

# 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 análise dos flavonoides das cascas de *Passiflora edulis* (Passifloraceae), conhecido como maracujá azedo.

## Métodos/Procedimentos

A extração foi feita via MSPD<sup>1</sup>(dispersão da matriz em fase sólida). O procedimento de validação foi de acordo com as diretrizes do ICH<sup>2</sup>, 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<sup>®</sup> C<sub>18</sub>(250µm x 4,6µm x 5 µm) com pré coluna Symmetry<sup>®</sup> C<sub>18</sub> (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 ICH<sup>2</sup> para a validação. Deste 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.