

## Estimativa de Figuras de Mérito para a Determinação de *trans*-Resveratrol em Plasma Humano usando Adição-Padrão de 2ª Ordem

Cristina D. Bernardes<sup>1,2</sup> (PG)\*, Ronei J. Poppi<sup>3</sup> (PQ) e Marcelo M. Sena<sup>1,2</sup> (PQ),  
cristinadbernardes@yahoo.com.br

<sup>1</sup> Mestrado em Ciências Moleculares, Universidade Estadual de Goiás, BR 153, Km 98, Anápolis /GO, 75001-970

<sup>2</sup> Depto. de Química, ICEx, UFMG, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte/MG, 31270-901

<sup>3</sup> Laboratório de Quimiometria em Química Analítica - LAQQA, IQ, UNICAMP, Campinas/SP, 13084-971

Palavras Chave: validação analítica, espectrofluorimetria, PARAFAC, calibração de ordem superior.

### Introdução

Este trabalho buscou validar um método desenvolvido pelos próprios autores para a determinação direta de *trans*-resveratrol (RVT) em plasma humano usando calibração de 2ª ordem. A estratégia desse método combinou o uso do modelo quimiométrico PARAFAC, para separar o sinal do analito do sinal dos interferentes, com o método da adição-padrão, para a quantificação na presença de um forte efeito de matriz. Os métodos analíticos baseados em calibração multivariada são relativamente recentes e a sua aceitação pelas agências reguladoras ainda é restrita. Um requisito essencial para a futura aceitação é a validação dos mesmos, que consiste em atestar sua eficiência para a função a qual ele se destina e pode ser obtida pela determinação de figuras de mérito (FOM, *Figures of Merit*). No caso de métodos de calibração multidimensionais (2ª ordem), a situação é mais complicada, pois o modo de estimar as FOM é ainda objeto de debate na literatura.<sup>1</sup> Para o método em questão serão estimadas, além da exatidão e da precisão, as figuras de mérito sensibilidade (SEN), seletividade (SEL), sensibilidade analítica ( $\gamma$ ), limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

### Resultados e Discussão

A SEN corresponde à fração do sinal que é acrescida quando a concentração da espécie de interesse tem seu valor elevado em uma unidade. A SEL é uma medida, variando entre 0 e 1, do grau de sobreposição entre o sinal da espécie de interesse e o sinal dos interferentes presentes na amostra, indicando quanto do sinal é perdido por essa sobreposição. A  $\gamma$  apresenta de forma clara a sensibilidade do método em função da unidade de concentração que é utilizada. O inverso da sensibilidade analítica ( $\gamma^{-1}$ ) é uma estimativa da diferença de concentração mínima que é discernível pelo método analítico considerando o ruído experimental como única fonte de erro. O LQ é a menor quantidade da espécie de interesse que pode ser quantificada (com precisão e exatidão adequadas). O LD é a menor quantidade da espécie de interesse que pode ser detectada pelo método analítico sob as condições experimentais

estabelecidas. É importante ressaltar que quando se emprega adição-padrão de segunda ordem, como neste trabalho, as figuras de mérito SEN, SEL,  $\gamma$ , LD e LQ são específicas para cada amostra e não podem ser calculadas para o método como um todo. Para dados de 2ª ordem, diferentes formas de calcular estas últimas FOM foram propostas na literatura.<sup>1</sup> Este trabalho optou pela proposta considerada mais adequada, de Olivieri & Faber.<sup>2</sup>

**Tabela 1.** FOM estimadas para o método proposto, aplicado em triplicatas de 5 amostras de plasma

| FOM                        | #1                   | #2                   | #3                   | #4                   | #5                   |
|----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| [RVT] <sup>a</sup>         | 0,10                 | 0,50                 | 1,00                 | 2,00                 | 5,00                 |
| recuperação (%)            | 110,0                | 98,0                 | 106,0                | 95,5                 | 107,4                |
| SEN <sup>a</sup>           | 1450                 | 316                  | 1050                 | 632                  | 182                  |
| SEL                        | 0,15                 | 0,08                 | 0,08                 | 0,11                 | 0,05                 |
| $\gamma^a$                 | 1,9<br>$\times 10^3$ | 4,1<br>$\times 10^2$ | 1,4<br>$\times 10^3$ | 8,2<br>$\times 10^2$ | 2,4<br>$\times 10^3$ |
| $\gamma^{-1}$ <sup>b</sup> | 0,001                | 0,002                | 0,002                | 0,003                | 0,011                |
| LD <sup>a</sup>            | 0,005                | 0,024                | 0,007                | 0,012                | 0,042                |
| LQ <sup>a</sup>            | 0,002                | 0,008                | 0,002                | 0,004                | 0,013                |

<sup>a</sup> Valores em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . <sup>b</sup> Valores em  $\text{mL } \mu\text{g}^{-1}$ .

Os valores estimados de LD e LQ mostram que o método atendeu aos requisitos para aplicação em análises clínicas. A precisão foi avaliada no nível de repetibilidade e a precisão média, para o método como um todo, foi estimada em 8,1 %.

### Conclusões

Foram obtidos bons resultados para a faixa de [RVT] entre 0,10 e 5,00  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , com erros de no máximo 10,0 %. Os valores estimados para as figuras de mérito apresentaram grande variação de amostra para amostra, demonstrando a presença de um forte efeito de matriz e justificando o emprego da adição-padrão.

### Agradecimentos

CDB agradece ao programa CAPES/PROCAD.

<sup>1</sup> Valderrama, P.; Braga, J.W.B. e Poppi, R.J. *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1278.

<sup>2</sup> Olivieri, A.C. e Faber, N.M. *J. Chemom.* **2005**, *19*, 583.