

V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE ISOFLAVONAS EM LEITE DE SOJA

AUTOR PRINCIPAL: Izadora Borgmann Frizzo.

CO-AUTORES: Natália Freddo, Charise Dallazem Bertol.

ORIENTADOR: Luciana Grazziotin Rossato Grandó

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO

O consumo de produtos à base de soja tem aumentado significativamente nos últimos anos devido ao aumento do número de veganos, vegetarianos e indivíduos intolerantes à lactose que buscam nos derivados de soja uma alternativa proteica saudável (GRANATO et al., 2010). Estes produtos contêm isoflavonas de atividade estrogênica, e por isso são conhecidas como fitoestrógenos, que são substâncias causadoras de grande impacto hormonal. Atualmente não há padronização para os níveis desses compostos em produtos alimentícios derivados da soja, sendo assim, o objetivo do trabalho é desenvolver e validar um método para a quantificação de isoflavona em leite de soja através da cromatografia líquida acoplada de detector ultravioleta (LC-PDA).

DESENVOLVIMENTO:

O método analítico foi validado de acordo com as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Conferência Internacional sobre Harmonização de Requisitos Técnicos para Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH). Linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão, exatidão, especificidade, robustez e estabilidade foram avaliados. O padrão de isoflavonas utilizado foi a genisteína. Para a validação foi utilizado o HPLC, com uma solução de ácido acético 0,5% e acetonitrila numa proporção de 70:30 para a fase móvel do equipamento, e uma coluna Brownlee C8 para a fase reversa. Os dados das áreas dos picos foram integrados no software Chromera Workstation. As isoflavonas do leite

V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



foram extraídas através de extração em fase sólida (SPE). A linearidade, como indicado pelas curvas de regressão e pelos coeficientes de correlação (r^2), foi realizada em 3 dias, utilizando 5 níveis de concentração diferentes em um intervalo de 10 a 100 $\mu\text{g/mL}$ de genisteína em leite de soja. Os resultados foram analisados através do ANOVA (software Portal Action) e o mínimo aceito r^2 foi de 0,99. O LD e o LQ foram determinados a partir dos dados das curvas de calibração (BRASIL, 2003) (ICH, 2005), sendo definidos como 2,64 $\mu\text{g/mL}$ e 8.81 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. A precisão e exatidão foram calculadas através da análise de 3 repetições de 3 concentrações diferentes (20, 60 e 90 $\mu\text{g/mL}$) de genisteína. A exatidão foi avaliada pelo cálculo da média, desvio padrão e coeficiente de variação dos valores. A precisão foi feita calculando o valor percentual entre o valor calculado e o valor nominal (ICH, 2005). Os resultados de precisão foram de 95,4% para a menor concentração testada, 96,8% para a concentração intermediária e 100,0% para a maior concentração. O teste de exatidão resultou em um CV menor que 5% nas três concentrações testadas, em triplicata. Para avaliar a recuperação, foram feitas 3 concentrações diferentes (20, 60 e 90 $\mu\text{g/mL}$) de isoflavonas. As amostras foram injetadas após SPE e sem passar pelo processo de extração em SPE e o sinal gerado pelo LC-PDA foi comparado. A recuperação foi de 100%. A aplicabilidade do método foi comprovada pela análise de isoflavonas em 3 marcas diferentes de leite de soja comercialmente disponível. As amostras foram obtidas comercialmente e processadas da mesma forma que os padrões. O conteúdo médio de genisteína é de $17,58 \pm 8,38 \mu\text{g/mL}$.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Foi possível desenvolver e validar com sucesso um método para quantificar isoflavonas em leite de soja, de fácil reprodução e com materiais amplamente disponíveis, facilitando sua aplicabilidade. Como esperado, os níveis mais altos de genisteína são encontrados nos produtos com maior teor de proteína declarado.

REFERÊNCIAS

Benlhabib, E. et al. Quantitative analysis of phytoestrogens in kudzu-root, soy and spiked serum samples by high-pressure liquid chromatography. *Biomedical Chromatography*, 2004, 18, 367–380.

Brasil, A.N. de V.S. (ANVISA), 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bionalíticos.

Granato, D., Branco, G., Nazzaro, F., Cruz, A., Faria, J. Functional foods and nondairy probiotic food development: Trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010, 9, 292–302.



V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use Harmonised tripartite guideline. Validation of analytical procedures: methodology, 2005.

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa):

ANEXOS