *Talanta*, v. 138, p. 240-246, 2015.
- DEVENTER, K.; DELBEKE, F. T.; ROELS, K.; EENOO, V. P. *Screening for 18 diuretics and probenecid in doping analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. *Biomedical Chromatography*. v. 16, p. 529-535, 2002.
- DUNN, J. D.; GRYNIEWICZ-RUZICKA, C. M.; KAUFFMAN, J. F.; WESTENBERGER, B. J.; BUHSE, L. F. *Using a portable ion mobility spectrometer to screen dietary supplements for sibutramine*. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 54, p. 469-474, 2011.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. *Note for guidance on validation of analytical procedures: Text and methodology*. CPMP/ICH/381/95. June 1995.

FENG, L.; SHU, L.; JIAN, L.; YUTIAN, W. *A new method for testing synthetic drugs adulterated in herbal medicines based on infrared spectroscopy*. *Analytica Chimica Acta*, v. 589, p. 200-207, 2007.

FREITAS, H. C. P.; NAVARRO, F. *O chá verde induz o emagrecimento e auxilia no tratamento da obesidade e suas comorbidades*. *Revista brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*, v. 1, n. 2, p. 16-23, 2007.

FREITAS, J. M. *Determinação estequiométrica de dimenidrinato e simultânea de 8-cloroteofilina, difenidramina e piridoxina usando análise por injeção em batelada com detecção amperométrica de múltiplos pulsos*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2015.

FREITAS, J. M.; OLIVEIRA, T. da C.; GIMENES, D. T.; MUÑOZ, R. A.; RICHTER, E. M. *Simultaneous determination of three species with a single-injection step using batch injection analysis with multiple pulse amperometric detection*. *Talanta*, v. 146, p.670–675, 2016.

FREITAS, J. M.; RAMOS, D. L. O.; SOUSA, R. M. F.; PAIXÃO, T. R. L. C.; SANTANA, M. H. P.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. *A portable electrochemical method for cocaine quantification and rapid screening of common adulterants in seized samples*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 243, p. 557-565, 2017.

GEYER, H.; PARR, M.K.; KOEHLER, K. MARECK, U.; SCHÄNZE, W.; THEVIS, M. *Nutritional supplements cross-contaminated and faked with doping substances cross-contaminated and faked with doping substances*. *Journal of Mass Spectrometry*. v. 43, p. 892-901, 2008.

GIMENES, D. T.; PEREIRA, P. F.; CUNHA, R. R.; da SILVA, R. A. B.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. *A Simple Strategy to Improve the Accuracy of the Injection Step in Batch Injection Analysis Systems with Amperometric Detection*. *Electroanalysis*, v. 24, n. 9, p. 1805–1810, 2012.

HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*. 8 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

HASOŇ, S. et al. *Label-free sequence-specific DNA sensing using copper-enhanced anodic stripping of purine bases at boron-doped diamond electrodes*. *Analytical Chemistry*, v. 80, n. 7, p. 2391–2399, 2008.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia Normalização e Qualidade Industrial. *Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos*. DOQ-CGCRE- 008. Revisão 02. Junho de 2007.

JANEGITZ, B. C.; LOURENÇÃO, B. C.; LUPETTI, K. O.; ORLANDO, F. F. *Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias*. *Química Nova*, v. 30, n. 4, p. 879-884, 2007.

- KONDO, T.; SAKAI, K.; WATANABE, T.; EINAGA, Y.; YUASA, M. *Electrochemical detection of lipophilic antioxidants with high sensitivity at boron-doped diamond electrode*. *Electrochimica Acta*, v. 95, p. 205–211, 2013.
- KRAFT, A. *Doped Diamond: A Compact Review on a New, Versatile Electrode Material - Open Access Library*. *International Journal of Electrochemical Science*, v. 2, p. 355–385, 2007.
- LENCASTRE, R. P.; MATOS, C. D.; GARRIDO, J.; BORGES, F.; GARRIDO, E. M. *Voltammetric Quantification of Fluoxetine: Application to Quality Control and Quality Assurance Processes*. *Journal of Food and Drug Analysis*. v. 14, n. 3, p. 242-246, 2006.
- LIANG, Q.; QU, J.; LUO, G.; WANG, Y. *Rapid and reliable determination of illegal adulterant in herbal medicines and dietary supplements by LC/MS/MS*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 40, n. 2, p. 305-311, 2006.
- LOURENÇÃO, B. C.; MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C.; MAZO, L. H.; FATIBELLO-FILHO, O. *Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode*. *Talanta*, v. 78, n. 3, p. 748–752, 2009.
- O'DEA, J. J.; RIBES, A.; OSTERYOUNG, J. G. *Square-wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 345, n. 1-2, p. 287–301, 1993.
- OLIVEIRA, T. da C.; FREITAS, J. M.; MUÑOZ, R. A.; RICHTER, E. M. *A batch injection analysis system with square-wave voltammetric detection for fast and simultaneous determination of naphazoline and zinc*. *Talanta*, v. 152, p. 308–313, 2016.
- PARK, S. R.; LEE, J. G.; ROH, S. H.; KIM, G.; KWON, C. H.; PARK, H. R.; KWON, K. S.; KIM, D.; KWON, S. W. *Determination of PDE-5 inhibitors and appetite suppressants in adulterated dietary supplements using LC/PDA and LC/MS*. *Food Addit. Contam. Part B Surveill.* v. 5, n. 1, p. 29–32, 2012.
- PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L.; GUTZ, I. G. R. *Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions*. *Electroanalysis*, v. 8, n. 7, p. 673-675, 1996.
- PEREIRA, P. F.; MARRA, M. C.; MUÑOZ, 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.; MARRA, M. C.; LIMA, A. B.; dos SANTOS, W. T. P.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. *Fast and simultaneous determination of nimesulide and paracetamol by batch injection analysis with amperometric detection on bare borondoped diamond electrode*. *Diamond and Related Materials*, v. 39, p. 41-46, 2013.
- PETRUCCI, E.; PALMA, L. D.; LAVECCHIA, R.; ZUORRO, A. *Modeling and optimization of Reactive Green 19 oxidation on a BDD 92 thin-film electrode*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 51, p. 152–158, 2015.

