

SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES POR UPLC-ESI-QTOF-MSMS

Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, Sidney Pacheco, Ana Cristina Miranda Senna Gouvêa, Renata Galhardo Borguini, Manuela Cristina Pessanha de Araújo Santiago, Antônio Gomes Soares

Os flavonoides integram uma grande família de substâncias e estão largamente distribuídos em alimentos. Possuem atividade antioxidante e podem estar associados à prevenção de doenças como diversos tipos de câncer. Devido à diversidade de suas propriedades físico-químicas, os métodos de separação cromatográfica citados na literatura são variados e numerosos. A polaridade dos flavonoides, fator determinante nas separações cromatográficas, pode variar muito, apresentando desde substâncias iônicas, como as antocianinas, substâncias polares, como os flavonoides glicosilados, e até substâncias apolares, como os flavonoideseterificados. A detecção por espectrometria de massas é uma ferramenta imprescindível para a identificação inequívoca dos flavonoides. O objetivo deste trabalho foi a otimização de um método de separação de flavonoides em fase reversa por UPLC com detecção por espectrometria de massas ESI-QTOF-MSMS. Um extrato (DMSO) de casca de tangerina (*Citrus reticulata*) liofilizada foi utilizado para testar a separação do método proposto. Doze padrões de flavonoides comerciais foram misturados para a otimização da separação cromatográfica, foram eles: Epicatequina, Rutina, Narirutina, Miricetina, Naringina, Diosmina, Hesperidina, Neoheperidina, Quercetina, Naringenina, Kaempferol e Hesperetina. Os equipamentos utilizados e as condições cromatográficas estabelecidas foram: cromatógrafo ACQUITY (Waters®), coluna Waters® BEH C₁₈ (2,1 x 150mm 1,7µm) à 45°C, com eluição gradiente de acetonitrila em água com 0,1% de ácido fórmico à 0,35mL/min. A detecção (Synapt Waters®) foi em ESI em modo positivo com fluxo de dessolvatação de 750L/h a 500°C e temperatura da fonte em 120°C. O método otimizado foi capaz de separar os doze flavonoides testados com resolução de linha de base em 30 minutos de corrida cromatográfica. Com a injeção do extrato de casca de tangerina no método desenvolvido, foi possível a identificação de dois flavonoides contidos na mistura de padrões (Diosmina e Hesperidina) além de quatro outros flavonoides identificados pelo espectro de massas (MSMS-QTOF), são eles: Scutellareina, Nobiletina, Sinensetina e Tangeritina.