

Fernanda Waechter (1,2); Mariele Feiffer Charão (1,3); Marília Baierle (1,3); Solange Cristina Garcia (1,4).

(1) Laboratório de Toxicologia (LATOX) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre - Brasil.

(2) Alunos do Curso de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre - Brasil.

(3) Alunos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre - Brasil.

(4) Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre - Brasil.

INTRODUÇÃO

O processo do envelhecimento está relacionado ao aparecimento de algumas patologias e o estresse oxidativo é um dos mecanismos propostos.

As vitaminas lipossolúveis são antioxidantes exógenos que atuam sequestrando espécies reativas, ajudando dessa maneira a manter a homeostase do organismo.

Com isso, a quantificação desses antioxidantes é bastante importante, e muitos métodos para essa finalidade têm sido descritos na literatura, porém utilizam métodos de extração demorados e trabalhosos.

OBJETIVO

Validar uma metodologia para quantificação simultânea de retinol, α -tocoferol, licopeno e β -caroteno por CLAE com detecção em visível e fluorescência, através de um método de extração líquido-líquido. Além disso, avaliar esses antioxidantes em idosos como um dos biomarcadores do estado micronutricional.

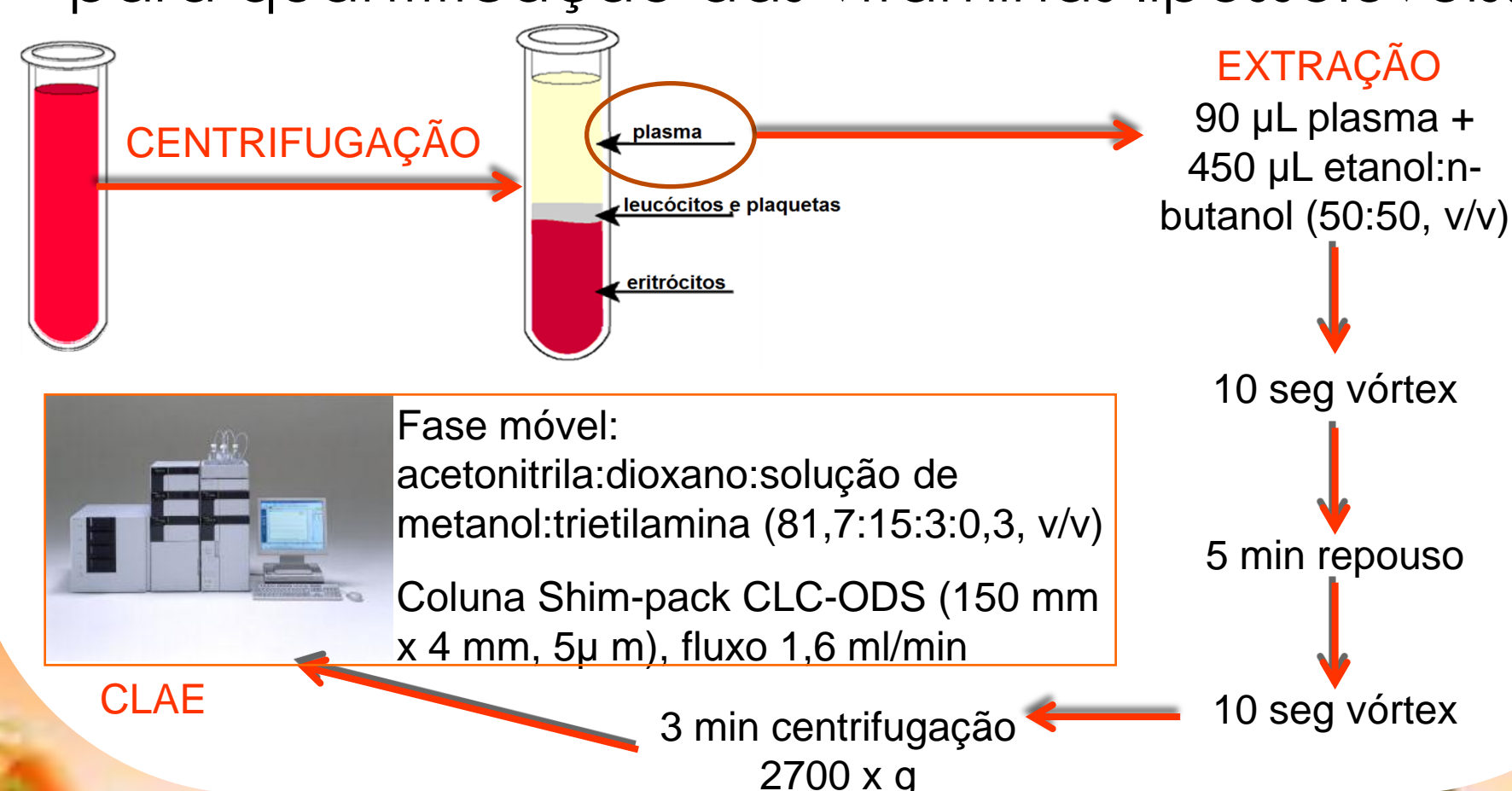
METODOLOGIA

A quantificação do retinol, α -tocoferol, licopeno e β -caroteno foi realizada após uma simples extração líquido-líquido e posterior injeção do sobrenadante em cromatógrafo líquido de alta eficiência com detecção em fluorescência e visível.

Foram realizadas 5 curvas analíticas padrão e com adição de padrão em plasma para verificar linearidade, precisão, exatidão, recuperação e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ).

O método foi aplicado em 15 idosos institucionalizados de Porto Alegre. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do HCPA (nº 110171).

O sangue foi coletado com EDTA, foi centrifugado e o plasma foi mantido a -80°C até o momento da análise, quando foi utilizado para quantificação das vitaminas lipossolúveis.



