Anais do Congresso Brasileiro de Iniciação Científica
(https://periodicos.unisanta.br/COB)

ISSN 2317-1316

AVALIAÇÃO DO EMPREGO DA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA DETERMINAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS

EVALUATION OF THE USE OF RAMAN SPECTROSCOPY FOR THE DETERMINATION OF TRIGLYCERIDES

Giovana Balducci Elias Leite, Júlia Bianchinni Neves Baraldi, Landulfo Silveira Júnior, Walber Toma, Carlos Eduardo Pires de Campos, Luciana Lopes Guimarães

Universidade Santa Cecília, Faculdade de Ciências da Saúde, Curso de Biomedicina.
Universidade Santa Cecília, Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais.
E-mail para contato: giovana.b.e.leite@gmail.com

Resumo: *Os triglicerídeos são biomarcadores do metabolismo lipídico associados à avaliação do perfil lipídico e do risco cardiovascular. A espectrofotometria é amplamente utilizada para sua quantificação, mas requer reagentes e processamento das amostras. A espectroscopia Raman é uma técnica não destrutiva que dispensa reagentes químicos. Este estudo avaliou seu uso na determinação de triglicerídeos em soro humano, comparando os resultados com a espectrofotometria e o valor estabelecido para o material de concentração conhecida. Três amostras foram analisadas por ambas as técnicas, e um soro comercial foi analisado por Raman. Os resultados permitiram avaliar seu desempenho analítico e potencial como método complementar.*

Palavras-chave: Espectroscopia Raman; Espectrofotometria; Triacilglicerol; Desempenho analítico; Doenças cardiovasculares.

Abstract: *Triglycerides are lipid metabolism biomarkers associated with lipid profile assessment and cardiovascular risk. Spectrophotometry is widely used for their quantification but requires reagents and sample processing. Raman spectroscopy is a non-destructive technique that does not require chemical reagents. This study evaluated its use for triglyceride determination in human serum, comparing the results with spectrophotometry and the established value for the material of known concentration. Three samples were analyzed using both techniques, and a commercial serum was analyzed by Raman spectroscopy. The results allowed the evaluation of its analytical performance and potential as a complementary method.*

Keywords: Raman spectroscopy; Spectrophotometry; Triacylglycerol; Analytical performance; Cardiovascular diseases.

ISSN 2317-1316

1 INTRODUÇÃO

As Doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) são as principais causas de morte e incapacidade, destacando-se as doenças cardiovasculares (DCV) como relevante problema de saúde pública (BARRETO; CARREIRA; MARCON, 2015; MOZAFFARIAN, 2017; CHAVES et al., 2016). Entre os fatores associados ao risco cardiovascular encontram-se alterações metabólicas e condições como síndrome metabólica, diabetes mellitus, hipertensão arterial e insuficiência renal (RAMASAMY, 2016). Nesse contexto, os triglicerídeos (TG) integram a avaliação do perfil lipídico e apresentam relevância na investigação de alterações metabólicas relacionadas ao risco cardiovascular. Valores séricos elevados de TG estão associados a partículas de lipoproteínas remanescentes com potencial aterogênico e podem estar relacionados ao aumento do risco de doenças cardiovasculares (RAMASAMY, 2016).

Os TG são lipídeos constituídos pela esterificação de três ácidos graxos ao glicerol e atuam principalmente no armazenamento de energia. Podem ser obtidos pela alimentação ou sintetizados pelo fígado e são transportados na circulação por lipoproteínas, especialmente quilomícrons e VLDL-C (CHUNXIU et al., 2009; DUAN et al., 2022; AHMED; CLASEN; DONNELLY, 1998). A composição dos ácidos graxos e seu grau de saturação determinam características moleculares que podem ser investigadas por técnicas espectroscópicas. A espectroscopia Raman permite diferenciar classes lipídicas e obter informações relacionadas às características estruturais de ácidos graxos e triacilgliceróis por meio de seus perfis espectrais (CZAMARA et al., 2015). Nesse contexto, a avaliação dos triglicerídeos integra a análise do perfil lipídico e apresenta relevância na investigação de alterações metabólicas associadas ao risco cardiovascular (PINHO et al., 2014).

