

# Determinação de Proteínas em Soros Hiperimunes Utilizando Espectroscopia NIR, Calibração Multivariada e Seleção de Variáveis

Ana Luísa de Queiroz Baddini<sup>1</sup> (PQ), Ricardo Cassella<sup>1\*</sup> (PQ), Luís Eduardo R. da Cunha<sup>2</sup> (PQ), Antônia Maria Cavalcante de Oliveira<sup>2</sup> (PQ), Teresa Cristina Raposo Löwen<sup>2</sup> (PQ) [\\*cassella@vm.uff.br](mailto:cassella@vm.uff.br)

1 – Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, UFF, Niterói/RJ, 24020-141, Brasil

2 – Instituto Vital Brazil S/A, Niterói, RJ - Brasil

Palavras Chave: soros hiperimunes, proteínas, NIR, calibração multivariada

## Introdução

Os soros hiperimunes são produtos de origem biológica classificados junto às vacinas como produtos imunobiológicos. Eles são utilizados no tratamento de doenças por conterem as imunoglobulinas ou anticorpos necessários para combater uma intoxicação ou uma determinada doença, ou ainda evitar a doença (no caso de soros antirábicos). A produção de soros hiperimunes ainda é baseada nos métodos originalmente descritos no início do século passado, em que animais de grande porte (geralmente eqüinos) são imunizados com os antígenos e, após algumas semanas, a sangria é efetuada e o soro é purificado.<sup>1</sup> Um parâmetro importante no controle de qualidade destes medicamentos é a concentração de proteínas, que não deve exceder 15 g% (p/v).<sup>2</sup> Neste trabalho foi desenvolvida uma metodologia para a determinação de proteínas totais em amostras de soros antirábicos, antitetânicos e antiofídicos utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e calibração multivariada. O método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) foi usado para correlacionar a concentração de proteínas com os dados espectrais, assim como vários pré-tratamentos dos dados e seleção de variáveis foram testados otimizar o modelo de calibração.

## Resultados e Discussão

As determinações das concentrações de referência de proteínas foram realizadas empregando-se um proteinômetro BAUSCH LOMB. espectros de absorvância no infravermelho próximo de 36 amostras de soros hiperimunes foram obtidos empregando-se um espectrofotômetro FEMTO NIR 900PLS. Os espectros foram obtidos em triplicata, na faixa de 1100 a 2500 nm, com resolução nominal de 1 nm. Para obtenção dos modelos via PLS e para realização de pré-tratamentos nos espectros foi empregado o programa The Unscrambler 9.5. O algoritmo Kennard-Stone desenvolvido em Matlab 6.5 foi empregado para selecionar 20 amostras para o conjunto de calibração e 16 amostras para o conjunto de validação externa. Foram testados três métodos de seleção de variáveis em conjunto e

separadamente, sendo eles: avaliação de gráficos de coeficiente de regressão, método dos mínimos quadrados parciais por intervalo (iPLS) e algoritmo genético. Os dois primeiros métodos de seleção foram realizados no programa The Unscrambler 9.5 e o terceiro no Matlab 6.5. O algoritmo genético foi aplicado nas seguintes condições: população de 30 indivíduos, 100 gerações, cruzamento de 50% e mutação de 1%.

Espectros tratados com primeira derivada seguida de alisamento Savitzky-Golay (polinômio de segunda ordem) não resultaram em modelos com melhor desempenho.

O melhor resultado foi encontrado com os dados autoescalados e utilizando-se iPLS seguido da seleção das variáveis que apresentavam os mais altos coeficientes de regressão. A Figura 1 apresenta as correlações entre dados de calibração, validação cruzada (leave-one-out) e validação externa empregando o melhor modelo obtido.

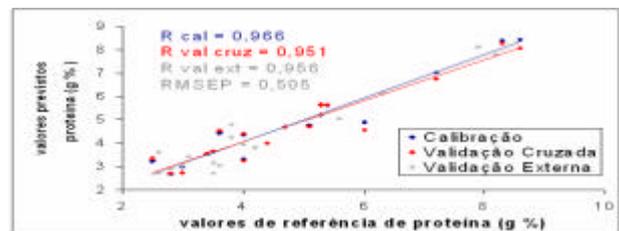


Figura 1. Gráfico de calibração, validação cruzada e validação externa do modelo que apresentou o melhor desempenho.

## Conclusões

Este trabalho apresenta uma alternativa rápida, barata e não destrutiva para determinação de proteínas no controle de qualidade de soros hiperimunes.

## Agradecimentos

FAPERJ, Instituto Vital Brazil S/A, CNPq

<sup>1</sup> Cardoso, J.L.C.; França, F.O.S.; Wen, F.H.; Málaque, C.M.S.; Haddad JR., V.; *Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes*, São Paulo: Savier/Fapesp, 2003, 367.

<sup>2</sup> RDC 199, 12-06-2002, Agência Nacional de Vigilância Sanitária