

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO**  
**ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012**

Maria Alice Martins  
Morsyleide de Freitas Rosa  
Men de Sá Moreira de Souza Filho  
Nicodemus Moreira dos Santos Junior  
Odílio Benedito Garrido de Assis  
Caue Ribeiro  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

**Editores**

Fortaleza, CE  
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Instrumentação**  
Rua XV de Novembro, 1452,  
CEP 13560-970 – São Carlos, SP  
Fone: (16) 2107-2800  
Fax: (16) 2107-2902  
<http://www.cnpdia.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpdia.embrapa.br](mailto:sac@cnpdia.embrapa.br)

**Embrapa Agroindústria Tropical**  
Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,  
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE  
Fone: (85) 3391-7100  
Fax: (85) 3391-7109  
<http://www.cnpat.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpat.embrapa.br](mailto:sac@cnpat.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Embrapa Instrumentação**

Presidente: João de Mendonça Naime  
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.  
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Júnior

**Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical**

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior  
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama  
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto  
Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandes Campaner

Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures Mourão, Viviane Soares  
Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares  
Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes, Viviane Soares  
Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice, Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares  
Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior  
Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº. 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação na publicação.**

**Embrapa Instrumentação**

---

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular  
ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa, Morsyleide de Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria Tropical.



## UTILIZAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO NA DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ISOFLAVONAS TOTAIS EM AMOSTRAS DE SOJA

Jonatas G. da Silva<sup>1,2</sup>, Gabriella Magarelli<sup>1</sup>, Aline C. de Oliveira<sup>3</sup>, Maria Carolina B. Moraes<sup>1</sup>, Luzia Helena C. Lima<sup>1</sup>, Jurandir R. de Souza<sup>2</sup>, Carlos M. P. Vaz<sup>4</sup> e Clarissa S. P. de Castro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - LSA, CP 2372, CEP 70.770-917, Brasília – DF

<sup>2</sup>Instituto de Química, Universidade de Brasília - LQAA, CP 4394, CEP 70.919-970, Brasília – DF

<sup>3</sup>Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, CP 593, CEP 38.400-902, Uberlândia – MG

<sup>4</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, CP 741, CEP 13.560-970, São Carlos – SP

\*clarissa@cenargen.embrapa.br

Projeto Componente: PC2

Plano de Ação: 3

### Resumo

As isoflavonas, como daidzeína e genisteína, são os principais metabólitos secundários da soja responsáveis pela sua resistência a insetos-praga. Nos estudos de voltametria cíclica, foram observados picos de oxidação irreversíveis em potenciais de 0,604V para a daidzeína e de 0,589 V e 0,951 V para a genisteína. Os métodos voltamétricos desenvolvidos, baseados na oxidação da daidzeína e genisteína no eletrodo de carbono vítreo, apresentaram limites de detecção da ordem de  $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. A aplicação dos métodos em formulação farmacêutica a base de soja mostrou recuperação > 94%.

Palavras-chave: soja, isoflavonas, eletrodo de carbono vítreo, voltametria, formulação farmacêutica

### Publicações relacionadas

Silva, J. G.; Freitas, T. V.; Magarelli, G.; Oliveira, A. C.; Lima, L.H.C.; Souza, J. R.; VAZ, C.M.P.; De Castro, C. S. P. Determinação de Isoflavonas Totais em Formulações Farmacêuticas Empregando a Voltametria de Pulso Diferencial e o Eletrodo de Carbono Vítreo. In: 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão. Anais do 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011.

Silva, J. G.; Silva, M. R. L.; Oliveira, A. C.; Moraes, M.C.B.; Lima, L.H.C.; Souza, J. R.; Vaz, C.M.P.; De Castro, C.S.P. Desenvolvimento de Metodologia Analítica para a Determinação de Genisteína Utilizando-se Eletrodo de Carbono Vítreo. Circular Técnica Embrapa, Brasília-DF, p. 1-8, 31 dez. 2009.

### Introdução

A soja é a oleaginosa mais produzida e consumida no mundo. Uma das consequências das grandes áreas cultivadas com soja está relacionada ao aumento da incidência de pragas.

Em todo o mundo, vários programas de melhoramento genético têm contribuído para o incremento nos níveis de resistência de novas cultivares de soja às doenças e, em consequência, houve redução das perdas causadas por vários

patógenos e do intenso consumo de defensivos químicos.