A determinação laboratorial de TG é realizada principalmente por métodos colorimétricos e espectrofotométricos. A espectrofotometria baseia-se na medida da radiação absorvida pela amostra e, no método empregado neste estudo, a concentração de TG é determinada por uma sequência de reações enzimáticas que culmina na formação de um complexo colorido, cuja intensidade é proporcional à concentração do analito (MAUREIRA, 2013; DANAHER, 2025; EBRAM, 2025).

Sendo assim, a Lei de Lambert-Beer estabelece uma relação entre a absorbância de uma solução e a concentração da espécie absorvente, quando esta é submetida a uma radiação luminosa monocromática colimada, conforme a equação 1 (SPENCER LIMA, 2013):

ISSN 2317-1316

$$A = \varepsilon l c \quad (1)$$

em que:

A é a absorbância;

ε é o coeficiente de absorção molar da espécie em estudo;

l é a distância percorrida pela radiação através da solução; e

c é a concentração molar da espécie em solução.

Embora seja amplamente utilizada, essa metodologia requer reagentes específicos e etapas de processamento da amostra, aspectos que motivam a investigação de abordagens analíticas alternativas (WEI, 2024).

A espectroscopia Raman baseia-se no espalhamento inelástico da luz após a interação da radiação laser com as moléculas da amostra. A diferença de energia entre a radiação incidente e a espalhada está relacionada aos modos vibracionais moleculares, originando um espectro característico (SMITH; DENT, 2005). A técnica apresenta reduzida necessidade de preparação da amostra e não requer reagentes químicos diretamente envolvidos na aquisição espectral, podendo ainda ser empregada de forma não destrutiva (KUDELSKI, 2008). Estudos em matrizes biológicas, incluindo soro, sangue e urina, demonstram aplicações para a caracterização de componentes presentes nessas matrizes (GIANA; SOUZA; SILVEIRA, 2025; QI; BERGER, 2007). Entre os componentes investigados, encontram-se ureia e creatinina (DE ALMEIDA et al., 2016; BISPO et al., 2013), albumina (DINGARI et al., 2012), glicose e lipídeos (SILVEIRA et al., 2017) além de alterações em diferentes condições (RITA et al., 2015).

Estudos específicos também demonstraram a aplicação da técnica na investigação de lipídeos, ácidos graxos e triacilgliceróis, relacionando bandas Raman a características estruturais e ao grau de insaturação (WENG et al., 2003; JAMIESON; LI; FAULDS, 2018; RITA et al., 2016). Silveira et al. (2021), por exemplo, avaliaram 242 amostras de soro para análise de colesterol total, TG, HDL, ureia, creatinina e glicose, utilizando regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), demonstrando a possibilidade de aplicação da espectroscopia Raman na análise desses constituintes, incluindo os TG. Apesar dessas evidências, diferentes matrizes, condições experimentais e estratégias de análise justificam a investigação do comportamento da técnica em condições específicas.

ISSN 2317-1316

Diante disso, este estudo teve como objetivo realizar uma análise comparativa entre a espectroscopia Raman e o método espectrofotométrico na determinação de triglicerídeos em amostras de soro, avaliando o comportamento dos resultados obtidos. Buscou-se determinar a concentração de TG pelo método espectrofotométrico, analisar o perfil espectral associado aos componentes lipídicos por espectroscopia Raman e comparar os resultados obtidos pelas duas metodologias. A investigação também se relaciona à possibilidade de reduzir o uso de reagentes químicos em análises laboratoriais, perspectiva associada à busca por práticas mais sustentáveis na área da saúde.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi caracterizado como analítico, comparativo e *in vitro*, destinado à avaliação do desempenho da espectroscopia Raman na análise de triglicerídeos. Foram utilizadas uma amostra de soro controle com concentração de TG previamente conhecida e três amostras de soro de pacientes, permitindo a comparação entre a espectroscopia Raman e a espectrofotometria, utilizada como método de referência. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Santa Cecília (CAAE: 93170025.1.0000.5513). A pesquisa seguiu todas as recomendações da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e demais documentos normativos de pesquisa com seres humanos. Os participantes da pesquisa foram alunos dos cursos da saúde da Universidade Santa Cecília, de ambos os sexos e com idade igual ou superior a 18 anos; todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e tiveram seus dados identificados por códigos.

