

Teorias e Métodos da **BIOFÍSICA**

Sabrina Passoni Maravieski
(Organizadora)

 **Atena**
Editora
Ano 2019

Sabrina Passoni Maravieski
(Organizadora)

Teorias e Métodos da Biofísica

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

T314 Teorias e métodos da biofísica [recurso eletrônico] / Organizadora
Sabrina Passoni Maravieski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora,
2019.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-189-3

DOI 10.22533/at.ed.893191403

1. Biofísica. I. Maravieski, Sabrina Passoni.

CDD 571.4

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “Teorias e Métodos da Biofísica” faz parte de uma série de livros publicados pela Atena Editora, e neste volume único, em seus 12 capítulos, apresenta uma diversidade de estudos realizados nas diversas áreas da biofísica, bem como relação com outras áreas que esta exige nos dias atuais.

A biofísica é uma ciência interdisciplinar na qual se emprega as teorias, os métodos ou técnicas específicas da física para resolver questões biológicas. Atualmente, com o avanço tecnológico a biofísica está presente na maioria das ciências da saúde, tais como: Medicina, Fonoaudiologia, Odontologia, Enfermagem, Terapia Ocupacional, Fisioterapia, Bioengenharia e Biomedicina. Na área de Ecologia, temos também a biofísica Ambiental. Algumas especializações em biofísica podem ser ainda multidisciplinares, como por exemplo: a Bioinformática, a Biologia Estrutural, Toxicologia Ambiental e Biologia de Sistemas.

Dessa forma, o leitor poderá encontrar nesta obra, uma variedade pesquisas cujas áreas que envolvem a biofísica estão interligadas nas quais muitos pesquisadores buscam por soluções emergentes. A interdisciplinaridade entre estas diversas áreas aqui citadas é um processo natural e inevitável, pois a formação dos profissionais das ciências da saúde ou biológicas, seja qual for a sua formação, necessita da relação entre diversas áreas do conhecimento.

Hoje o profissional se destaca pela capacidade de saber inovar e alcançar resultados positivos em suas pesquisas com base nas diversas ciências, utilizando uma ou mais tecnologias. Isso se faz possível se este profissional tiver conhecimento das demais áreas, pois não basta ser bom em uma única ciência, é preciso ser multi-intelectual.

Nesta obra, portanto, o leitor poderá encontrar parcerias estabelecidas entre diversas áreas do conhecimento de diversos departamentos de pesquisa: Engenharia Elétrica e de Computação, Semicondutores, Biocalorimetria, Bioquímica Médica, Nanotecnologia e Nanomedicina, Bioquímica e Biofísica, Farmácia, Química do Estado Sólido, Ciências Médica, Clínica Médica (Nefrologia), Radioterapia, Histologia e Embriologia, Biofísica e Radiobiologia, Morfologia e Fisiologia Animal, Nanociências e Materiais Avançados.

Logo, este volume é dedicado à interdisciplinaridade nas diversas áreas das Ciências da Saúde e Biológica, pois o mercado atual exige uma revolução tecnológica e cabe a aos pesquisadores, dessas diversas áreas, buscar conhecer as demandas atuais para promover essas inovações de forma interdisciplinar, e não isoladamente. Neste sentido, esta obra foi dividida em 6 áreas temáticas da Biofísica: Bioeletricidade, Bioestatística, Biomecânica, Biofísica Ambiental, Biomedicina, e Radiobiologia.

Na área de Bioeletricidade, composta apenas de um capítulo (capítulo1), apresentamos uma pesquisa realizada entre os cursos de Engenharias de Computação e Elétrica e o curso de Ciências Médicas, em que envolve os Departamentos de Química de Estado Sólido, Semicondutores, Instrumentos e Fotônica e o de Clínica Médica

(Nefrologia). Trata-se da investigação do nível de fósforo no sangue, em que, quando este apresenta-se acima do normal está associado a casos de óbitos de pacientes renais crônicos. Para isto os autores propõem o desenvolvimento de um transistor de efeito de campo sensível a íons (ISFET) que possa ser utilizado para quantificar a massa de fósforo no dialisato total final extraída durante o processo de hemodiálise.

Na área de Bioestatística, apresentamos dois capítulos. No capítulo 2, a pesquisa foi desenvolvida pelos Departamentos de Morfologia e Fisiologia em conjunto com o Departamento de Biofísica e Radiobiologia de uma Faculdade Rural. Na pesquisa foi utilizando o método da complexidade de Lempel-Ziv (CLZ), o qual permite calcular a complexidade de uma série temporal sem a necessidade de longos segmentos de dados. Este método, estatístico é baseado em dinâmica não linear e costumam ser são amplamente empregado na análise e descrição adequada de processos nas áreas de química, física e biologia. Neste, o método foi desenvolvido com o objetivo de determinar a complexidade de sequências finitas na análise do particionamento do polietilenoglicol no nanoporo unitário de alfa-hemolisina inserido em uma bicamada lipídica plana. O objetivo foi investigar o processo de chegada e permanência da molécula polimérica (analito) no nanoporo (biossensor). No capítulo 3, os pesquisadores avaliaram diferentes espectrômetros utilizados em análises clínicas e laboratórios de pesquisa os quais permitem determinar as concentrações de espécimes químicas diversas. Por considerarem a aplicabilidade destes dispositivos importante no quesito qualidade dos resultados fornecidos, os autores apresentam técnicas de estatística e os métodos de obtenção de indicadores de qualidade, por meio da realização de experimentos laboratoriais utilizando espectrofotômetros.

