

Eugenol como anestésico para peixes: desenvolvimento e validação de método para análise em fluido e tecidos animais

Marina Carvalho Delbon¹ (PG)*, Luciana Polese² (PQ), Maria Jose Tavares Ranzani-Paiva^{1,3} (PQ), Flávio S. Silva² (PG) Mary Rosa Rodrigues de Marchi² (PQ)

¹ Programa de Pós-Graduação em Aquicultura – CAUNESP(Centro de Aquicultura da UNESP), Jaboticabal, SP

² Instituto de Química, UNESP, Araraquara, SP

³ Instituto de Pesca, APTA, SAA, SP

*marinadelbon@yahoo.com.br

Palavras Chave: eugenol, GC-FID, validação, matrizes biológicas

Introdução

A maioria dos anestésicos usados em peixes é absorvida nos tecidos, via brânquias, levando ao acúmulo de resíduos¹. Para eliminar esses resíduos é necessário que haja depuração. O eugenol (2-metoxi-4-(2-fenol) propenil) tem sido utilizado por aqüicultores para induzir diferentes níveis de anestesia e analgesia. Infelizmente, pesquisas sobre as propriedades anestésicas do eugenol em peixes são voltadas principalmente para efeitos comportamentais e fisiológicos sem determinar a sua biodisponibilidade.

Como a determinação de eugenol é essencial para avaliar o resíduo deste anestésico em material biológico de peixe, o objetivo do presente estudo foi otimizar e validar um método analítico rápido e de baixo custo que pode ser aplicado as análises de interesse. No presente trabalho, propõe-se a determinação de eugenol em matrizes biológicas (plasma, fígado e músculo) de peixes (*Oreochromis niloticus*) a partir da injeção por *headspace* no cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama(GC/FID).

Experimental

As curvas analíticas foram construídas partir de soluções de 0,3 a 5 mg L⁻¹ de eugenol em metanol, utilizando mentol como padrão interno e sendo injetado o *headspace* das soluções. A resposta do GC/FID (Varian, 3800) para o eugenol foi linear no intervalo de 0,6 a 5 mg L⁻¹, sendo a linearidade avaliada pelo teste de Huber². A equação de regressão linear e o coeficiente de correlação foram $Y = 362,67X + 1057,70$ e $r^2 = 0,95$.

As amostras biológicas (tilapia, *Oreochromis niloticus*) foram adicionadas a vials de 40 mL com tampa de rosca e septo de silicone faceado em Teflon^{MR}, próprios para *headspace* (1 mL de plasma e 5 g de músculo ou fígado). Em seguida, foram adicionadas soluções padrão de eugenol às amostras. Após 2 minutos sob agitação para homogeneização, e 30 minutos para interação do analito com a matriz, as amostras foram aquecidas a 35°C. O tempo de aquecimento foi otimizado, tendo sido avaliada a recuperação obtida quando empregado o aquecimento por: 15, 30, 45 e 60 min, o tempo de 45 minutos apresentou as melhores recuperações, para todas as concentrações. A precisão (repetibilidade) foi avaliada através do 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

coeficiente de variação (CV) dos resultados obtidos (Tabela 1).

Tabela 1. Exatidão (recuperação) e precisão (CV) do método otimizado (n=6)

| Matriz | Concentração da Fortificação | Recuperação (%) | CV (%) |
|----------------|------------------------------|-----------------|--------|
| Plasma (µg/mL) | 20 | 93 | 5 |
| | 40 | 101 | 5 |
| | 60 | 92 | 11 |
| | 80 | 79 | 4 |
| | 100 | 70 | 9 |
| Fígado (µg/g) | 4 | 120 | 5 |
| | 8 | 113 | 2 |
| | 12 | 111 | 4 |
| | 16 | 95 | 5 |
| | 20 | 94 | 9 |
| Músculo (µg/g) | 4 | 111 | 2 |
| | 8 | 103 | 1 |
| | 12 | 95 | 6 |
| | 16 | 96 | 2 |
| | 20 | 74 | 3 |

Considerando-se os dados obtidos no estudo de recuperação, o método é exato e preciso, segundo o que preconiza a ANVISA³.

O limite de quantificação(LOQ) de um método deve ser considerada a menor concentração da amostra fortificada, para a qual obteve-se recuperação entre 70-120% e CV < 20%³. Assim sendo, o LOQ do método é 20 µg/mL para plasma e 4 µg/g. para fígado e músculo de peixe. Estes valores estão adequados à aplicação do método a estudo de depuração de eugenol em animais tratados com este anestésico, em desenvolvimento no CAUNESP.

Conclusões

O método otimizado e validado para determinação de eugenol em matriz biológica, demonstrou ser prático, rápido e eficiente, podendo ser aplicado ao estudo de resíduos em tecidos e fluidos biológicos de peixe que se pretende.

Agradecimentos

Ao prof. Dr. Alberto José Cavalheiro, do IQ/UNESP, por ceder o equipamento GC-FID para a realização deste trabalho.

¹ Marking, L. L.; Meyer, F. P. *Fisheries*, 1985, 10 (6), 2-5.

² Valente, L. P. V.; Riedo, C. R. F.; Augusto, F.; 2003, Disponível em: <http://chemkeys.com/br>

³ Ribani, M.; Bottoli, C.B.G.; Collins, C.H.; Jardim, I.C.S.F.; Melo, L.F.C. *Química Nova*, 2004, 27, 771-780.