

ESPECTROFOTOMETRIA, ESSENCIAL PARA ANÁLISES CLÍNICAS

Benedito Yago Machado Portela¹; Erivaldo Marcos da Silva Marques¹; Jaqueline Moreira da Silva¹; Maria Zildanir Carlos Freitas¹; Regiane Lima Mendonça¹; Maria Patrícia Ivo de Alencar¹; Danielle Rabelo Costa²

¹Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Católica de Quixadá;

²Especialista em Engenharia Ambiental e Saneamento Básico ; Mestranda em Educação FCU;

Docente do curso de Biomedicina do Centro Universitário Católica de Quixadá;

E-mail: daniellerabelo@fcrs.edu.br

RESUMO

A espectrofotometria é um procedimento analítico através do qual se determina as concentrações de amostras químicas mediante a absorção de luz. Uma solução quando iluminada por luz branca, apresenta uma cor que é resultante da absorção relativa dos vários comprimentos de onda que a compõem. Esta absorção, em cada comprimento de onda, depende da natureza da substância, de sua concentração e da espessura da mesma que é atravessada pela luz. A espectrofotometria é amplamente utilizada nas análises clínicas para a determinação de biomoléculas das quais permitem chegar a um diagnóstico clínico. Depois das evoluções do espectrofotômetro, o procedimento trouxe o diagnóstico mais consistente e assertivo, possibilitando assim um encaminhamento terapêutico eficaz. Neste presente trabalho trata-se de uma revisão de literatura baseada em artigos científicos e livros didáticos, onde o objetivo é relatar a importância do procedimento de espectrofotometria nas análises clínicas. No procedimento da técnica de espectrofotometria é: a luz emitida passa através das cubetas, onde se encontra a amostra a ser analisada, as medições são feitas seguindo a ordem branco-amostras. Essa intensidade de luz que atravessou as amostras é medida, nos permitindo saber os valores de absorbância calculados pelo detector, que é um instrumento sensível à radiação e servirá para refletir uma medida da mesma intensidade. A partir desse trabalho, foi possível concluir veementemente que a espectrofotometria é crucial para as análises clínicas, pois auxilia no diagnóstico de diversas patologias.

Palavras-chave: Luz. Diagnostico de Patologia. Biomoléculas.

INTRODUÇÃO

A espectrofotometria pode ser definida como toda técnica analítica que usa a luz para medir as concentrações das soluções, através da interação da luz com a matéria, os estudos sobre essa técnica se iniciaram no século XVII, com o início dos estudos sobre a luz, e culminaram com a invenção do espectroscópio em 1859, esse método utiliza o espectrofotômetro, que foi inventado em 1940, pelo químico americano Arnold O. Beckman (1900 - 2004) e seus colegas dos Laboratórios de Tecnologias Nacionais, na empresa Beckman Coulter Inc., fundada em 1935. O líder do projeto foi o engenheiro americano Howard Cary (1908 - 1991). O espectrofotômetro foi a maior descoberta da empresa. Antes de 1940, o processo de análise química era muito longo e trabalhoso levando semanas para ser concluído, com uma precisão de apenas 25%, de acordo com o MIT (Instituto de Tecnologia de Massachusetts). Em 1940, quando o Espectrofotômetro DU foi introduzido, o processo ficou bem mais simples e rápido, necessitando de apenas alguns minutos para a análise. De acordo com a mesma fonte, a precisão desse instrumento era de 99,99%. A partir de então, esse espectrofotômetro se tornou o instrumento padrão para análises químicas, onde o resultado é quase instantâneo (HALLIDAY, *et al.* 2009).

Durante muitos anos esse aparelho sofreu algumas mudanças por problemas que surgiam, em 1981, a empresa Cecil Instruments produziu um espectrofotômetro controlado por um microprocessador, tornando-o um dispositivo automatizado e mais rápido. Entre 1984 e 1985, foram desenvolvidas versões de espectrofotômetros de duplo feixe. Com a década de 1990, veio a adição de softwares externos, controlados pelo computador, que exibiam na tela os espectros resultantes (SKOOG, *et al.* 1998).