O capítulo 4, inserido na área temática de Biomecânica, trata-se de uma pesquisa onde a Oftalmologia e a Estética Funcional, estão intimamente ligadas aos fenômenos de transferência de massa estudados na Física. Neste, os autores mostraram como a falha da transferência de massa intraocular, por convecção forçada, pode afeta o movimento oculomotor e provoca diversas enfermidades, tais como: erro de refração, ceratocone, glaucoma de ângulo aberto ou fechado. Sugerindo por fim, a necessidade do SUS incluir, em seus procedimentos, a cirurgia corretiva de elevação de sobrancelhas, assim como a ANS regulamentar esta cirurgia em todos os planos de saúde.

Na área temática de Biofísica Ambiental, pesquisadores do Laboratório de Nanociências e Materiais Avançados realizaram estudos por meio da técnica de espectroscopia UV-visível com o intuito de promover uma formação interdisciplinar entre alunos de Pós-Graduação. Nesse sentido, os autores desenvolveram estratégias experimentais que permitem aos estudantes dominarem o uso da técnica de espectroscopia UV-visível para análises qualitativas e quantitativas com uso de um corante altamente conhecido e de larga aplicação como é o azul de metileno (capítulo 5). No capítulo 6, pesquisadores realizaram um levantamento do número de veículos na cidade de Recife para verificação da poluição atmosférica. Para eles, a poluição

atmosférica é comprovadamente um agente causador e de piora do quadro de diversas doenças, entre elas doenças respiratórias, câncer de pulmão, acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio. No capítulo 7, pesquisadores do Departamento de Biofísica e Radiobiologia utilizaram o ensaio cometa em hemócitos do molusco de água doce *Biomphalaria glabrata*, é um bioindicador natural utilizados para a detecção de possíveis danos no DNA após a exposição ao MMS e para avaliar a potencial aplicação para monitoramento da genotoxicidade do ambiente de água doce.

Na área temática de Biomedicina, o leitor poderá aprofundar seus estudos em três capítulos. No capítulo 8, os autores do Departamento de Histologia e Embriologia, analisaram e avaliaram a atividade leishmanicida *in vitro* do extrato etanólico do *Allium sativum* L. frente às formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Na área de Bioquímica Médica no Laboratório de Biocalorimetria (capítulo 9), pesquisadores realizaram estudos de uma importante enzima a L-asparaginase, a qual é amplamente utilizada no tratamento da leucemia. Tendo em vista a importância de seu uso, surgiu a necessidade de buscar alternativas para reduzir seus efeitos adversos e aumentar sua estabilidade. Assim a pesquisa resultou na obtenção de nanopartículas de quitosana de alto peso molecular sem e com ZnCl₂. A alta concentração de quitosana, segundo os autores, permite maior incorporação de fármaco, mas aumenta o tamanho da partícula, o que não é interessante para a liberação intravenosa de fármaco. Já no capítulo 10, os autores analisaram e caracterizaram nanopartículas de quitosana-tripolifosfato (QT-TPP) associadas ao fármaco sumatriptano (SMT) como uma alternativa na terapia de enxaqueca via uso tópico.

A última área temática é a Radiobiologia, composta de dois capítulos promissores para as pesquisas atuais. Essa área vem crescendo em interdisciplinaridade, principalmente devido o crescimento das pesquisas em Medicina Nuclear, em Engenharia Biomédica e das técnicas de obtenção de imagem, as quais sofrem constantes avanços tecnológicos. Com isso, no capítulo 11, os autores investigaram a ação radioprotetora do extrato bruto da casca de *Anadenanthera colubrina* sobre os embriões de *Biomphalaria glabrata* e os resultados obtidos mostraram que o extrato da casca de A. colubrina apresentou uma discreta atividade radioprotetora. E por fim, no capítulo 12, com o intuito de fornecer mais dados sobre os efeitos da radiação ionizante no sistema nervoso central, os pesquisadores avaliaram a atividade elétrica cerebral de ratos expostos à radiação ionizante através do exame de eletrocorticograma (ECoG) e pode-se observar alterações nas ondas cerebrais através do uso de dois métodos matemáticos: a Transformada de Fourier (TF) Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) concluindo que a exposição a essa radiação causa alterações eletrofisiológicas, que incluem diminuição da complexidade e modificações nas ondas cerebrais.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos nas Ciências da Saúde e Biofísica, os agradecimentos dos Organizadores e da Atena Editora.

Por fim, esperamos que este livro possa colaborar e instigar mais estudantes, professores e pesquisadores na constante busca de novas tecnologias promovendo a interdisciplinaridade nas diferentes áreas das Ciências da Saúde e Biofísica.