RESULTADOS

As curvas mostraram linearidade conforme mostra a Tabela 1. Para a precisão, o coeficiente de variação foi menor que 5%. LD e LQ foram aceitáveis para todas as vitaminas.

A exatidão e recuperação estão mostradas na Tabela 2, e os resultados da aplicação do método em idosos estão mostrados na Tabela 3, assim como os valores de referência.

Tabela 1. Equações das curvas de calibração e suas linearidades.

| Vitamina | Curva Padrão | R | Curva com adição de padrão | R |
|---------------------|------------------------|-------|----------------------------|-------|
| Retinol | $y = 372736x - 8562,8$ | 1 | $y = 405787x - 4224$ | 0,999 |
| α -tocoferol | $y = 178761x - 22874$ | 0,999 | $y = 205172x - 171711$ | 0,999 |
| Licopeno | $y = 59364x - 252,33$ | 0,999 | $y = 55211x - 599,81$ | 0,997 |
| β -caroteno | $y = 63703x - 15,91$ | 0,999 | $y = 63586x - 248,12$ | 0,999 |

Tabela 2. Exatidão e recuperações para as 4 vitaminas analisadas.

| Vitamina | Exatidão (%) | Recuperação (%) |
|---------------------|--------------|-----------------|
| Retinol | 2,78 - 4,45 | 96,51 - 105,02 |
| α -tocoferol | 0,29 - 4,73 | 97,15 - 104,26 |
| Licopeno | 1,26 - 2,99 | 92,73 - 93,92 |
| β -caroteno | 0,15 - 5,80 | 94,74 - 101,97 |

Tabela 3. Resultados da quantificação das vitaminas plasmáticas em idosos e valores de referência.

| Vitamina | Concentração Plasmática em Idosos (μM)* | Valores de Referência (μM) |
|---------------------|--|---|
| Retinol | $2,32 \pm 0,66$ | 1,05 - 2,80 |
| α -tocoferol | $28,46 \pm 6,03$ | 12 - 42 |
| Licopeno | $0,43 \pm 0,24$ | ** |
| β -caroteno | $0,76 \pm 0,34$ | 0,19 - 1,58 |

* Média \pm desvio padrão

** Não existem VR, porém a literatura relata que a concentração plasmática de licopeno é em média $0,5 \mu\text{M}$.

CONCLUSÕES

O método provou ser linear, preciso, exato e sensível, podendo ser aplicado para quantificação de retinol, α -tocoferol, licopeno e β -caroteno em idosos. Os resultados mostraram que os idosos avaliados não apresentam hipovitaminose para retinol, α -tocoferol, licopeno e β -caroteno.

Apoio:

