



## Use of Central Composite Design to Evaluate the Robustness of a LC-Method

Luiz Alberto Lira SOARES <sup>1\*</sup>, Tatiane Pereira DE SOUZA <sup>1</sup>,  
George GONZÁLEZ ORTEGA <sup>2</sup> & Pedro Ros PETROVICK <sup>2</sup>

<sup>1</sup> PPGCF - Departamento de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Norte,  
Avenida General Cordeiro de Farias s/n, 59010-180, Natal, RN, Brasil.

<sup>2</sup> PPGCF - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
Avenida Ipiranga 2752, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

**SUMMARY.** The purpose of this work was to evaluate the preliminary robustness of a RP-LC methodology developed and validated for separation and quantification of catechin and epicatechin. The robustness was investigated by a central composite design, where the concentration of acetic acid solution and the initial proportion of acetonitrile were the independent variables, the dependent variables were the retention times, capacity factor and resolutions of both peaks. The analysis was performed using a C<sub>18</sub> column with acid acetic-acetonitrile mobile phase employing gradient elution and detection by UV at 280 nm. Except for the resolution of epicatechin other responses showed a similar performance. While the initial proportion of acetonitrile significantly influences all dependent variables decreasing the responses as the concentration of acetonitrile is higher, the acid concentration has a minor influence.

**RESUMEN.** "Utilización del Diseño Central Compuesto para Evaluar la Robustez de un Método de CLAR". El objetivo del presente trabajo fue evaluar la robustez del método CLAR-fase invertida, previamente validado, para separación y cuantificación de catequina y epicatequina. La robustez fue investigada por medio de un diseño central compuesto, las variables independientes fueron concentración de ácido acético y proporciones iniciales de acetonitrilo y las variables dependientes fueron el tiempo de retención, el factor de capacidad y la resolución de ambos picos. El ensayo fue realizado utilizando una columna C<sub>18</sub> y ácido acético-acetonitrilo como fase móvil, sistema de elución gradual y detección UV en 280 nm. Todas las respuestas mostraron un comportamiento similar, excepto la resolución de la epicatequina. La proporción de acetonitrilo influyó todas las variables dependientes significativamente, disminuyendo las respuestas en el caso de altos niveles. La concentración de ácido acético presentó menor influencia en las repuestas.

**KEY WORDS:** HPLC, Catechin, Composite Central Design, Epicatechin, Robustness.

**PALABRAS CLAVE:** Catequina, CLAR, Diseño Central Compuesto, Epicatequina, Robustez.

\* Author to whom correspondence should be addressed. *Email:* phtech@uol.com.br