Sabrina Passoni Maravieski

SUMÁRIO

ÁREA TEMÁTICA BIOELETRICIDADE

CAPÍTULO 1 1

DESENVOLVIMENTO DE TRANSISTOR DE EFEITO DE CAMPO SENSÍVEL A ÍONS (ISFET) PARA QUANTIFICAÇÃO DA MASSA DE FÓSFORO REMOVIDO DE PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS NAS SESSÕES DE HEMODIÁLISE

Sergio Henrique Fernandes

Leandro Tiago Manera

Helder José Ceragioli

Rodrigo Bueno de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.8931914031

ÁREA TEMÁTICA BIOESTATÍSTICA

CAPÍTULO 2 17

COMPLEXIDADE DE LEMPEL-ZIV NA ANÁLISE DO TRANSPORTE DO POLIETILENOGLICOL ATRAVÉS DO NANOPORO DE ALFA-HEMOLISINA

Gesilda Florenço das Neves

Dijanah Cota Machado

Carlos Manuel Machado Carneiro

Luiz Hamiel Almeida Consoni

Cláudio Gabriel Rodrigues

Romildo Albuquerque Nogueira

DOI 10.22533/at.ed.8931914032

CAPÍTULO 3 25

METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DE ESPECTROFOTÔMETROS:ANÁLISE DA DISPERSÃO DAS MEDIDAS

Cleonilde Maria do Nascimento

Carla Luiza Barros Bernardes Borja

Bruno Edberg Alves de Lira

Jabson Herber Profiro de Oliveira

Dijanah Cota Machado

Milton Marcelino Filho

DOI 10.22533/at.ed.8931914033

ÁREA TEMÁTICA BIOMECÂNICA

CAPÍTULO 4 36

MOVIMENTO OCULOMOTOR E ALGUMAS PATOLOGIAS

Humberto Dória Silva

Eduardo Dória Silva

Maria Tamires Dória Silva

Cristiana Pereira Dória

Cristiane Pereira Dória

DOI 10.22533/at.ed.8931914034

CAPÍTULO 5 43

ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL PARA ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA DE ESTADOS AGREGADOS DE CORANTES

Adrienne Marlise Mendes Brito

Hebert Freitas dos Santos

Iseli Lourenço Nantes-Cardoso

DOI 10.22533/at.ed.8931914035

CAPÍTULO 6 60

POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA E POSSÍVEIS EFEITOS À POPULAÇÃO DE RECIFE

Cleonilde Maria do Nascimento

Nicolas Nunes Ferreira

Helotônio Carvalho

Sheilla Andrade de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.8931914036

CAPÍTULO 7 66

UTILIZAÇÃO DO ENSAIO COMETA PARA DETECTAR EFEITO GENOTÓXICO DO METANOSULFONATO DE METILA EM CÉLULAS DE *Biomphalaria glabrata*

Dewson Rocha Pereira

Maíra de Vasconcelos Lima

Willams Nascimento de Siqueira

Gabrielly Christynne Nascimento Sales

Hianna Arely Milca Fagundes Silva

José Luiz Ferreira Sá

Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo

DOI 10.22533/at.ed.8931914037

ÁREA TEMÁTICA BIOMEDICINA

CAPÍTULO 8 73

AValiação DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA *IN VITRO* DO EXTRATO ETANÓLICO OBTIDO DO *Allium sativum* L

Gleyka Daisa de Melo Santos

Erwelly Barros de Oliveira

Paloma Lys de Medeiros

Eliete Cavalcanti da Silva

João Soares Brito da Luz

DOI 10.22533/at.ed.8931914038

CAPÍTULO 9 82

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA DE ALTO PESO MOLECULAR - TRIPOLIFOSFATO PARA CARREAMENTO DE PROTEÍNA

Caroline Dutra Lacerda

Patrícia Severino

Maria Lucia Bianconi

DOI 10.22533/at.ed.8931914039

CAPÍTULO 10 94

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA-TRIPOLIFOSFATO PARA APLICAÇÃO TÓPICA DE FÁRMACOS

Aryane Alves Vigato

Renato Grillo

Leonardo Fernandes Fraceto

Daniele Ribeiro de Araújo

DOI 10.22533/at.ed.89319140310

ÁREA TEMÁTICA RADIOBIOLOGIA

CAPÍTULO 11 109

AÇÃO RADIOPROTETORA DO EXTRATO BRUTO DA CASCA DE *Anadenanthera colubrina* SOBRE OS EMBRIÕES DE *Biomphalaria glabrata*

José Luís Ferreira Sá

Williams Nascimento Siqueira

Hianna Arely Milca Fagundes Silva.

Isabelle Cristinne Ferraz Bezerra

Dewson Rocha Pereira

Larissa Silva de Azevedo Melo

Maíra de Vasconcelos Lima

Luiz Alberto Lira Soares

Márcia Vanusa Silva

Maria Tereza Santos Correia

Ana Maria Mendonça Albuquerque Melo

DOI 10.22533/at.ed.89319140311

CAPÍTULO 12 117

MÉTODOS MATEMÁTICOS DE ANÁLISE DA ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL DE RATOS EXPOSTOS A RADIAÇÃO IONIZANTE

Camilla de Andrade Tenorio Cavalcanti

Isvânia Maria Serafim da Silva Lopes

Leandro Álvaro de Alcântara Aguiar

Alexandre Parísio Barbosa de Oliveira

Jonas Sérgio de Oliveira Filho

Romildo de Albuquerque Nogueira

DOI 10.22533/at.ed.89319140312

SOBRE A ORGANIZADORA..... 126

METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DE ESPECTROFOTÔMETROS: ANÁLISE DA DISPERSÃO DAS MEDIDAS

Cleonilde Maria do Nascimento

Instituto Aggeu Magalhães - Fiocruz, Recife-PE

Carla Luiza Barros Bernardes Borja

Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE

Bruno Edberg Alves de Lira

Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE

Jabson Herber Profiro de Oliveira

Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE

Dijanah Cota Machado

Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE

Milton Marcelino Filho

Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE

RESUMO: A espectrofotometria é um método biofísico que se baseia na relação existente entre a absorção de luz e a concentração de uma substância em solução amplamente utilizado em laboratórios de análises clínicas e laboratórios de pesquisa, pois permite determinar as concentrações de espécimes químicas diversas. Diante da ampla aplicabilidade do espectrofotômetro, é importante haver uma boa capacitação teórico-prática dos usuários, bem como métodos adequados para avaliar os indicadores de qualidade do equipamento, garantindo assim, a obtenção de resultados experimentais ou clínicos satisfatórios. Os parâmetros de validação de métodos analíticos envolvem, entre outros, Especificidade, Sensibilidade, Exatidão e Precisão. Dessa

