

## PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DE RETINOL EM MATRIZES DE ORIGEM ANIMAL

Sabrina da Silva Dias<sup>1</sup>; Ronoel Luiz de Oliveira Godoy<sup>2</sup> & Rosana Colatino Soares Reis<sup>3</sup>

1. UFRRJ, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, e-mail: [sabrinaduff@gmail.com](mailto:sabrinaduff@gmail.com); 2. UFRRJ/EMBRAPA/Agroindústria de Alimentos; 3. Co-orientadora, UFRRJ/Departamento de Produção animal/IZ.

Palavras-chave: *validação analítica, CLAE, UPLC-MS/MS.*

### RESUMO

Para garantir uma confiabilidade da análise de retinol em produtos de origem animal, o ensaio foi submetido a validação analítica. Segundo as agências orientadoras, os parâmetros analíticos devem ser baseados na intenção de uso do método, em relação à matriz e quantidade de analito estudada. O presente estudo teve como objetivo validar método de ensaio para determinação de retinol em matrizes de origem animal, segundo resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 (ANVISA – Agência nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia) Documento de Orientação DOQ-CGCRE-008 de fevereiro de 2010. Como fonte para isolamento de padrão de retinol, a ser utilizado na validação do retinol, foi utilizado fígado bovino devido ao alto teor de vitamina A. Foram pesados 20g de fígado bovino e colocados sob aquecimento em banho-maria com agitação a 40°C por 30 minutos a 80rpm, seguida de saponificação com solução metanólica de KOH 20% (p/v) e pirogalol 1% (p/v). As condições cromatográfica foram: coluna YMC<sup>®</sup>C<sub>30</sub> Carotenoid (250x4,6mm x 3µm), a 33°C, detector de arranjo de fotodiodos modelo 996, fluxo de 0,8mL/minuto, volume injetado 15µL, gradiente de éter metil *terc*-butílico: metanol variando de 20 a 90%. A seletividade do método foi confirmada utilizando espectrômetro de massas de alta resolução no sistema Synapt MS quadrupolo/TOF da Waters<sup>®</sup> com fonte eletronspray no modo positivo. Os resultados de seletividade foram analisados com base no tempo de retenção de 4,9 minutos e o espectro de absorção na região UV com absorvância máxima em 325nm, a análise por UPLC-MS/MS detectou a presença do íon base m/z 269 que caracteriza a presença de retinol, sendo estes, comparados com padrão comercial de acetato de retinol hidrolisado. A curva de calibração foi elaborada com sete pontos em triplicata, com retinol isolado com pureza de 99%, na faixa de trabalho selecionada em relação à concentração de retinol na matriz, com valores entre 0,5 a 10 µg/mL. Em relação à linearidade, o teste estatístico de Cochran demonstra que as variâncias da curva são homogêneas e segundo análise de ANOVA não houve diferença significativa entre as replicatas, representando linearidade da regressão, com  $r^2=0,99$ . Os valores de precisão obtiveram resultados de DPR menores que 15%, de acordo com orientações da ANVISA. O limite de detecção (LD) foi determinado usando diluições da solução de retinol isolada abaixo do menor ponto da curva de calibração, segundo orientação INMETRO, sendo determinado como LD para o equipamento a concentração de 55 pg de retinol/mL. O método de ensaio para determinação de retinol se mostrou linear dentro da faixa de trabalho escolhida, seletivo, preciso, assegurando aplicabilidade e confiabilidade durante as operações de rotina.

Agência Financiadora: CAPES/CNPQ.