Para o desenvolvimento do estudo também foi utilizado um soro calibrador multiparamétrico liofilizado da empresa Bioclin (Belo Horizonte, MG), lote 0062, aqui denominado de “soro controle”, cujo valor atribuído para TG era de 250 mg/dL. A amostra foi aliquotada em cinco tubos contendo 200 µL e mantida a -21 °C até a realização das análises.

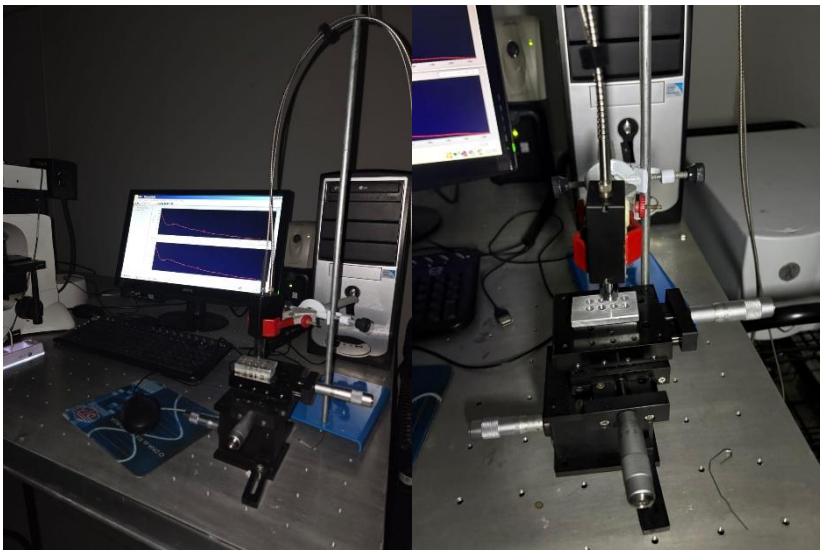
Para a análise espectrofotométricas, foram utilizados 20 µL de cada amostra e kits da empresa Ebram (São Paulo, SP), conforme as especificações do fabricante. O método baseou-se em reação enzimática de ponto final, com relação amostra/reagente de 1:100 e leitura em espectrofotômetro UV-Visível (K37-UVVIS, Kasvi, Pinhais, PR) a 500 nm. A concentração de TG foi calculada a partir da absorbância da amostra, da absorbância do padrão e da

ISSN 2317-1316

concentração conhecida do padrão, sendo a linearidade indicada pelo fabricante de até 800 mg/dL.

As análises por espectroscopia Raman foram realizadas no Laboratório de Diagnóstico Óptico do Centro de Inovação Tecnológica em Saúde, em São José dos Campos – SP. Foram utilizados 80 µL de cada amostra em suporte de alumínio com oito orifícios, em triplicata. Foram analisados o soro comercial, soro de três pacientes e cinco padrões lipídicos: ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolênico e trioleína (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Os espectros foram obtidos em espectrômetro Raman dispersivo (modelo Dimension P-1, Lambda Solutions Inc., MA, EUA), com excitação em 830 nm e potência de 350 mW, na faixa de 400 a 1800 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1}. A aquisição foi realizada com 5 s de exposição e 10 acumulações. A calibração foi realizada com bandas conhecidas do naftaleno (Giansante et al., 2021) (figura 1).

Figura 1. O sistema Raman dispersivo utilizado no estudo



Fonte: Produção Autoral, 2026

Os espectros foram submetidos à filtragem do ruído de alta frequência pelo filtro Savitzky-Golay, correção da resposta em intensidade do espectrômetro e remoção da fluorescência de fundo na região de 400 a 1800 cm^{-1}. Após o processamento, realizou-se análise visual dos perfis espectrais e comparação das bandas observadas com padrões conhecidos e dados da literatura, com ênfase nos sinais associados aos componentes lipídicos e aos triglicerídeos.