forma, o objetivo do presente estudo foi fomentar a experiência de alunos com a prática de biofísica, apresentando técnicas de estatística e os métodos de obtenção de indicadores de qualidade, por meio da realização de experimentos laboratoriais utilizando espectrofotômetros. Foram avaliados quatro espectrofotômetros da marca Kasuaki®, modelo IL-226, que são rotineiramente empregados nas aulas práticas da disciplina Física e Biofísica 1 da Universidade Federal de Pernambuco, com a realização de 35 leituras em cada um deles. Os resultados obtidos demonstraram existir uma diferença na exatidão dos equipamentos. Dessa forma sugere-se, como desdobramento deste estudo, a análise dos conceitos de exatidão, sensibilidade e reprodutibilidade.

PALAVRAS-CHAVE: Indicadores de qualidade. Medidas de dispersão. Métodos analíticos. Métodos biofísicos.

ABSTRACT: Spectrophotometry is a biophysical method based on the relationship between the light absorption and the concentration of substance in solution. It is widely used in clinical laboratories and research laboratories, because it allows the determination of the concentration of several chemical specimens. Due to the wide applicability of the spectrophotometer, it is important to have a good theoretical and practical training of the users, as well as

adequate methods to evaluate the quality indicators of the equipment, thus guaranteeing satisfactory experimental or clinical results. The validation parameters of analytical methods involve, among others, Specificity, Sensitivity, Accuracy and Precision. The goal of the present study was to encourage the experience of students with the biophysical methods, presenting statistical techniques and methods of obtaining quality indicators, through laboratory experiments using spectrophotometers. Four spectrophotometers of the Kasuaki®, model IL-226, that are routinely used in the practical classes of the discipline of biophysics of the Federal University of Pernambuco, with 35 readings in each one. The results obtained showed a difference in the accuracy of the equipment. In this way, the analysis of the concepts of accuracy, sensitivity and reproducibility is suggested as the outcome of this study.

KEYWORDS: Quality Indicators. Measures of dispersion. Analytical methods. Biophysical methods.

1 | INTRODUÇÃO

A investigação científica na área das ciências da vida, associada aos conhecimentos da química e da física, permitiu o desenvolvimento de inúmeras técnicas e metodologias analíticas (CISTERNAS; VARGAS; MONTE, 2005). A espectrofotometria está entre estas técnicas e é amplamente utilizada em laboratórios de análises clínicas e laboratórios de pesquisa, principalmente nas investigações bioquímicas, físicas, químicas e farmacológicas (CERRI *et al.*, 2017).

A espectrofotometria, juntamente com a fotolorimetria, é um método biofísico que se baseia na relação existente entre a absorção de luz e a concentração de uma substância em solução, permitindo determinar as concentrações de espécimes químicas diversas, como carboidratos, proteínas, lipídios, colesterol entre outras (HIRANO *et al.*, 2001). No âmbito clínico, a análise quantitativa de biomoléculas presentes nos fluidos biológicos (urina, plasma ou soro) é essencial para a compreensão de disfunções metabólicas desencadeadas por alguma patologia.

Por meio da espectrofotometria, aplicada às análises clínicas, e por outras tecnologias, diretrizes da área médica foram sendo estabelecidas para a condução de um diagnóstico mais consistente e assertivo, possibilitando assim um encaminhamento terapêutico eficaz (CERRI *et al.*, 2017).

Além das inúmeras aplicações nas análises clínicas e na pesquisa científica, a espectrofotometria pode ser também aplicada na área odontológica. O espectrofotômetro está entre os instrumentos mais precisos, úteis e de fácil utilização para mensuração de cor, sendo capaz de fornecer o espectro de emissão de luz dos dentes vitais ou extraídos e dos materiais restauradores (DIESEL, 2011).

A espectrofotometria também é utilizada em diversos setores da indústria, principalmente têxtil, alimentício, químico e farmacêutico, que utilizam em seus produtos e processos os mais variados tipos de corantes. Alguns corantes sintéticos

utilizados em alimentos, como também em medicamentos e cosméticos, apresentam potencial toxicológico e por conta disto se faz necessária a realização de medidas espectrofotométricas para o controle de qualidade de tais compostos (SANTOS *et al.*, 2010). No Brasil, a utilização destes corantes é normatizada pela ANVISA (Agência de Vigilância Sanitária) (BRASIL, 1977).

Diante da ampla aplicabilidade do espectrofotômetro, é importante se ter uma boa capacitação teórico-prática dos usuários, bem como métodos para avaliar os indicadores de qualidade do equipamento, garantindo assim, a obtenção de resultados experimentais ou clínicos satisfatórios.

Alguns parâmetros utilizados na validação de métodos analíticos são: 1) Especificidade, que pode ser definida como a capacidade do método em detectar o analito de interesse na presença de outros componentes; 2) Sensibilidade, entendida como a capacidade do método em distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas; 3) Exatidão, definida como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo analítico; e 4) Precisão, que é o parâmetro que avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra, normalmente expressa como o desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação (CV) de diversas medidas (BRITO, 2003).

