

Validação de método por CLAE-UV/DAD para quantificação de isoorientina na polpa de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener

Maria Luiza Zeraik* (PG), Janete Harumi Yariwake (PQ). *marialuizaze@iqsc.usp.br

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Caixa Postal 780, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil.

Palavras Chave: *Passiflora edulis*, cromatografia líquida, validação, isoorientina.

Introdução

Passiflora edulis é a espécie mais conhecida e comercializada no Brasil, sendo a matéria-prima das indústrias de suco de maracujá.¹ O fruto contém flavonoides, dentre outras classes de substâncias com propriedades funcionais.² Desta forma, é de grande interesse o desenvolvimento e validação de metodologia para quantificação de flavonoides, como a isoorientina presente na polpa de *P. edulis*.

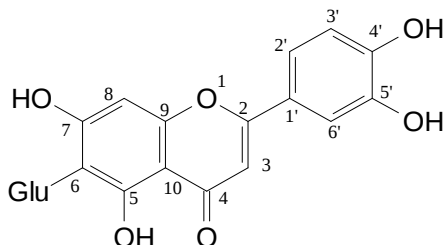


Figura 1. Estrutura da flavona isoorientina.

A validação tem por objetivo assegurar que o método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico para quantificação da flavona isoorientina na polpa do fruto de *P. edulis* por CLAE-UV/DAD.

Procedimento Experimental

A polpa do maracujá (10,0 mL) foi extraída usando-se 30,0 mL de etanol 60%, o extrato foi sonificado por 1,5 minutos, centrifugado (20 minutos, 10000 rpm, 25°C) e o sobrenadante concentrado e submetido ao *clean-up* por extração em fase sólida (C₁₈), e eluição com 2,0 mL de metanol 60%.

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido da Waters 2695 acoplado a um detector de arranjo de fotodiodos da Waters (PDA 2996), usando coluna Symmetry® C₁₈ (Waters) (250 mm x 4,6 mm x 5 µm) com pré-coluna C₁₈ (2,0 cm x 4,0 mm x 5 µm), como fase móvel acetonitrila (solvente B) e água (solvente A), ambos os solventes acidificados com 0,2% de ácido fórmico, gradiente: 0-10 minutos: 12%-16% de B em A, 10-30 minutos: 16-20% de B em A, vazão 0,8 mL min⁻¹, temperatura do forno de 40 °C e detecção em λ= 330 nm.

Resultados e Discussão

No procedimento de validação do método foram avaliados os seguintes parâmetros: especificidade, linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção e limite de quantificação, segundo os protocolos da *International Conference on Harmonisation* (ICH).³

A concentração de isoorientina nos extratos de *P. edulis* foi obtida por meio do método de adição de padrão, e encontrou-se 16,226 ± 0,050 mg L⁻¹ (correspondente a 0,036 ± 0,001 mmol L⁻¹).

A linearidade do método foi determinada a partir de regressão linear das curvas analíticas. Estas apresentaram boa linearidade no intervalo de concentração de 5,0 a 80,0 mg L⁻¹ com coeficiente de correlação 0,999.

A exatidão foi calculada como porcentagem de recuperação dos padrões, obtendo-se valores entre 87 a 91%, estando dentro do intervalo aceitável de recuperação (70-120%)³, demonstrando a exatidão do método.

Todos os valores de desvio de padrão relativo (DPR) na repetibilidade e precisão intermediária ficaram abaixo de 5%, conforme valor preconizado pelos protocolos,³ e portanto o método foi considerado preciso.

O limite de detecção (LOD) foi calculado a partir da razão entre a altura do sinal e do ruído 3:1 e para o limite de quantificação (LOQ) a razão considerada foi de 10:1, obtendo-se os valores de 0,10 mg L⁻¹ e 0,40 mg L⁻¹, respectivamente.

Conclusões

O método desenvolvido e validado por CLAE-UV/DAD mostrou ser adequado para a análise quantitativa da flavona isoorientina na polpa dos frutos de *P. edulis*, e os resultados obtidos estão dentro dos parâmetros recomendados pelo protocolo da ICH.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq

¹ Mercadante, A. Z., et al. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 4102.

² Mareck, U., et. al. *Zeitschrift für Lebensmittel- Untersuchung und-Forschung* **1990**, 191, 269.

³ International Conference on Harmonisation (ICH)-Disponível em: <http://www.ich.org/cache/comp/363-272-1.html>. Acesso em: jan. 2010.