Por meio do uso de técnicas físico-químicas, as análises clínicas foram beneficiadas enormemente com os métodos quantitativos de análises que utilizam, por exemplo, a espectrofotometria (CISTERNAS, *et al.* 2005). Por meio da espectrofotometria aplicada às análises clínicas diretrizes da área médica foram sendo estabelecidas e delineadas para a condução de um diagnóstico mais consistente e assertivo, possibilitando assim um encaminhamento terapêutico eficaz.

O presente estudo tem por objetivo discorrer a respeito dos fundamentos da técnica de espectrofotometria e sua aplicação nas análises clínicas, ressaltando sua importância.

METODOLOGIA

Foi realizada pesquisa do tipo revisão bibliográfica envolvendo a utilização do estudo de artigos científicos, realizada através das seguintes bases de dados: Google acadêmico, MEDLINE (Literatura Internacional em Ciências da Saúde), LILACS (Literatura Latino americana em Ciências da Saúde), SCIELO (Scientific Electronic Library Online) e outros sites especializados. Além dos artigos envolvidos na pesquisa, também foram utilizados livros didáticos, enfocando na técnica de espectrofotometria empregada nas análises clínicas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espectrofotometria é a técnica que nos concede verificar a quantia de luz que foi absorvida por uma solução, após termos expostos a um feixe de luz monocromática. De forma geral, a espectrofotometria se constitui em: uma fonte de radiação, que pode ser uma lâmpada incandescente, a amostra e um detector. É na fonte de radiação que deve haver um modo de controle e seleção do comprimento de onda que deve incidir na amostra, o que é feito por meio de filtros ou monocromatizadores (prismas ou grades de difração). O prisma separa esse feixe de luz monocromática em seus diferentes comprimentos de onda (como ocorre em um arco-íris, por exemplo, em que se tem a separação da luz branca em seus diferentes comprimentos de onda – coloridos) e nos permite saber a quantidade de luz absorvida pela solução correspondente a cada comprimento de onda. A amostra deve estar contida em um recipiente típico denominado cuvette ou cubeta. Já o detector é um instrumento sensível à radiação e servirá para refletir uma medida da intensidade da mesma, por meio da conversão do sinal percebido em um valor numérico (PETKOWICZ, *et al.*, 2007).

O resultado alcançado em uma análise pela espectrofotometria é o conjunto das absorvâncias correspondentes aos vários comprimentos de onda, o que se denomina espectro de absorção. Esse espectro varia de substância para substância ou de solução para solução, já que depende de características inerentes às mesmas. Assim, por exemplo, no caso de uma substância ou solução de cor verde, a luz verde será refletida e não absorvida pela substância, que tende a absorver apenas comprimentos de onda correspondentes ao vermelho.

Assim, como as diferentes substâncias apresentam diferentes padrões de absorção, a espectrofotometria aplica-se à identificação das substâncias baseada em seu espectro de absorção. Além disso, por meio da espectrofotometria é possível também quantificar a

Mostra Científica em Biomedicina, Volume 1, Número 01, Jun. 2016

substância, uma vez que a quantidade de luz absorvida por ela está diretamente relacionada à sua concentração.

Dessa maneira resumidamente, no procedimento da técnica de espectrofotometria é: A luz emitida passa através das cubetas: as medições são feitas seguindo a ordem branco-amostras. Essa intensidade de luz que atravessou as amostras é medida, nos permitindo saber os valores de absorvância (MARZZOCO; TORRES, 1999).

