

DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE URINA POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS E PHOTOMETRIX®: UM ESTUDO COMPARATIVO

LUANA FERREIRA DE LIMA¹; MILENE MARQUES FREITAS²;
EDUARDA MOREIRA HARTMANN³; JHULYANA CAMPOS CARDOSO⁴;
CARLA DE ANDRADE HARTWIG⁵; DIOGO LA ROSA NOVO⁶.

¹*Universidade Federal de Pelotas - luanaferreira33@live.com*

²*Universidade Federal de Pelotas - milene.freitas-@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas - eduarda_hartmann@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas - jucampx@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas - carlahartwig@yahoo.com.br*

⁶*Universidade Federal de Pelotas - diogo.la.rosa@hotmail.com*

1. INTRODUÇÃO

O fósforo é um importante mineral essencial para diversas funções vitais no corpo humano; envolvido na síntese de ATP (trifosfato de adenosina), desempenha papéis fundamentais na transdução de sinais celulares, na estrutura das membranas, no metabolismo celular e na regulação de processos intracelulares, sendo encontrado, predominantemente, na forma de fosfato (PO_4^{3-}) no organismo (ITKONEN et al., 2023). Em indivíduos com doença renal crônica (DRC), níveis elevados de fósforo excretado na urina estão associados ao agravamento da função renal e ao aumento do risco de doenças cardiovasculares (SANTAMARÍA et al., 2018). Na literatura, os valores de referência para a concentração de fósforo na urina variam entre 261,5 mg/L e 769 mg/L (GOLD ANALISA, 2022).

A crescente relevância do fósforo como marcador biológico tem impulsionado o desenvolvimento e a aplicação de métodos analíticos voltados para sua quantificação na urina. Dentre as estratégias analíticas para a determinação de fósforo, a mais comumente utilizada é a espectrofotometria na região do ultravioleta e visível (UV-VIS), baseada na formação de um complexo azul entre o fosfato e o molibdato de amônio (MENDONÇA, 2013). Por outro lado, o uso de tecnologias móveis tem ganhado destaque como alternativa aos métodos laboratoriais convencionais, oferecendo soluções mais rápidas, econômicas e aplicáveis. Entre essas inovações está o aplicativo PhotoMetrix®, baseado na captura e interpretação de imagens, em que o usuário prepara a curva de calibração e compara as intensidades da cor baseada na mesma estratégia para as amostras (HELPFER et al., 2017). Na análise univariada com imagens digitais, é possível utilizar o modelo RGB que considera as cores primárias vermelho (R), verde (G) e azul (B), gerando uma curva para cada componente; ou canais múltiplos derivados do RGB, como os modelos HSL (matiz, saturação e leveza), HSV (matiz, saturação e valor) ou HSI (matiz, saturação e intensidade) (HELPFER et al., 2017). Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a determinação de fósforo em urina utilizando o aplicativo PhotoMetrix®.

2. METODOLOGIA

Os reagentes para formar o complexo com o fosfato foram preparados pesando-se 8 g de molibdato de amônio e 0,2 g de tartarato de antimônio e potássio posteriormente diluídos em 1000 mL de água destilada; preparou-se uma solução de ácido sulfúrico dissolvendo 310 mL de H_2SO_4 concentrado em 1000 mL de água

destilada; a solução de ácido ascórbico foi preparada em uma quantidade menor devido à sua vida útil de apenas duas semanas, dissolvendo-se 3 g de ácido ascórbico em 40 mL de água destilada e adicionando-se 0,1 mL de acetona no volume final de 50 mL; e o padrão de fósforo de 100 mg L⁻¹ foi preparado dissolvendo-se 0,0451 g de KH₂PO₄ em 20 mL de água destilada, adicionando-se 0,3 mL de ácido sulfúrico concentrado em um volume final de 100 mL. Para a análise das soluções padrão e das amostras de urina, foram adicionados, em tubos Falcon de 10 mL, 200 µL de ácido sulfúrico (5,5 mol L⁻¹), 800 µL da solução molibdato de amônio ($6,85 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) e tartarato de antimônio e potássio ($3,26 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) e 400 µL de ácido ascórbico (0,34 mol L⁻¹).

