

O ENFOQUE DA METROLOGIA QUÍMICA EM ANÁLISES TOXICOLÓGICAS NA ATIVIDADE TURFÍSTICA: VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA EM MATRIZES BIOLÓGICAS.

India Maria H. de Lima

Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro, 22431-000 Rio de Janeiro - RJ, Brasil

Maurício N. Frota*

Departamento de Pós-Graduação em Metrologia para Qualidade e Inovação, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 22453-900 Rio de Janeiro - RJ, Brasil

Como evidência de que a amostra E representa uma “amostra de branco” (portanto isenta de cafeína), o espectro de massas da Amostra E no tempo de retenção associado à substância cafeína foi comparado com dados de referência da Biblioteca da “Association of Official Racing Chemists (AORC)”, que claramente confirmou ausência de íons m/z característicos da cafeína nessa amostra, conforme ilustrado na Figura 1S.

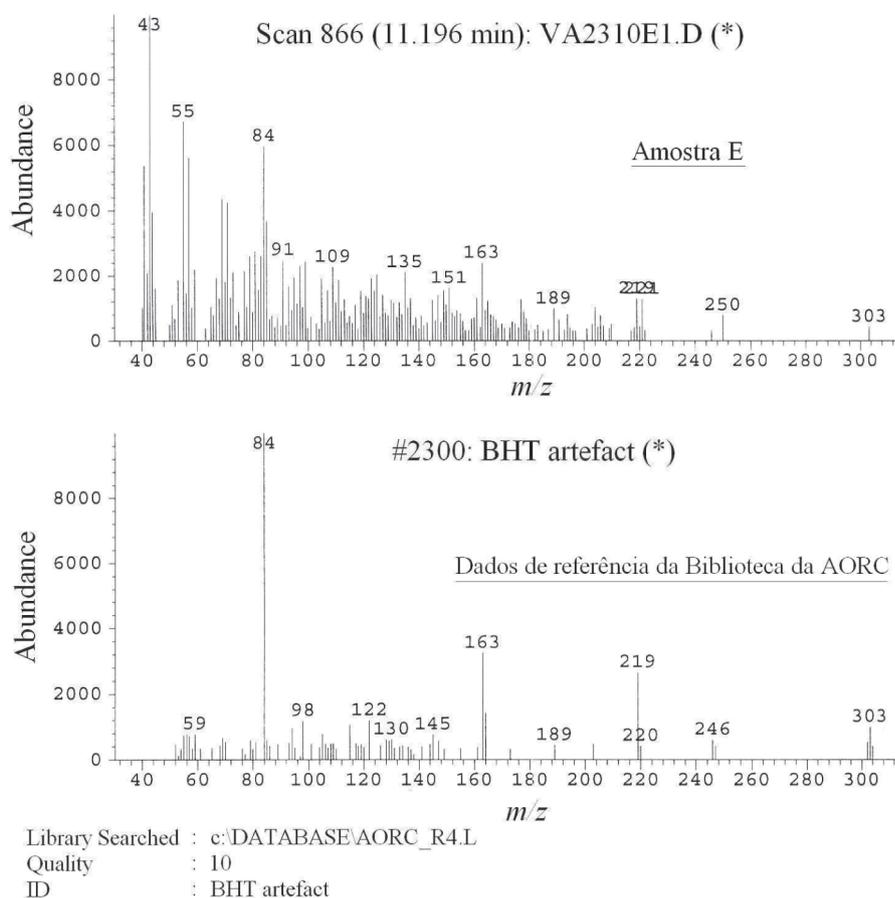


Figura 1S. Espectro de massas relativo à amostra E e sua comparação com dados de referência da base de dados da Biblioteca da Association of Official Racing Chemists (AORC)

Os dados da Tabela 1S confirmam a validação para o parâmetro “exatidão”, mostrando grau de exatidão superior a 77% para todas as concentrações estudadas.

Tabela 1S. Síntese dos resultados dos valores da exatidão.