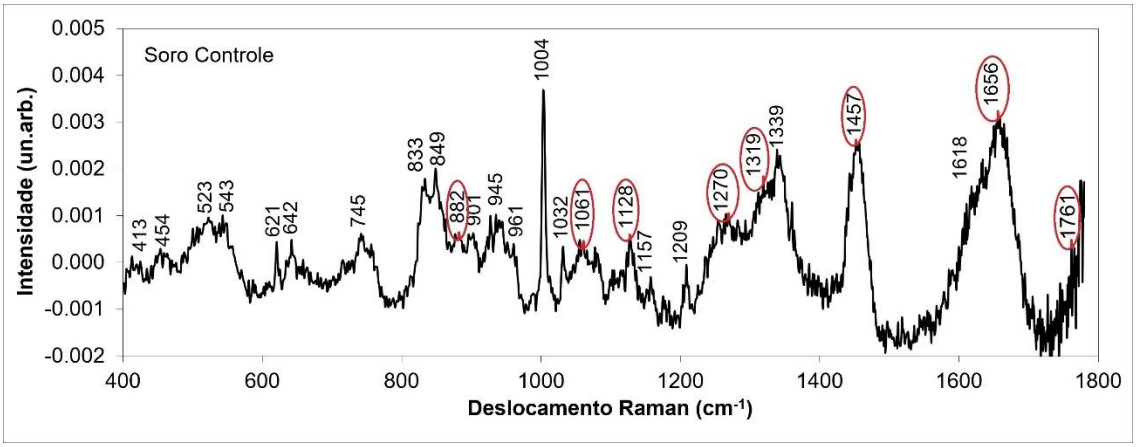
ISSN 2317-1316

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise espectrofotométrica permitiu estabelecer a referência para a concentração de triglicerídeos. Para o soro controle, foi considerado o valor atribuído pelo fabricante de 250 mg/dL . Nas amostras de soro dos três pacientes (pacientes 1, 2 e 3), foram obtidos os seguintes resultados: 95, 105 e 134 mg/dL, respectivamente.

Na figura 2, está representado o espectro Raman do soro controle, plotado e tratado, com os picos mais relevantes em destaque para a interpretação dos espectros Raman das amostras analisadas.

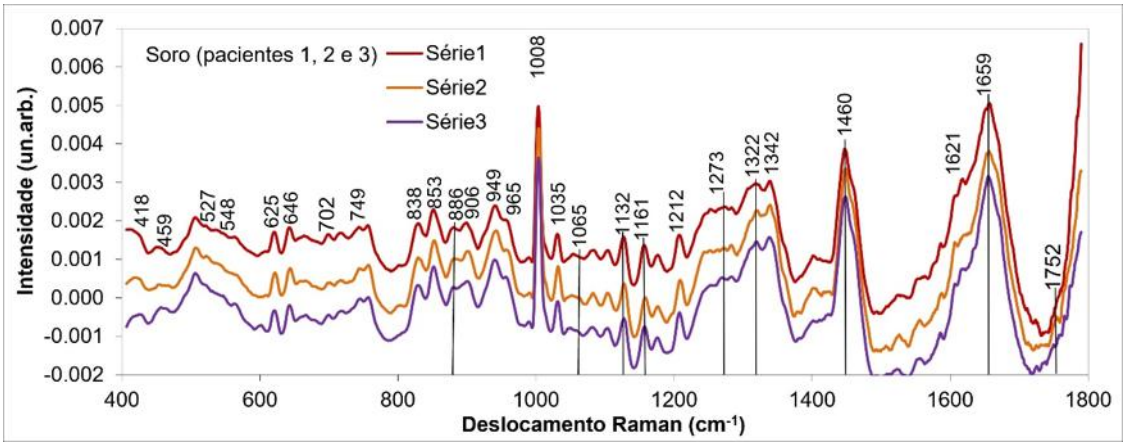
Figura 2 – Espectro Raman do soro controle.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Na figura 3, observa-se os espectros Raman das amostras coletadas de três pacientes, também plotados e tratados, destacando os picos mais relevantes, onde os sinais dos picos de interesse parecem ser proporcionais à concentração de TG nas amostras.