Esses parâmetros são de extrema importância para a validação de qualquer método analítico desenvolvido, possibilitando o conhecimento das limitações e da confiabilidade nas medidas realizadas nas análises. Os parâmetros a serem avaliados irão depender do propósito do método. No entanto, a exatidão e a precisão do método constituem parâmetros sempre estudados, independente do seu propósito, exceto para métodos com objetivo apenas qualitativo. Os instrumentos utilizados na medição de volume, temperatura, massa, entre outros, devem apresentar o máximo possível de exatidão e precisão (BRITO, 2003; MUNDO EDUCAÇÃO, 2018).

Assim sendo, o objetivo do presente estudo foi fomentar a experiência de alunos com a prática de biofísica, com as técnicas de estatística e com os métodos de obtenção de indicadores de qualidade, por meio da realização de experimentos laboratoriais utilizando espectrofotômetros, mais especificamente, analisando a dispersão das medidas de absorbância apresentadas por estes equipamentos.

2 | METODOLOGIA

Foram avaliados quatro espectrofotômetros da marca Kasuaki®, modelo IL-226 (Figura 1), rotineiramente empregados nas aulas práticas da disciplina Física e Biofísica 1, ministrada para os cursos das áreas de saúde e biológicas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE. Os números de série de cada equipamento são: 20152166 (equipamento 1); 20152167 (equipamento 2); 20152168 (equipamento 3); e 20152169 (equipamento 4).

Para as medidas de absorvância, foram utilizadas cubetas de vidro e uma solução aquosa do corante vermelho neutro a 0,00125% (p/v). Para calibrar o “zero” de absorvância utilizou-se como “branco” uma cubeta contendo água destilada. Todos os equipamentos foram ligados dez minutos antes de iniciar os testes, tempo requerido para estabilizá-los. Após este tempo, foi selecionado o comprimento de onda de 520 nm nos espectrofotômetros, o qual corresponde ao fotopico da substância utilizada, motivo para sua escolha.



Figura 1: Vista externa do espectrofotômetro, marca Kasuaki®, modelo IL-226.

Fonte: Elaboração dos autores, 2018.

Na tentativa de diminuir o erro das medidas experimentais foi utilizada uma única cubeta para todas as medidas. Em cada medida, adicionava-se 3 mL de vermelho neutro a 0,00125% (p/v) à cubeta e em seguida a colocava no primeiro compartimento do porta-cubeta do primeiro equipamento. Após a leitura, retirava-se a cubeta e a colocava no segundo equipamento, este procedimento se repetia até chegar-se ao quarto equipamento.

Como foi observado que a localização lateral da cubeta no porta-cubeta altera de modo significativo os valores medidos para a absorvância, padronizou-se a posição de inserção da cubeta neste suporte, sendo todas as medidas realizadas com a cubeta posicionada na porção mais à esquerda do porta-cubeta, como pode ser observado na figura 2.

Ao final desta rodada de medidas, desprezava-se a amostra e adicionava-se uma nova amostra à cubeta, repetindo-se o procedimento descrito acima. Para realização de uma adequada análise estatística, foram feitas trinta e cinco medidas de

absorbância em cada um dos equipamentos. Na leitura dos valores de absorbância foram consideradas três casas decimais.

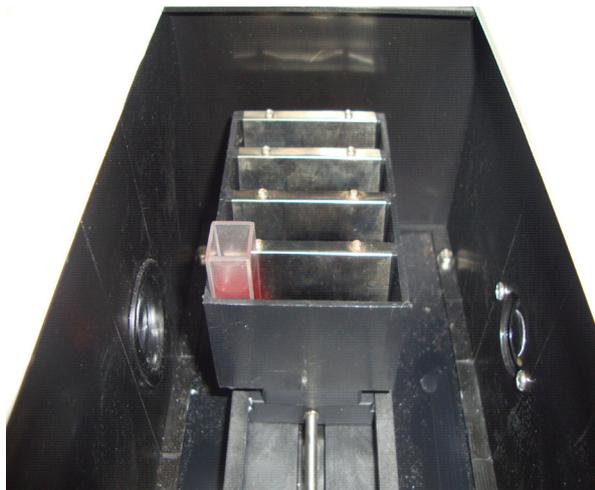


Figura 2: Posicionamento da cubeta no porta-cubeta do equipamento.

Fonte: Elaboração dos autores, 2018.

Os dados obtidos foram inicialmente analisados quanto à normalidade de sua distribuição, utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk (nível de significância de $\alpha=0,05$), e estatística descritiva incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ) e intervalo de confiança da média para as amostras com distribuição normal. Na análise estatística foi utilizado o programa R CRAN v.3.4.2.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar o espalhamento dos dados obtidos foi utilizada a medida de dispersão da absorbância. Destaca-se que dispersão dos dados é um conceito que diz respeito a como e o quanto os dados estão próximos ou distantes entre si.

Nos resultados obtidos foram encontrados quatro *outliers* (medidas atípicas), dois nas medidas realizadas com o equipamento 2 e dois nas medidas com o equipamento 3. Estes foram excluídos do conjunto de dados. Em sequência foram obtidos os resultados de cada equipamento, que serão descritos nos próximos parágrafos.

