

Desenvolvimento e validação de metodologia para a extração e quantificação por CLAE-UV dos flavonoides das cascas do maracujá azedo.

**Ana Paula B. Clemente, Benedito M. dos Santos, Cíntia A. M. Pereira,
Janete H. Yariwake**

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo

Objetivos

Desenvolver uma metodologia validada para analise dos flavonoides das cascas de *Passiflora edulis* (Passifloraceae), conhecido como maracujá azedo.

Métodos/Procedimentos

A extração foi feita via MSPD¹(dispersão da matriz em fase sólida). O procedimento de validação foi de acordo com as diretrizes do ICH², usando a naringina como padrão analítico. 1g de cascas secas (0,5-1mm) foram maceradas com 0,5g de sílica 60H e adicionou-se 1mL da solução padrão de naringina e a amostra foi colocada em uma coluna de vidro, eluindo-se com 5mL de metanol:água 60% v/v. O volume foi ajustado para 2mL. O procedimento foi realizado em triplicata para três níveis de concentração de naringina (500, 700 e 900 mg/L). A precisão intra e interdias foi avaliada repetindo-se o experimento em 3 dias diferentes. Para a avaliação da linearidade construiu-se uma curva analítica com 5 concentrações do padrão. Condições da análise CLAE-UV: Solvente A 2% HCOOH em água e solvente B 2% HCOOH em acetonitrila 0-10min; 12-14% de B em A, 10-30min; 14-20% de B em A, 30-40min; 20-12% de B em A, 40-45min; 12-12% de B em A, temperatura da coluna 40°C. Coluna: Symmetry® C₁₈(250μm x 4,6μm x 5 μm) com pré coluna Symmetry® C₁₈ (2 cm x 4,0 mm x 5μm), ambas Waters.

Resultados

Os parâmetros avaliados foram: especificidade; linearidade, obtendo uma curva analítica, com a equação $y = 3452,786x - 14813,6$ ($r^2=0,99615$) e o valor de r^2 mostrou-se adequado. A exatidão do método também foi

adequada, dentro da faixa de 70 – 120%. A precisão e a precisão intermediária (inter corridas) também foram adequadas (menos do que 5%)

Tabela 1: Dados de exatidão e precisão do método MSPD-CLAE/UV.

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Inter Corridas
Exatidão	95,5%	96,9%	96,2%	-----
Precisão	2,9%	2,8%	2,6%	1,1%

Também determinou-se o limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ), e utilizou-se a razão 3:1 (sinal:ruído) para o LOD e a razão (10:1) (sinal ruído) para o LOQ. Os valores obtidos foram LOD=8mg/L e LOQ= 15mg/L.

Conclusões

Todo o procedimento de validação analítica foi realizado e o método MSPD-CLAE/UV mostrou-se dentro dos parâmetros do ICH² para a validação. Desta modo o método desenvolvido poderá ser aplicado para a extração e quantificação dos flavonoides das cascas de *Passiflora edulis* (Passifloraceae), maracujá azedo.

Referências Bibliográficas

- [1]. ZUIN, V. G. et al. J. Braz. Chem. Soc. 14 (2) (2003).
- [2]. ICH. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Disponível em: <http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>

Agradecimentos

Ao CNPq e a FAPESP.