Para realizar a quantificação espectrofotométrica de uma substância em solução é preciso antes construir a chamada curva padrão, que nos permite descobrir a constante de proporcionalidade de absorção do método colorimétrico. Assim, para construir tal curva, prepara-se uma série de soluções com um composto de concentração conhecida, como a albumina, por exemplo, que é uma proteína plasmática que tem função de transportar diversas biomoléculas, como por exemplo, cálcio, hormônios entre outras (RHOADES E TANNER, 2005, p. 601). Segundo CISTERNAS *et al.*, (2005, p.16), a albumina possui a propriedade de se ligar a certos corantes, os quais mudam de cor ligados a ela, em meio tamponado. O verde de bromocresol, em pH 4.2, apresenta cor amarela e quando combinado à albumina adquire coloração verde, cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de albumina existente na amostra. Os valores normais são de 3,8 a 5,1 g/dL e a leitura espectrofotométrica é feita entre 600 a 650 nm. Utilizamos o método colorimétrico elegido e realizamos a medição das absorvâncias em um dado comprimento de onda. Segundo DE OLIVEIRA, (2012), outros exames são analisados utilizando a técnica de espectrofotometria, são eles: Determinação de Lipídios Totais, Determinação de Colesterol Total, Determinação de Uréia, Determinação de Ácido Úrico, Determinação de Amônia, Determinação do Cálcio, Determinação do Fósforo, Determinação de Magnésio, Determinação da Fosfatase Ácida, Determinação da Fosfatase Alcalina, Determinação de Ferro Sérico e Determinação de Bilirrubina.

CONCLUSÕES

Portanto, conclui-se que a espectrofotometria tornou-se fundamental para a determinação de diagnósticos laboratoriais. Neste contexto, inúmeras doenças puderam ser diagnosticadas pelo uso dessa técnica, possibilitando também compreender melhor a fisiopatologia dessas enfermidades, sendo então aplicada nas análises clínicas para diagnósticos de diabetes, lipidemias, colesterolemias, proteinúrias e produtos nitrogenados

Mostra Científica em Biomedicina, Volume 1, Número 01, Jun. 2016

como ácido úrico, uréia e amônia, enzimas como amilase, lipase, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, lactato desidrogenas entre outras, além de íons como cálcio, sódio e potássio. A rotina laboratorial de espectrofotometria possibilitou o desenvolvimento e o aprimoramento de métodos de determinação de biomoléculas, o que levou as indústrias químicas e farmacêuticas à elaboração de kits comerciais variados de boa especificidade e sensibilidade.

REFERÊNCIAS

CISTERNAS, J.R.; VARGAS, J.; MONTE, O. **Fundamentos de Bioquímica Experimental**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

DE OLIVEIRA, Marcus Paiva. APLICAÇÕES DE ESTUDOS BIOQUÍMICOS QUANTITATIVOS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE. **RENEFARA**, v. 2, n. 2, p. 99-127, 2012.

GARCIA, M.A.T.; KANAAN, S. **Bioquímica Clínica**. São Paulo: Editora Atheneu, Universidade Federal Fluminense, 2008.

GORDON, D.B. **Spectroscopic Techniques**. in Principles and Techniques in Practical Biochemistry. K. Cambridge: Cambridge University Press, 1996.

HALLIDAY, DAVID; WALKER, JEARL; RESNICK, ROBERT. **Fundamentos de Física: Óptica e Física Moderna**. Vol. 4. ed. LTC. 8ª ed., 2009.

HIRANO, Z.M.B.; SILVA FILHO, H.H.; MULLER, G.C.K.; SCHMIDT, S.R. **Bioquímica – manual prático**. Blumenau: EDIFURB, 2001.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica Básica**. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

MOTTA, V.T. **Bioquímica Clínica para Laboratório – princípios e interpretações**. 5ª edição. Rio de Janeiro: MedBook, 2009.

PETKOWICZ, C.L. **Bioquímica: aulas práticas**. 7ª edição. Curitiba: Editora UFPR, 2007.

RHOADES, R.A.; TANNER, G.A. **Fisiologia Médica**. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

SKOOG, DOUGLAS A.; HOLLER, F. JAMES; CROUCH, STANLEY. **Principles of instrumental analysis**. ed. Thomson. 6ªed., 1998.