As análises foram realizadas utilizando o aplicativo PhotoMetrix® instalado em um smartphone modelo iPhone 14 Plus. As imagens foram capturadas sob luz natural, mantendo-se constantes a posição do aparelho e as condições de iluminação. Para padronização, foi utilizada uma forma de gelo branca sobre fundo branco como suporte. A primeira etapa do procedimento consistiu na calibração do sistema colorimétrico. No aplicativo, foi selecionada a opção “Univariate Analysis”, seguida de “Calibration”, definindo o número de pontos da curva analítica. Em seguida, com o smartphone adequadamente posicionado, foram capturadas as imagens das soluções padrão de fósforo em ordem crescente de concentração: branco, 0,05 mg L⁻¹, 0,075 mg L⁻¹, 0,1 mg L⁻¹, 0,25 mg L⁻¹ e 0,5 mg L⁻¹. O próprio aplicativo processou os dados e gerou os modelos de calibração para os canais de cor analisados. Com a curva construída, foi possível realizar a determinação do teor de fósforo nas amostras de urina. Vale mencionar que as amostras foram coletadas por voluntários residentes em Pelotas–RS, utilizando-se a primeira urina da manhã, com descarte do jato inicial. As amostras permaneceram sob refrigeração até o momento da análise. Todo o procedimento seguiu as diretrizes éticas, com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFPel (parecer nº 6.586.309).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, a determinação de fósforo em urina utilizando a estratégia descrita foi previamente avaliada com a determinação por espectrofotômetro UV/VIS (LIMA, et al., 2024). O pico de absorbância em 890 nm foi utilizado para a determinação de fósforo. A linearidade foi avaliada com soluções padrão de 0,01 mg L⁻¹ a 10 mg L⁻¹. A faixa de trabalho considerada ideal foi de 0,05 mg L⁻¹ a 0,5 mg L⁻¹, a qual apresentou coeficiente linear próximo de 1. A exatidão do método foi verificada por meio de ensaios de diluição e ensaios de recuperação (resultados entre 89% e 91%). Os resultados, considerando curvas de calibração externa e curvas de calibração interna, demonstraram coeficientes lineares e inclinações semelhantes, indicando que a matriz urinária não interferiu significativamente nas análises. Os resultados obtidos foram comparados com os resultados gerados utilizando o aplicativo Photometrix.

Na Figura 1 é apresentado os resultados obtidos para a curva de calibração. A seleção do canal de cor mais adequado foi obtida com base no maior valor do coeficiente linear. O canal S (saturação) foi o que apresentou o melhor ajuste, provavelmente por ser mais sensível às variações de cor causadas pelas diferentes concentrações do analito. Na Figura 1 também é possível observar as cores fornecidas pelo aplicativo para cada padrão. A partir das imagens registradas pelo aplicativo, correspondentes às diferentes concentrações de fósforo, foi possível

construir a curva analítica de calibração. O resultado apresentou boa sensibilidade, com coeficiente linear acima de 0,99.

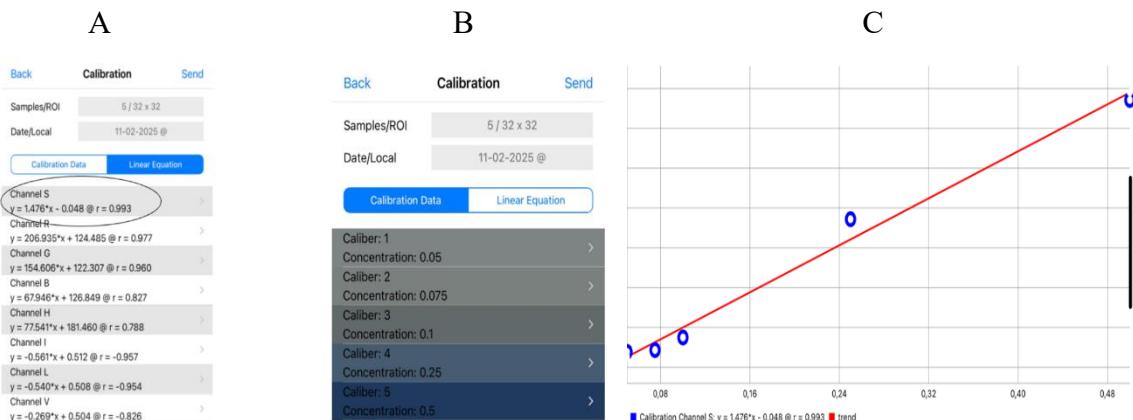


Figura 1. (A) Canal escolhido para gerar a curva de calibração; (B) Cores geradas pelo aplicativo com base na concentração dos padrões e C) Curva de Calibração pelo aplicativo PhotoMetrix®.

