

Otimização multivariada da extração de alcalóides harmânicos do maracujá por SBSE e análise por SBSE/LC-Flu “off line”

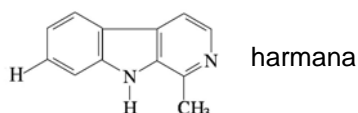
Cíntia A. Matiucci Pereira^{1*} (PQ), Benedito Manoel dos Santos¹ (TC), Janete H. Yariwake¹ (PQ).

¹ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil. *cmatiucci@gmail.com

Palavras Chave: alcalóides, maracujá, planejamento fatorial, extração por sorção com barra magnética (SBSE).

Introdução

Vários alcalóides harmânicos com atividade farmacológica, especialmente no SNC, já foram detectados nas folhas de maracujá, mas também há relatos sobre toxicidade destas substâncias^{1,2}. O desenvolvimento de métodos analíticos de grande sensibilidade poderá contribuir para a avaliação da segurança alimentar de produtos com maracujá, pois a possível presença de alcalóides harmânicos na polpa dos frutos³ ainda não foi confirmada inequivocamente. A SBSE/LC-Flu “off line” (extração por sorção com barra magnética combinada “off line” com a cromatografia líquida e detector de fluorescência) é ainda uma técnica pouco explorada para a análise de alimentos brasileiros. Neste trabalho aplicou-se a otimização multivariada da extração dos alcalóides do maracujá por SBSE, usando como modelo o alcalóide harmana.



Resultados e Discussão

Foram utilizadas barras de 20 mm cobertas com 0,5 mm de filme de PDMS (Twister Gerstel®). Para os ensaios utilizou-se uma solução padrão de harmana (0,02 mgL⁻¹) em água Milli-Q (10 mL). A dessorção foi conduzida em ‘vials’ com volume de 150 µL. A resposta empregada na otimização foi a área do pico cromatográfico da harmana. Usou-se cromatógrafo líquido (Waters Alliance 2695) acoplado a detector de arranjo de fotodiodos e fluorescência (ambos Waters), usando sistema de aquisição e tratamento de dados Empower (Waters). Foi utilizada coluna X-Terra[®] C18 (250mm x 4,6 mm x 5 µm) com coluna de guarda (2,0cm x 4,0mm x 5 µm), a 25°C. A fase móvel utilizada foi acetoneitrila (solvente A) e água (solvente B), ambas acidificadas com 0,5% de HCOOH, gradiente 20% A a 34% A em 10 min, 34% a 20% em 18 min; fluxo 1 mL/min e volume de injeção de 2 µL.

Para a otimização multivariada foi aplicado o delineamento composto central rotacional (DCCR) fracionado 2⁵⁻¹ (16 ensaios + 3 repetições no ponto central) para análise de 5 fatores (pH, tempo de

extração, % NaCl, tempo de dessorção, % de metanol na dessorção). Os níveis selecionados (Tab. 1) levaram em conta o valor de K_{ow} da harmana (log K_{ow} = 3,10). O software MiniTab 15 foi usado para o cálculo dos efeitos e suas interações, além da construção do gráfico de Pareto (p=0,05) e estimativa da superfície de resposta.

Tabela 1. Níveis e fatores avaliados no planejamento fatorial.

Fatores	Níveis		
	-1	0	+1
pH	3	6	13
TE (mins)	60	90	120
%NaCl	0	36	50
TD (mins)	10	20	60
% Metanol	10	50	100

*TE = tempo de extração. TD = tempo de dessorção.

Os efeitos que afetaram a resposta analítica foram: pH, % de metanol na dessorção e % de NaCl, sendo que o pH tem o maior efeito principal. Outras interações significativas também foram observadas e a partir destes resultados determinou-se as condições ótimas de extração: pH 13,0; tempo de extração 120 min, 50% NaCl; tempo de dessorção de 60 min em 100% de metanol, que resultou em recuperação de 98,76 ± 0,16% (n = 3) de harmana em solução aquosa.

Conclusões

A otimização multivariada possibilitou avaliar as variáveis significativas e estabelecer condições ótimas para a determinação de harmana em solução aquosa por SBSE. Estas condições estão sendo utilizadas para o desenvolvimento do método SBSE/CLAE-Flu para análise dos alcalóides harmânicos do suco de maracujá.

Agradecimentos

Fapesp, CNPq.

¹ Zeraik, M. L.; Pereira, C. A. M.; Zuin, V. G.; Yariwake, J. H. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **2010**, *20*, 459.

² Herráiz, T.; González, D.; Ancin-Azpilicueta, C.; Áran, V.J.; Guillén, H. *Food and Chem. Toxicology*. **2010**, *48*, 839.

³ Lutomski, J.; Malek, B.; Rybacka, L. *Planta Medica*. **1975**, *27*, 112.