PINO, F.; IVANDINI, T. A.; NAKATA, K.; FUJISHIMA, A.; MERKOÇI, A.; EINAGA, Y. *Magnetic Enzymatic Platform for Organophosphate Pesticide Detection Using Boron-doped Diamond Electrodes*. *Analytical Sciences*, v. 31, n. 10, p. 1061–1068, 2015.

QUINTINO, M. ANGNES, L. *Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool*. *Electroanalysis*, v. 16, n. 7, p. 513-523, 2004.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. *Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos*. *Química Nova*, v. 27, p. 771-780, 2004.

ROSA, F. M. M.; MACHADO, J. T. *O efeito anti-obesidade da Garcinia cambogia em humanos*. *Revista Fitos*. v. 10, n. 2, p. 95-219, 2016.

SANZINI, E.; BADEA, M.; dos SANTOS, A.; RESTANI, P.; SIEVERS, H. *Quality control of plant food supplements*. *Food Funct*, v. 2, p. 740-746, 2011.

SARADA, B. V.; RAO, T. N.; TRYK, D. A.; FUJISHIMA, A. *Electrochemical oxidation of histamine and serotonin at highly borondoped diamond electrodes*. *Analytical chemistry*, v. 72, n. 7, p. 1632–1638, 2000.

SILVA, W. P. *Determinação Simultânea de propifenazona, paracetamol e cafeína utilizando eletrodo de diamante dopado com boro*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2017.

SOUZA, D; MACHADO, S A S; AVACA, L A. *Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos*. *Química Nova*. 26, 81-89, 2003.

SWAIN, G. M. *Solid electrode materials: Pretreatment and activation*. *Handbook of Electrochemistry*, p. 111–153, 2007.

TEIXEIRA, M. E.; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. *Detection of several carbohydrates using boron-doped diamond electrodes modified with nickel hydroxide nanoparticles*. *Analytical Sciences*, v. 31, n. 8, p. 773–780, 2015.

The Global Burden of Disease 2015 Obesity Collaborators. *Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years*. *The New England Journal of Medicine*. v. 377, n. 1, p. 13-15, 2017.

TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; da SILVA, R. A. B.; MUÑOZ, 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*, 2014.

TORMIN, T. F.; da SILVA, R. A. B.; GIMENES, D. T.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. *Batch injection analysis with amperometric detection: application for simultaneous analysis using a single working electrode*. *Analytical Methods*, v. 3, n. 12, p. 2804-2808, 2011.

TORMIN, T. F.; GIMENES, D. T.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A. *Fast and direct determination of butylated hidroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection*. *Talanta*, v. 85, n. 3, p. 1274 – 1278, 2011.



TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; da SILVA, W. P.; JUNQUERA, A. P.; BOLADO, P. F.; SANTOS, D. H.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. *A Compact Batch Injection Analysis Cell for Screen Printed Electrodes: A Portable Electrochemical System for On-site Analysis*. *Electroanalysis*, v. 28, p. 1-5, 2016.

VEJA. *Obesidade atinge mais de 10% da população mundial*. 2017. Disponível em: <<https://veja.abril.com.br/saude/obesidade-atinge-mais-de-10-da-populacao-mundial/>> Acesso em: 07 de agosto de 2018.

WANG, J.; TAHA, Z. *Batch injection analysis*. *Analytical Chemistry*, v. 63, n. 10, p. 1053-1056, 1991.

WANG, J. *Injection analysis from flow-injection analysis to batch-injection analysis*. *Microchemical Journal*, v. 45, n. 2, p. 219-224, 1992.

WANG, J. et al. *Small-volume batch-injection analyser*. *Analyst*, v. 119, n. 6, p. 1345-1348, 1994.

WILSON, P.; MASSE, C. *Detection of Synthetic Drugs as Adulterants in Natural and Herbal Slimming Products by LC-ESI-MS/MS with Polarity Switching*. *Journal of AOAC International*, v. 99, n. 4, p. 929-940, 2016.

YOUSSEF, R. M.; *Microspectrometric determination of sibutramine in an adulterated slimming formulation*, *Anal. Methods*, v. 6, p. 3395-3400, 2014.

ZEMOLIN, G. M. *Análise de estimulantes em suplementos alimentares e produtos naturais a base de plantas comercializadas para fins de emagrecimento no Brasil*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2015.

ZHANG, T.; LI, C.; MAO, B.; AN, Y. *Determination of Cd<sup>2+</sup> by ultrasound-assisted square wave anodic stripping voltammetry with a boron-doped diamond electrode*. *Ionics*, v. 21, n. 6, p. 1761-1769, 2015.