

Desenvolvimento e validação de método quantitativo por RMN de ^1H para análise de α -pineno em óleos essenciais

Cristiane I. Cerceau (PG)^{1*}, Luiz C. A. Barbosa (PQ)², Elson S. Alvarenga (PQ)¹, Antônio J. Demuner (PQ)¹
e-mail:cristiane.cerceau@ufv.br; lcab@ufmg.br

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. CEP 36570-900

²Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil. CEP 31270-901

Palavras Chave: Validação, RMN de ^1H , α -pineno, óleos essenciais

Introdução

Devido à falta de um padrão de qualidade para muitos óleos essenciais no Brasil¹, torna-se necessário o desenvolvimento de novas metodologias para caracterização desses óleos. A técnica mais utilizada para aferir o controle de qualidade de óleos voláteis é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Recentemente, a técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) tem merecido especial atenção para o controle de qualidade de fármacos, alimentos, dentre outros². A proposta deste trabalho é o desenvolvimento de uma nova metodologia por RMN de ^1H , que seja rápida, para a quantificação de α -pineno em óleos essenciais.

Resultados e Discussão

Para os testes de validação, foram preparadas 7 amostras, em triplicata, contendo massas de α -pineno entre 5 e 35 mg variando-se de 5 em 5 mg. Em cada amostra foram acrescentados 0,62 mg do padrão octametilsilclotetrasiloxano e 730 μL de CDCl_3 . Foram utilizadas amostras de óleos essenciais de eucalipto híbrido *E. urophylla* x *E. grandis* (UxG) e *E. tereticornis* (ET) e de pimenta rosa *Schinus sp* (PR). As análises de RMN de ^1H foram realizadas em espectrômetro Varian Mercury 300 MHz equipado com sonda multinuclear com detecção direta a 25 °C, usando número de transientes (nt) de 16, após terem sido estimados a calibração do pulso de 45° (pw) e o tempo de relaxação longitudinal (T_1) para todas as réplicas, tanto para validação como para quantificação das amostras. Nas condições otimizadas, o método foi validado e analisado em relação aos sinais em δ 5,23-5,17; 2,35; 2,21; 2,12-2,04; 1,94; 1,67; 1,28; 1,17 e 0,85 ppm, do espectro de RMN de ^1H do α -pineno em CDCl_3 . Foram obtidos valores de linearidade com r superiores a 0,99912 (δ 0,85), exatidão variando entre 93,37 (δ 0,85) e 103,39% (δ 2,21); repetitividade com valores de coeficiente de variação (CV) entre 0,05 (δ 5,23-5,17) e 1,93 (δ 2,12-2,04) e robustez com valores de CV entre 0,07 (δ 1,28) e 1,57 (δ 2,35), quando avaliado o nt, além

de CV entre 0,03 (δ 1,28) e 2,28 (δ 2,12-2,04) quando avaliada a influência da temperatura. Os resultados da quantificação das amostras (tabela 1) obtidos por RMN de ^1H , utilizando o sinal em δ 5,23-5,17 foram comparados aos obtidos por CG usando padronização externa (CG-PE), interna (CG-PI) e normalização (CG-N), realizados em cromatógrafo Shimadzu CG-17A. Por esse método o α -pineno foi quantificado em óleos essenciais das três espécies analisadas (Tabela 1). Por esses resultados foi verificado que o conteúdo de α -pineno analisado pelos métodos cromatográficos e por RMN de ^1H não teve variação significativa. Portanto o método proposto de análise por RMN de ^1H pode ser utilizado para quantificação desse constituinte, com a vantagem de ser simples e rápido.

Tabela 1. Percentagem média de α -pineno quantificado nas amostras de óleos essenciais analisadas por diferentes métodos

Metodologias	UxG	ETB	PR
CG-PI (%)	33,14	10,87	11,80
CG-PE (%)	35,60	13,46	15,34
CG-N (%)	36,80	11,40	11,47
RMN de ^1H (%)	34,44	11,74	11,27

Condições cromatográficas: coluna SPB5-Supelco de 30 m, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de partícula; temperatura do injetor de 220 °C, temperatura do detector de 240 °C; temperatura inicial da coluna mantida a 40 °C durante 4 min, aumentando 3 °C/min até atingir 200 °C; nitrogênio como gás de arraste a uma vazão de 1,8 mL/min; razão de Split 1:5 e tempo de corrida de 57,3 min.

Conclusões

O método de análise de α -pineno desenvolvido empregando RMN de ^1H pode ser aplicado em amostras complexas como óleos essenciais. Os resultados obtidos são comparáveis aos obtidos pela técnica tradicional de CG, tendo a vantagem de ser simples e rápido, permitindo sua aplicação para o controle de qualidade de um grande número de amostras.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, FAPEMIG

¹ Bizzo, H. R. *Quim. Nova.* **2009**, 32, 588.

² Guerrini, A. *et al. Chemistry & Biodiversity.* **2011**, 8, 624.