Um dos principais responsáveis pela resistência da soja a insetos-praga são os metabólitos secundários, principalmente as isoflavonas [1, 2]. A identificação e quantificação destes metabólitos, na soja, geram importante informação para os melhoristas na escolha das cultivares para o melhoramento, tanto clássico como o transgênico. Atualmente os métodos de cromatografia líquida e de espectrometria de massas têm sido utilizados na determinação de isoflavonas, porém, esses métodos são de alto custo, exigem processos laboriosos de preparação de amostra e muitas vezes não preservam a forma química de como esses compostos são encontrados na planta. Os métodos eletroquímicos superam essas desvantagens, pois são métodos de baixo custo, de alta sensibilidade e que podem ser adaptados para o campo. Portanto, os objetivos desse trabalho foram: estudar o processo de oxidação/redução de duas isoflavonas mais abundantes da soja (daidzeína e genisteína) (Fig.1), no eletrodo de carbono vítreo (GC), utilizando a voltametria cíclica (CV); desenvolver dois métodos para a determinação de isoflavonas totais, baseado na oxidação da daidzeína e genisteína, empregando a voltametria de pulso diferencial (DPV); aplicar os métodos desenvolvidos na determinação de isoflavonas totais em formulação farmacêutica a base de extrato de soja, que servirá de modelo para estudos posteriores de grãos e folhas de soja quanto à concentração de isoflavonas totais.

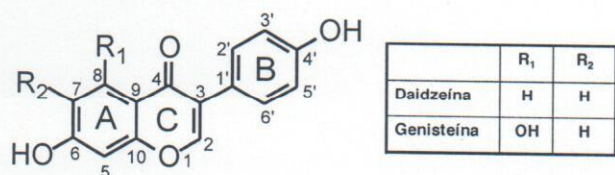


Fig.1. Estruturas químicas das isoflavonas daidzeína e genisteína.

## Materiais e métodos

As medidas de CV e DPV foram realizadas em triplicata, utilizando-se o analisador voltamétrico 797 VA Computrace (Metrohm) e uma célula eletroquímica composta pelos eletrodos: GC ( $\Phi = 2$  mm) como eletrodo de trabalho, Ag/AgCl (KCl 3 mol L<sup>-1</sup>) como eletrodo de referência e platina como eletrodo auxiliar. As soluções padrão de daidzeína e genisteína (LC Laboratories) 1,0 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, preparadas em etanol (Sigma), foram utilizadas na determinação de isoflavonas totais. Dez

comprimidos da formulação farmacêutica foram pesados e previamente pulverizados em graal. A extração das isoflavonas a partir do pó obtido dos comprimidos (0,10 g) foi realizada em triplicata, com 4 mL de etanol 70%, utilizando-se ultrassom, por 20 minutos. Os extratos resultantes foram centrifugados e transferidos para balão volumétrico, onde o volume foi completado com etanol para 10 mL. A determinação de isoflavonas totais, em formulação farmacêutica a base de extrato de soja, foi realizada por meio do método da adição padrão sob condições e parâmetros experimentais otimizados (tampão fosfato pH 6,0; amplitude de pulso 50 mV e velocidade de varredura ( $v$ ) = 50 mV s<sup>-1</sup>).

## Resultados e discussão

No voltamograma cíclico obtido para a daidzeína 5,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> em tampão fosfato, pH 6,0, observou-se um pico irreversível em 0,604 V, correspondente a oxidação do grupo 4'-hidróxi do anel B. O mesmo sinal foi o observado para a daidzeína por Wu e colaboradores [3]. No estudo do processo de oxidação da daidzeína obteve-se uma relação linear entre a corrente de pico e a  $v$  no intervalo 10–200 mV s<sup>-1</sup>, ( $I_{pa} = 2,774 + 0,397v$ ,  $r = 0,999$ ), indicando um processo controlado por adsorção. Para a genisteína 5,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> em tampão fosfato, pH 6,0, dois picos irreversíveis foram observados no voltamograma cíclico: o primeiro em 0,589 V, correspondente a oxidação do grupo 4'-hidróxi do anel B; o segundo em 0,951 V, correspondente a oxidação dos grupos 6,8-dihidróxi do anel A. Os mesmos sinais foram o observados para a genisteína por Wu e colaboradores [3]. No estudo do processo de oxidação da genisteína, obteve-se uma relação linear entre a corrente de pico e a  $v$  no intervalo 10-200 mV s<sup>-1</sup>, ( $I_{pa} = -4,011 + 0,428v$ ,  $r = 0,995$ ), indicando um processo controlado por adsorção para o primeiro pico.

O estudo da repetibilidade de resposta do eletrodo de GC para a quantificação de isoflavonas totais apresentou RSD menor que 1,0% ( $n = 10$ ).

A Fig. 2 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a daidzeína no intervalo de concentração de 1,0 x 10<sup>-6</sup> a 1,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> e equação  $I_{pa}(nA) = -6,475 + 7,5 \times 10^7 [Daidzeína]$ , com coeficiente de correlação de 0,998 e LD 1,3 x 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> e LQ 4,3 x 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup>.