As medidas obtidas no equipamento 1 tiveram uma mediana de 0,6910. Como evidenciado na figura 3, os dados **não** apresentaram distribuição normal. Fato confirmado através do teste estatístico de Shapiro-Wilk ($p\text{-valor}<0,05$).

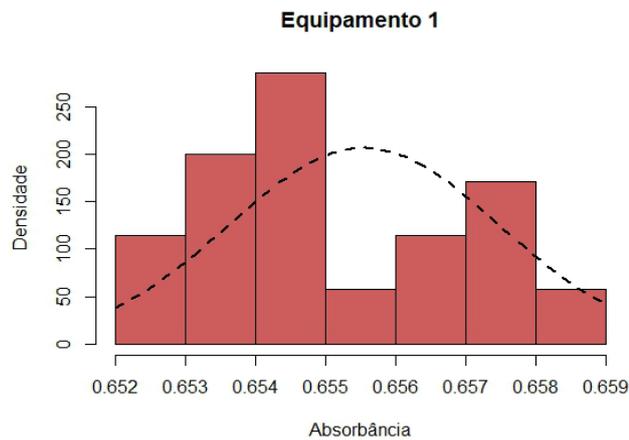


Figura 3: Distribuição de frequência das medidas obtidas com o equipamento 1 (n=35).

Fonte: Elaboração dos autores, 2018.

As medidas obtidas no equipamento 2 tiveram uma mediana de 0,6560. Como evidenciado na figura 4 e comprovado estatisticamente, os dados **não** apresentaram distribuição normal ($p\text{-valor} < 0,05$).

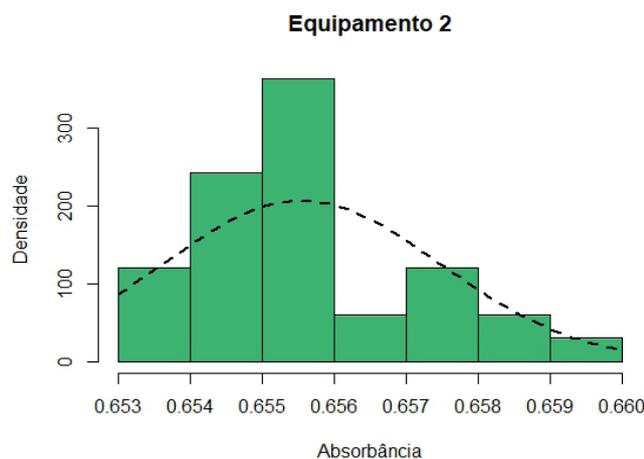


Figura 4: Distribuição de frequência das medidas obtidas com o equipamento 2 (n=33).

Fonte: Elaboração dos autores, 2018.

As medidas obtidas no equipamento 3 tiveram uma mediana de 0,6280. Como evidenciado na figura 5 e comprovado estatisticamente, os dados **apresentaram** distribuição normal ($p\text{-valor} > 0,05$). Com 95% de confiança pode-se afirmar que a média da população de medidas do equipamento 3 encontra-se entre 0,62725 e 0,62819. O valor da média obtido no equipamento 3 foi de 0,627727.

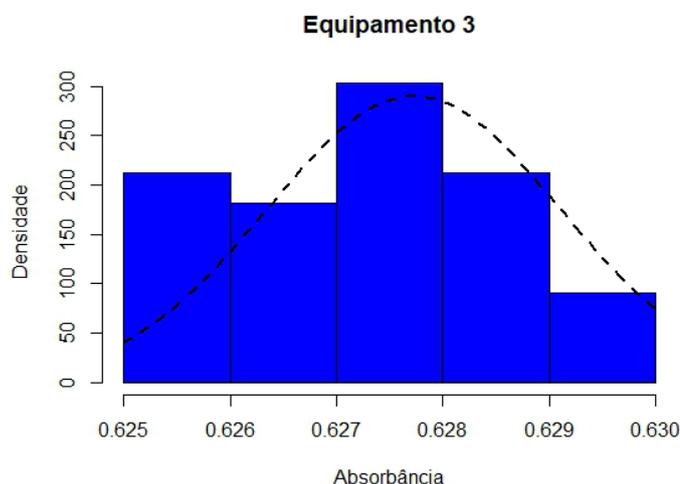


Figura 5: Distribuição de frequência das medidas obtidas com o equipamento 3 (n=33).

Fonte: Elaboração dos autores, 2018.

As medidas obtidas no equipamento 4 tiveram uma mediana de 0,6510. Como evidenciado na figura 6 e comprovado estatisticamente, os dados **apresentaram** distribuição normal ($p\text{-valor} > 0,05$). Com 95% de confiança pode-se afirmar que a média da população de medidas do equipamento 4 encontra-se entre 0,64969 e 0,65115. O valor da média obtido no equipamento 4 foi de 0,650428.

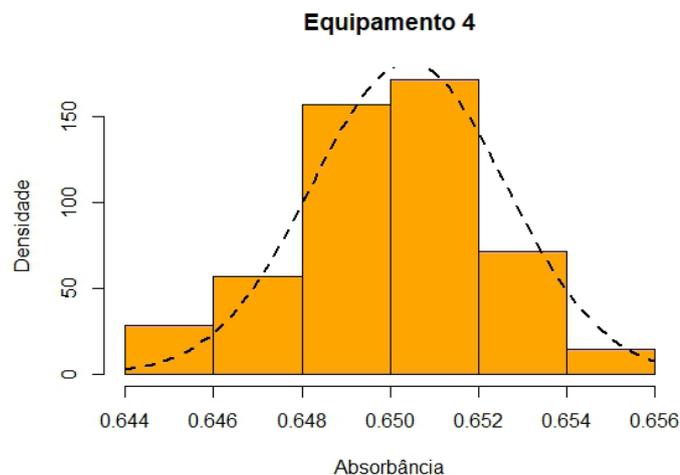


Figura 6: Distribuição de frequência das medidas obtidas com o equipamento 4 (n=35).

