

Quantificação de palmitato de ascorbila utilizando CLAE-EM/EM com ionização por “Electrospray”

Ingrid C. R. Costa (PG)*¹; Fabiana M.Santos (TC)²; Selma G. F. Leite (PQ)¹; Luiz Nelson L. F. Gomes (PQ)²; Marcelo M. Pereira(PQ)²; Ivana C. R. Leal (PQ)², Leandro S. M. Miranda (PQ)³; Rodrigo Octavio M. A. de Souza (PQ)²

¹ Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, ² Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, ³ Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia, Maracanã, Rio de Janeiro.

*Ingrid@bossgroup.com.br

Palavras Chave: Palmitato de ascorbila, CLAE-EM/EM, “electrospray”

Introdução

O Palmitato de ascorbila (PA) é empregado como antioxidante e surfactante na indústria de alimentos e cosméticos, sendo utilizado principalmente, em produtos com alto teor de gordura. Lipases têm sido aplicadas na síntese deste composto com alta regioseletividade e em condições reacionais brandas. Em geral, as técnicas utilizadas para quantificação do PA são: Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a diferentes detectores (UV, índice de refração, ELSD) e CCD associada a fotodensitometria^{2,5}. O uso da cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas/massas (CLAE-EM-EM) tem se mostrado uma importante ferramenta analítica para identificação e quantificação de diversas substâncias, devido a sua alta seletividade e sensibilidade. Além disso, a combinação das técnicas proporciona informação estrutural e a massa molar do analito. O objetivo do estudo em questão é quantificar o palmitato de ascorbila através da CLAE-EM/EM.

Resultados e Discussão

As análises foram realizadas em sistema de CLAE-EM/EM, empregando cromatografo líquido de alta eficiência, Agilent 1200 Series, acoplado a espectrômetro de massas triploquadropolar API 2000, Applied Biosystems/MDS Sciex com fonte de ionização por “electrospray”(IES).

A infusão do composto no sistema IES/EM/EM permitiu sua caracterização nos modos EM (“Q1Scan”) e EM/EM (“Product Ion Scan” e “Precursor Ion Scan”), cujas informações são referentes a ionização do composto e ao padrão de fragmentação estrutural, respectivamente. No espectro de massas do modo EM (“Q1Scan”), um pico de m/z 413, correspondente a molécula desprotonada do PA, $[M-H]^-$, apresentou alta detecção no modo negativo. Após a otimização no modo “Multiple Reaction Monitoring” (MRM) via infusão foram estabelecidas as condições de ionização. Dentre os fragmentos do PA foram selecionadas para a quantificação as duas transições que apresentaram maior intensidade de sinal (m/z 255,0 e 86,7). Uma vez fixados os parâmetros de ionização realizou-se a otimização da fonte, “Flow Injection Analysis”(FIA). Os parâmetros

foram ajustados nas seguintes condições: voltagem do capilar (- 3,5kV) e potencial de desolvatação (“Declustering Potencial”- DP) -69 V. Nitrogênio foi utilizado como gás de colisão (“CAD Gas”) e gás de desolvatação (“Curtain Gas”) com pressões de 4 e 25 psi, respectivamente. Ar sintético ultra puro foi empregado como gás de nebulização (“GS1”) e secagem (“GS2”) com pressões de 45 psi. A temperatura de secagem foi de 400°C. Após otimização das condições cromatográficas, foi realizada eluição em coluna C-18 (Ace 3; 50mm x 2,1mm x 3,5 μ m) sob temperatura de 25°C e um volume de injeção de 20 μ L. A fase móvel foi constituída por: (A) (H₂O Milli-Q, 0,1% HCOOH e 10mM de HCOONH₄) e (B) (CH₃CN e 0,1% HCOOH). O gradiente de eluição utilizado foi: A (0min, 30%), (1,5-10min, 0%), (11-14min, 30%) em um fluxo de 300 μ L.min⁻¹. Nestas condições PA elue com T_R = 4,8 min. Para a quantificação do PA foi gerada uma curva de calibração com seis níveis de concentração (N₁ ao N₆) variando entre 12,5-425 μ g.mL⁻¹, sendo N₁ a N₆ preparados e analisados em triplicata. A curva apresentou um coeficiente de correlação quadrado $R=0,9930$ com equação $Y=5,19e+004X$.

Tendo-se obtido um método otimizado para o analito em estudo, amostras provenientes da síntese por catálise enzimática de palmitato de ascorbila foram posteriormente analisadas e quantificadas.

Conclusões

Neste trabalho, foi desenvolvida uma metodologia rápida e sensível para quantificar PA por CLAE-EM/EM, possibilitando a sua quantificação em matrizes complexas. Os parâmetros de validação do método como: curva analítica e linearidade, limite de detecção (LOD) e de quantificação (LDQ), precisão e exatidão, estão sendo avaliados.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FINEP, CNPq e FAPERJ.

1- Adamczak, M.; Bomscheuer, U.; *Process Biochemistry*, 2009, 44, 257-261.

2- Bradoo, S.; Gupta, R.; *JAACS*, 1999, 76, 1291-1295.

3- Hsieh, H.; Nair, Giridhar; Wu, Wen, J. *Agric. Food Chem.*, 2006, 54, 5777-5781.

4- Duarte *et al.*, *JAACS*; 2011,88,57-64.

5- Humeau *et al.*, *Biotechnology Letters*, 1995, 17,1091-1094.