Concentração (ng/mL)	“Valor obtido” (resposta cromatográfica do íon m/z 194)	“Valor real” (resposta cromatográfica do íon m/z 194)	Exatidão %
Branco ⁺	109867 a.i.	0	-
6	487792 a.i.	591870 a.i.	82
8	676300 a.i.	840451 a.i.	80
12	1016304 a.i.	1316557 a.i.	77
18	1561100 a.i.	1825573 a.i.	85
24	2268996 a.i.	2563160 a.i.	88

⁺ “branco de urina”, concentração igual a 0 ng de cafeína/mL de urina. “a.i.”: uma medida da intensidade de abundância (“abundance intensity”).

Os dados da Tabela 2S fundamentam a validação pelo parâmetro “reprodutibilidade”, realizada nos dias 1 e 2 de análises discutidos no trabalho. Para as concentrações estudadas, documenta os valores das razões (duas a duas) entre as respostas cromatográficas dos três íons característicos da cafeína (m/z 194/109; 194/67 e 109/67) bem como os respectivos componentes da “incerteza padrão” (tipo A), estimados com base na propagação da soma quadrática do desvio-padrão relativo associado às respostas cromatográficas de cada íon.

Tabela 2S. Média das razões entre os íons m/z 194, 109 e 67 e incertezas padrão associadas devido ao desvio padrão relativo (dias 1 e 2)

Concentrações (ng/mL)	Dia 1 (Analista 1)			Dia 2 (Analista 2)		
	Média ± Incerteza da razão m/z 194/109	Média ± Incerteza da razão m/z 194/67	Média ± Incerteza da razão m/z 109/67	Média ± Incerteza da razão m/z 194/109	Média ± Incerteza da razão m/z 194/67	Média ± Incerteza da razão m/z 109/67
	6	2,03±0,22	2,41±0,48	1,19±0,26	1,94±0,10	2,41±0,24
8	2,15±0,11	2,75±0,44	1,28±0,19	1,96±0,17	2,54±0,17	1,29±0,08
12	2,06±0,35	2,85±0,43	1,38±0,37	2,10±0,13	2,53±0,33	1,21±0,15
18	2,05±0,18	2,78±0,17	1,35±0,10	2,01±0,32	2,68±0,40	1,33±0,21
24	2,08±0,46	2,81±0,73	1,35±0,35	2,01±0,16	2,72±0,24	1,35±0,13

Fundamentando a conclusão de que o método mostrou-se robusto para a faixa de pH investigada, a Tabela 3S apresenta os valores médios (de nove réplicas) das respostas cromatográficas do íon m/z 194 e da razão m/z 194/109 (íons mais característicos da cafeína), indicando suas respectivas incertezas padrão, para os diferentes valores de pH e nas cinco concentrações investigadas.

Tabela 3S. Média da resposta cromatográfica do íon m/z 194 e da razão entre os íons m/z 194, 109 e respectivos componentes das incertezas padrão associadas, na faixa ($9,2 \leq \text{pH} \leq 10$), nas concentrações de 6, 8, 12, 18 e 24 ng de cafeína por mL de urina

Concentração (ng/mL)	pH	Média da resposta cromatográfica ± incerteza	
		íon m/z 194	razão m/z 194/109
6	9,2	536 618 ± 5%	1,66 ± 9%
8	9,2 ≤ pH ≤ 10	731 148 ± 1%	1,82 ± 10%
12	9,2 ≤ pH ≤ 10	1067939 ± 5%	1,85 ± 7%
18	9,2 ≤ pH ≤ 10	1491569 ± 15%	1,79 ± 22%
24	10,0	2133654 ± 8%	1,96 ± 11%

Não obstante o processo universalmente aceito de validação de métodos analíticos com base nos parâmetros analíticos discutidos no presente trabalho, cada vez mais, a participação em ensaios de proficiência tem sido recomendada¹⁴ como confirmação desse processo de validação. A Figura 2S ilustra o certificado de Participação do LAD/JCB em Programa oficial de Comparação Interlaboratorial coordenado pela Association of Official Racing Chemists (AORC).



Association of Official Racing Chemists

This Document Certifies that

Anti-Doping Laboratory, Jockey Club Brasileiro

has participated in the **2005** Proficiency Testing Program,

and has successfully isolated and identified the required number of unknown specimens in accordance with the Association's requirements.

Signature
Chairman, Proficiency Testing Committee

Signature
President, AORC

AORC

Figura 2S. Participação do LAD/JCB em Programa oficial de Comparação Interlaboratorial