Fonte: Elaboração dos autores, 2018.

O quadro 1 mostra um resumo da análise estatística dos dados. Pode-se observar que o intervalo interquartil (IIQ) apresentou uma pequena amplitude, isto aconteceu como consequência da pouca dispersão das medidas.

Equipamentos	n	Mediana	Distribuição normal ?	IIQ
EQ1	35	0,6550	Não	0,003
EQ2	33	0,6560	Não	0,002

EQ3	33	0,6280	Sim	0,002
EQ4	35	0,6510	Sim	0,003

Quadro 1: Análise estatística obtida para cada um dos quatro equipamentos.

Na figura 7 pode-se observar de outra forma o comportamento da dispersão dos dados e suas respectivas medianas, representadas pelas linhas mais escuras nas caixas do gráfico. Com destaque para a semelhança das medianas do equipamento 1 e do equipamento 2 e para uma discrepância da mediana do equipamento 3, em relação aos demais. Ressalta-se também o pequeno grau de dispersão das medidas realizadas pelos quatro equipamentos, como pode ser observado pelos intervalos interquartis.

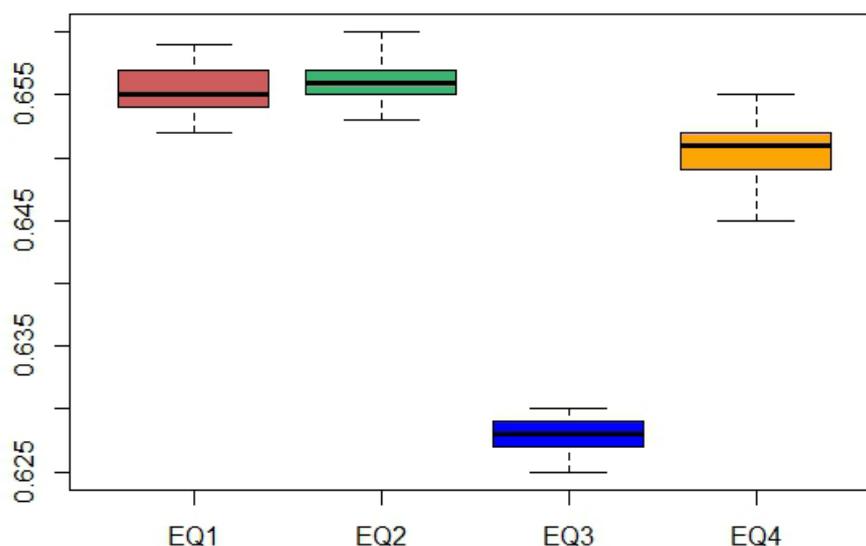


Figura 7: Boxplots comparativos dos dados obtidos com os equipamentos.

Fonte: Elaboração dos autores, 2018.

A literatura em estatística aponta o uso de *boxplot* como uma das alternativas para identificar valores discrepantes (*outliers*) (BARNETT; LEWIS, 1994; SCHWERTMANA; OWENSA; ADNANB, 2004; CARTER; SCHWERTMAN; KISER, 2009; LI *et al.*, 2016), que muito provavelmente são frutos de erros esporádicos nas medições. Na análise dos *boxplots*, as caixas com amplo “corpo” demonstram valores espalhados para as medidas. Estes, quando não controlados, podem vir a influenciar no resultado final de testes estatísticos e conseqüentemente na conclusão da pesquisa.

Uma técnica que pode ser aplicada com o objetivo de complementar a avaliação dos dados é a análise de variância (ANOVA), ou ainda, seu equivalente para quando os dados não possuem distribuição normal, o teste Kruskal-Wallis. Em caso de constatação de diferença estatística em pelo menos um grupo (amostra), deve-se aplicar um pós-teste para identificação do grupo ou dos grupos que diferem dos demais. O ANOVA é uma ferramenta estatística aplicável para comparação de médias quando se há pelo menos três grupos de dados com distribuição normal. Entretanto,

quando há somente medidas de dois grupos e estas possuírem distribuição normal, o teste t para amostras independentes é o indicado para a comparação das médias.

No presente estudo estes testes não foram aplicados pelo fato de existir um considerável número de medidas de mesmo valor (empates), carecendo de outros testes que fogem de seu escopo. Contudo, todas estas ferramentas são recursos úteis para o conhecimento do funcionamento de equipamentos utilizados em pesquisa acadêmica. O contato de alunos de graduação com estes conceitos favorece a familiaridade com estas metodologias.

Entretanto, há necessidade de uma ampliação na análise das medidas realizadas por estes equipamentos, avaliando-se outras características, igualmente importantes, dos equipamentos como a exatidão, a sensibilidade e a reprodutibilidade. Os dados obtidos sugerem existir uma diferença na exatidão dos equipamentos. Assim sugerimos, como desdobramento deste estudo, a análise dos conceitos de exatidão, sensibilidade e reprodutibilidade. Cabe ressaltar que este não consistiu em um objetivo do presente trabalho.

