

## OBTENÇÃO DE PADRÃO ANALÍTICO DE RETINOL A PARTIR DE FÍGADO BOVINO VIA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM ESCALA ANALÍTICA.

SABRINA DA SILVA DIAS, RONOEL LUIZ DE OLIVEIRA GODOY, SIDNEY PACHECO, ROSANA COLATINO SOARES REIS, DANIEL FILISBERTO SCHUTZ

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, EMBRAPA AGROINDÚSTRIA DE ALIMENTOS.

A hipovitaminose A é uma das carências nutricionais de maior impacto na saúde pública, causando inúmeras doenças como cegueira noturna e xeroftalmia. O retinol ou vitamina A ( $C_{20}H_{30}O$ ) é um álcool, lipossolúvel, com um anel b-ionona ligado a uma estrutura terpênica. É encontrada apenas em fontes animais, em áreas de armazenamento como o fígado ou associadas a gorduras como a do leite. A sua quantificação depende da obtenção de padrões analíticos confiáveis. Porém, a aquisição de padrões de alta pureza quase sempre depende de importação e apresenta custos elevados. Como excelente fonte de vitamina A, o fígado bovino, foi escolhido como matriz para isolamento de retinol para preparação de padrão primário a ser utilizado para calibrações. Sendo assim, este estudo teve como objetivo o isolamento de retinol para utilização como padrão analítico extraído de fígado bovino. Foram pesados em balança analítica 20g de fígado bovino e colocados sob aquecimento em banho-maria a 40°C por 30 minutos a 80rpm. Após aquecimento foram adicionados 50mL de solução saponificante de KOH a 20% (p/v) e pirogalol a 1% (p/v) em metanol, que reagiu por 3 horas protegido de luz e  $O_2$ . As condições cromatográfica utilizadas foram coluna cromatográfica YMC<sup>®</sup>C<sub>30</sub> Carotenoid (250x4,6mm x 3µm), a temperatura de 33°C, detector de arranjo de fotodiodos modelo 996, fluxo de 0,8mL/minuto, volume injetado de 15µL, com tempo de análise de 28 minutos, gradiente de éter metil *terc*-butílico: metanol variando de 20 a 90% e para a quantificação espectrofotômetro modelo UV – 1800 – Shimadzu. A substância de interesse foi recolhida em ampola no ápice do pico cromatográfico, entre os tempos de retenção de 4,8 e 5,1 minutos. O retinol purificado foi quantificado por espectrofotometria com comprimento de onda de 325nm, em etanol absoluto como solvente. A confirmação qualitativa da substância isolada foi feita por espectrometria de massas de alta resolução no sistema Synapt MS quadrupolo/TOF da Waters<sup>®</sup> com fonte eletronspray no modo positivo. A concentração foi calculada baseada no coeficiente de extinção encontrado na literatura que corresponde ao valor de  $E_{1\%}^{1\text{cm}}=1780$  em etanol absoluto. Para determinação da pureza cromatográfica foi levado em consideração a área do pico de retinol em porcentagem relativa a soma das áreas de todos os picos presentes. Após o isolamento foi calculada a concentração de retinol com relação a absorvidade molar e a leitura obtida no espectrofotômetro a 325nm, apresentando valores de 21,5µg de retinol/ mL de solução. Com dez injeções de 15µL de extrato de fígado bovino foram obtidos 3mL de solução de retinol com pureza de 99%, correspondendo a 64,5µg de retinol, material suficiente para preparação de futuras curvas de calibração para análises cromatográficas de retinol.

Palavras-chave: Vitamina A, Isolamento de padrões, Espectrometria de Massas