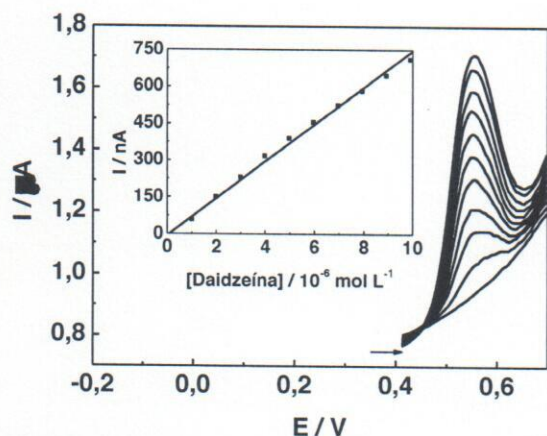


Fig. 2. Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL de tampão fosfato, pH 6,0 com adições sucessivas de 10  $\mu$ L de daidzeína  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ .  $E_i = 0,200$  V;  $E_f = 1,000$  V, amplitude de pulso = 50 mV,  $\nu = 50$  mV  $s^{-1}$ , Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (3 mol  $L^{-1}$ ).

Na Fig. 3 são mostrados os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a genisteína no intervalo de concentração de  $1,0 \times 10^{-6}$  a  $1,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  e equação  $I_{pa}(nA) = -8,388 + 5,7 \times 10^7$  [Genisteína], com coeficiente de correlação de 0,998 e LD  $1,2 \times 10^{-7}$  mol  $L^{-1}$  e LQ  $3,9 \times 10^{-7}$  mol  $L^{-1}$ .

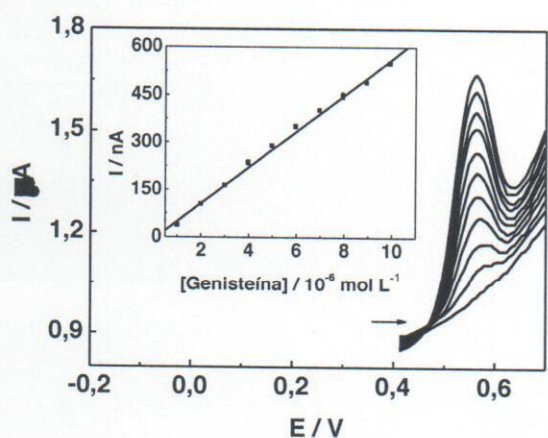


Fig. 3. Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL de tampão fosfato, pH 6,0 com adições sucessivas de 10  $\mu$ L de genisteína  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ .  $E_i = 0,200$  V;  $E_f = 1,000$  V, amplitude de pulso = 50 mV,  $\nu = 50$  mV  $s^{-1}$ , Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (3 mol  $L^{-1}$ ).

Os métodos desenvolvidos, empregando o eletrodo de GC e a DPV, foram utilizados na determinação de isoflavonas totais na formulação farmacêutica. As concentrações médias de isoflavonas totais de soja na formulação farmacêutica são mostradas na Tabela 1. Foram obtidos, erros relativos menores que 10% em

relação ao indicado no rótulo do produto a base de soja. Os valores de recuperação acima de 90% obtidos para a daidzeína ou genisteína adicionadas indicaram a ausência de efeito de matriz.

Tabela 1: Determinação de isoflavonas totais na formulação farmacêutica

Padrão	Concentração mg/comprimido	Erro Relativo <sup>a</sup> (%)	Recuperação (%)
Daidzeína	30,69 $\pm$ 2,44	2,30	95,15–110,06
Genisteína	32,20 $\pm$ 0,77	7,33	94,51–108,28

<sup>a</sup> Erro relativo em relação ao indicado no rótulo (30 mg comprimido<sup>-1</sup>).

## Conclusões

Os resultados obtidos mostram a viabilidade de aplicação dos métodos eletroanalíticos desenvolvidos na determinação de isoflavonas totais, utilizando o eletrodo de GC e a voltametria de pulso diferencial, pois apresentaram baixos limites de detecção e quantificação, boa repetibilidade e sensibilidade; possibilitando também a sua aplicação no estudo de cultivares de soja da Embrapa.

## Agradecimentos

EMBRAPA, UnB, CNPq e CAPES.

## Referências

1. G. C. Piubeli; C. B. Hoffmann-Campo; F. Moscardi; S. H. Miyakubo; M. C. N. Oliveira *J. Chem. Ecol.* 2005, 31, 1509.
2. J. W. Zhu; K. C. Park *J. Chem. Ecol.* 2005, 31, 1733.
3. L. Wu; J. B. Laughlin Jr; H. D. Dewald *Electroanalysis* 1997, 9, 796.