4 | CONCLUSÕES

O presente trabalho representa uma iniciativa positiva no sentido de promover a capacitação dos alunos de graduação da disciplina de Biofísica da UFPE, proporcionando uma avaliação crítica na obtenção de medidas com equipamentos de laboratório.

Os alunos tiveram a oportunidade de constatar, na prática, que os equipamentos apresentaram medidas com pequena dispersão. Entretanto, observou-se a necessidade de investigação da exatidão destes equipamentos.

REFERÊNCIAS

ALVES, J.K.G.; AUED, N.; SOARES, F.Z.M.; JACQUES, L.B.; KAIZER, M.R.; MALLMANN, A. **Avaliação de cor em compósitos com o espectrofotômetro Easyshade**. RFO, Passo Fundo, v. 19, n. 1, p. 101-106, 2014.

BARNETT V.; LEWIS, T. **Outliers in statistical data**. John Wiley, 1994.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos**. Resolução - CNNPA nº 44, 1977.

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. **Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão**. Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, v. 13, jan./dez. 2003

CARTER, N.J.; SCHWERTMAN, N.C.; KISER, T.L. **A comparison of two boxplot methods for detecting univariate outliers which adjust for sample size and asymmetry**. Statistical Methodology, v. 6, p. 604–621, 2009.

CERRI, G.G.; JATENE, F.B.; NOBRE, M.R.; CUCE, BERNARDO, W.M. **Projeto Diretrizes**. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Disponível em <http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/texto_introdutorio.pdf> Acesso em 19 de maio de 2017.

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

DIESEL, P.G. **Avaliação da cor de resinas compostas em meios e tempos de armazenamentos distintos usando dois espectrofotômetros**. 07 de fevereiro de 2011, 61 folhas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria. RS, Brasil, 2011.

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

LI, A.; FENG, M.; LI, Y.; LIU, Z. **Application of Outlier Mining in Insider Identification Based on Boxplot Method**. Procedia Computer Science, v. 91, p. 245-251, 2016.

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

MUNDO EDUCAÇÃO. **Exatidão e Precisão das Medidas**. Disponível em:<<https://mundoeducacao.bol.uol.com.br/quimica/exatidao-precisao-das-medidas.htm>>. Acesso em 16 de novembro de 2018.

SANTOS, M.E.D.; DEMIATE, I.M.; NAGATA, N. **Determinação simultânea de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo em alimentos via espectrofotometria UV-VIS e métodos de calibração multivariada**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, p. 903-909, 2010.

SCHWERTMANA, N.C.; OWENSA, M.A.; ADNANB, R. **A simple more general boxplot method for identifying outliers**. Computational Statistics & Data Analysis, v. 47, p. 165-174, 2004.

APÊNDICE

Tabela com os valores de absorbância medidos nos quatro equipamentos utilizados neste estudo:

	EQ1	EQ2	EQ3	EQ4
1	0,654	0,653	0,626	0,645
2	0,657	0,656	0,627	0,648
3	0,658	0,657	0,629	0,648
4	0,659	0,658	0,629	0,649
5	0,658	0,658	0,628	0,649
6	0,657	0,657	0,629	0,651
7	0,654	0,655	0,626	0,649
8	0,655	0,655	0,627	0,648
9	0,654	0,654	0,627	0,649
10	0,652	0,653	0,625	0,646
11	0,656	0,656	0,629	0,65
12	0,654	0,655	0,627	0,649
13	0,654	0,655	0,627	0,65
14	0,654	0,655	0,626	0,65
15	0,655	0,656	0,626	0,65

16	0,655	0,655	0,628	0,651
17	0,654	0,655	0,628	0,651
18	0,655	0,656	0,628	0,652
19	0,655	0,656	0,627	0,652
20	0,655	0,656	0,629	0,651
21	0,655	0,656	0,628	0,65
22	0,655	0,656	0,628	0,651
23	0,655	0,656	0,629	0,651
24	0,655	0,656	0,629	0,651
25	0,656	0,656	0,63	0,652
26	0,658	0,659	0,628	0,655
27	0,658	0,659	0,626	0,654
28	0,653	0,656	0,625	0,651
29	0,652	0,654	0,63	0,649
30	0,653	0,655	0,628	0,648
31	0,658	0,66	0,628	0,653
32	0,657	0,658	0,628	0,652
33	0,657	0,658	0,63	0,653
34	0,658	-	-	0,653
35	0,659	-	-	0,654

SOBRE A ORGANIZADORA

Sabrina Passoni Maravieski - Possui graduação em Licenciatura em Física e Mestrado em Ciências/ Física, ambos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Atualmente é doutoranda na área de Ensino de Ciências nas Engenharias e Tecnologias pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. É também professora adjunta do Centro de Ensino Superior de Campos Gerais na cidade de Ponta Grossa. Ministra as disciplinas de: Mecânica dos Fluidos, Fenômenos de Transporte, Mecânica Aplicada, Eletricidade e Magnetismo, Física Atômica e Nuclear, Física da Ressonância Magnética Nuclear, Física das Radiações Ionizantes e Não Ionizantes e Física e Instrumentação Aplicada a Engenharia Biomédica; nos cursos de Engenharia Elétrica, Engenharia Civil, Tecnologia em Radiologia, Pós -Graduação em Segurança do Trabalho e Imagenologia. Já atuou como professora de Ensino Médio em escolas pública e particular ministrando aulas de Física e Robótica.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-189-3

