

Planejamento experimental para otimização de metodologia de análise de cerúmen

Ana Luiza R. R. da Cunha* (PG), Anselmo E. Oliveira (PQ), Nelson Roberto Antoniosi Filho (PQ)

analuzarrcunha@gmail.com*

Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus II – Samambaia, Goiânia, GO, 74690-900, Brasil

Palavras Chave: DoE, Volatolômica, PCO.

INTRODUÇÃO

Substâncias voláteis têm grande importância na história da vida na Terra. Enquanto feromônios atraem parceiros e proporcionam alimentos, compostos voláteis sulfurados alertam para os perigos de consumir alimentos estragados. Quando o olfato do homem era mais apurado, até mesmo a escolha de parceiros era bastante influenciada por substâncias de alta pressão de vapor. Na atualidade os compostos orgânicos voláteis (VOCs) têm ganhado nova importância, principalmente no diagnóstico de doenças metabólicas, como é o caso do diabetes que se caracteriza pelo hálito cetônico. Até mesmo o câncer pode ser diagnosticado pela análise de voláteis quando se usa as matrizes biológicas adequadas e técnicas como a volatolômica. Assim, a volatolômica estuda como a alteração dos VOCs se relaciona com as alterações provocadas por doenças, agentes químicos, poluição ambiental, entre outros. As principais biomatrizes usadas em estudos volatolômicos são suor, urina e sangue, mas o cerúmen tem demonstrado grande potencial para o estudo do metabolismo animal.

Apesar do potencial que o cerúmen apresenta como biomatriz em estudos volatolômicos, essa matriz apresenta limitações quanto ao método de análise. Já no que diz respeito à otimização em estudos metabolômicos, o emprego da abordagem de Design de Experimentos – DoE - ainda é muito limitada, dada a complexidade inerente da composição química das matrizes biológicas estudadas, bem como dos métodos de análise [1]. Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo utilizar a abordagem DoE para avaliar os fatores significativos na extração dos VOCs presentes no cerúmen via *headspace* e análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (HS/GC-MS), utilizando um planejamento fatorial completo 2⁴.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse trabalho foi avaliada a influência de 4 fatores na extração e análise dos metabólitos presentes no cerúmen humano via HS/GC-MS. Os fatores estudados, avaliados em dois níveis cada, foram: massa (5 e 15 mg), tempo de amostragem (0,1 e 0,3 min), tempo de extração (30 e 60 min) e temperatura de extração (160 e 180°C). Já as análises estatísticas foram realizadas no software R versão 4.2.0. A resposta aqui empregada foi a quantidade de picos em cada condição avaliada. Além disso, cada pico cromatográfico foi alinhado com relação ao seu tempo de retenção e m/z principal, gerando uma lista dos VOCs analisados para cada

condição experimental. Todos os fatores experimentais, exceto o tempo de extração, foram significativos considerando o p-valor < 0,01. A massa de amostra e temperatura de extração foram os fatores mais significativos para os efeitos principais (Figura 1).

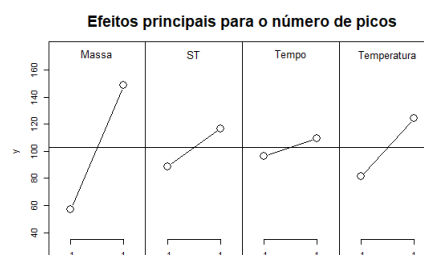


Figura 1: Efeitos principais na extração e análise de cerúme

Além disso, a Análise de Coordenadas Principais - PCO foi realizada usando dados binários de presença ou ausência dos picos, sendo que a semelhança entre as condições experimentais foi avaliada pela distância de Jaccard. Assim determinou-se que a massa é o fator que mais discriminou as amostras (Figura 2).

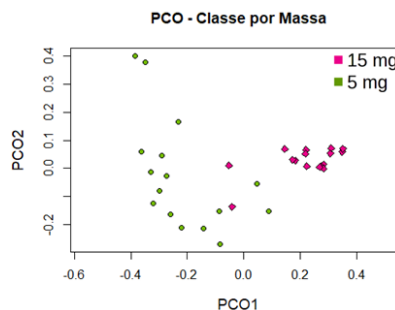


Figura 2: PCO para o planejamento fatorial completo.

CONCLUSÕES

Através desse estudo foi possível identificar os fatores significativos para a análise dos metabólitos presentes no cerúmen humano. A PCO indicou que o perfil químico dos analitos está relacionado com os fatores estudados, principalmente com relação à massa. Assim conclui-se que a abordagem DoE permitiu a identificação dos fatores significativos na análise em questão, e, portanto, o aumento da massa, tempo de amostragem e temperatura de extração promovem a melhor desorção dos analitos presentes no cerúmen.

AGRADECIMENTOS

CAPES, ANP, LAMES, UFG

[1] Julia Jacyna, Marta Kordalewska, Michał J. Markuszewski, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2019, 164, 598-606.