Na Figura 2 é ilustrado as imagens obtidas na forma de gelo para as soluções utilizadas na curva de calibração e para as amostras analisadas. Na Figura 2 também é possível observar o registro visual do procedimento de captura das imagens realizadas utilizando o aplicativo.



Figura 2. Imagens obtidas durante o procedimento de captura fotográfica com o aplicativo PhotoMetrix®, mostrando as soluções da curva de calibração e as amostras dispostas em forma de gelo.

Após a seleção da curva de calibração mais adequada utilizando o aplicativo, foi realizada a quantificação de fósforo nas amostras de urina. Com a etapa de captura das imagens finalizada, prosseguiu-se para a análise por meio da opção “Sampling”. A concentração de fósforo foi obtida com base na curva de calibração selecionada e, em seguida, multiplicada pelo fator de diluição de 4000 vezes. A Tabela 1 apresenta os valores obtidos na quantificação do fósforo

utilizando o aplicativo PhotoMetrix® e utilizando a espectrofotometria UV-Vis. Vale mencionar que o estado de saúde dos voluntários não foi avaliado.

Tabela 1. Resultados por espectrofotometria UV-Vis e aplicativo PhotoMetrix® na determinação de fósforo em amostra de urina (média ± desvio padrão, n=3).

Amostra	Concentração (mg L⁻¹)	
	UV-Vis	PhotoMetrix®
1	$1007,8 \pm 11,6$	$765,3 \pm 25,7$
2	$1165,5 \pm 4,4$	$1066,7 \pm 26,6$
3	$1104,0 \pm 7,6$	$717,3 \pm 92,5$
4	$994,6 \pm 21,9$	$1044 \pm 76,0$

4. CONCLUSÕES

O PhotoMetrix® se mostrou uma alternativa viável, acessível e portátil para análises colorimétricas fora do ambiente de laboratório tradicional. Embora pequenas diferenças tenham sido observadas entre os valores obtidos por espectrofotometria UV/Vis e pelo aplicativo, essas variações podem ser atribuídas a fatores como condições de iluminação, resolução da câmera e uniformidade na captura das imagens, que podem influenciar diretamente na leitura da intensidade de cor. Ainda assim, os resultados obtidos com o PhotoMetrix® foram consistentes, reforçando seu potencial na determinação de fósforo em urina. Os autores expressam seus agradecimentos à CAPES, CNPQ e FAPERGS (EDITAL 14/2022 ARD) pelo apoio financeiro para execução do projeto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GOLD ANALISA. **Kit para determinação de fosfato inorgânico por metodologia ultravioleta – Catálogo nº 412.** São Paulo, maio, 2022. Especiais. Acessado em 02 de setembro de 2024. Online. Disponível em <https://www.goldanalisa.com.br/images/upload/f8f629780c736ca24464108bab8ea29a024c44bc46d7cbb60f8522cdb9c1ce33.pdf>
- HELFER, G.A.; MAGNUS, V.S.; BÖCK, F.C., TEICHMANN, A.; FERRÃO, M. F.; COSTA, A. B. da. An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Brasil, v. 28, n. 2, p. 328 – 355, 2017.
- ITKONEN, S. T.; LAMBERG-ALLARDT, C. Phosphorus – a scoping review for Nordic Nutrition Recommendations 2023. **Food & Nutrition Research**, Finlândia, v. 67, p. 10318, 2023.
- MENDONÇA, F. **Avaliação dos métodos colorimétrico e espectrométrico (ICP- OES) na determinação de fósforo total em amostras ambientais.** 2013. 20f. Tese de trabalho de conclusão de curso – Curso Bacharelado em Química, Universidade Federal do ABC.
- SANTAMARÍA, R.; DÍAZ-TOCADOS, J. M.; PENDÓN-RUIZ DE MIER, M. V.; ROBLES, A.; SALMERÓN-RODRÍGUEZ, M. D.; et al. Increased phosphaturia accelerates the decline in renal function: a search for mechanisms. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 13701, 2018.
- LIMA, L. F.; NUNES, T. F. B.; FREITAS, M. M.; HARTWIG, C. A.; NOVO, D. L. R. Determinação de fósforo em amostras de urina por espectrofotometria na região do ultravioleta e visível. In: **XXXIII Congresso de Iniciação Científica, da 10^a Semana Integrada de Inovação, Ensino, Pesquisa e Extensão**, 2024, Pelotas. **Anais 2024**, XXXIII Congresso de Iniciação Científica.