Figura 3 – Espectros Raman das amostras dos soros dos pacientes 1, 2 e 3 (séries 1, 2 e 3, respectivamente).

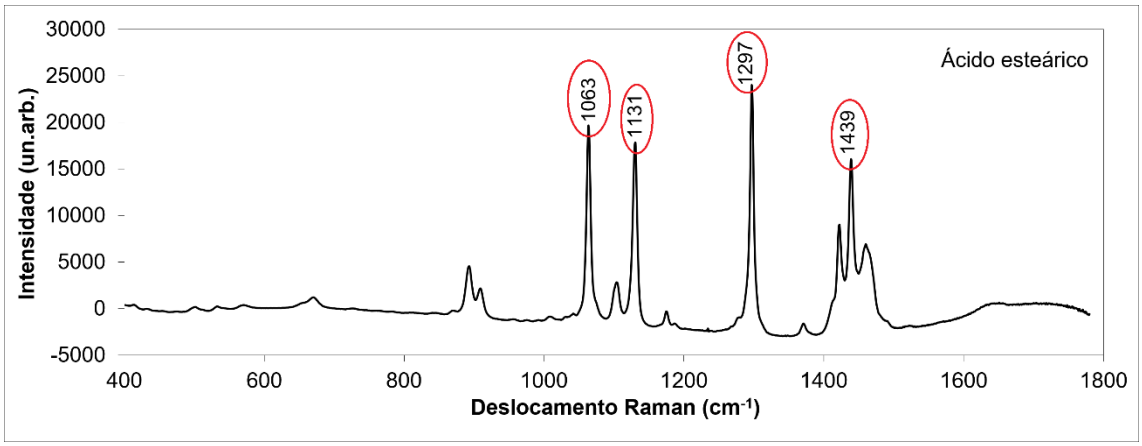


Fonte: Elaborado pela autora (2026).

ISSN 2317-1316

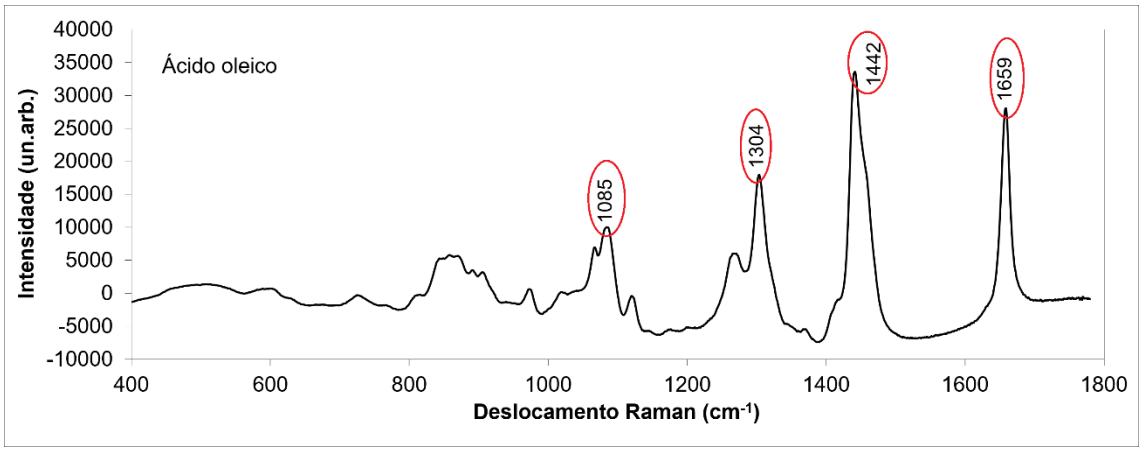
Nas figuras de 4 a 8 estão presentes os espectros dos ácidos graxos padrão analisados anteriormente aos soros.

Figura 4 – Espectro Raman do ácido esteárico.



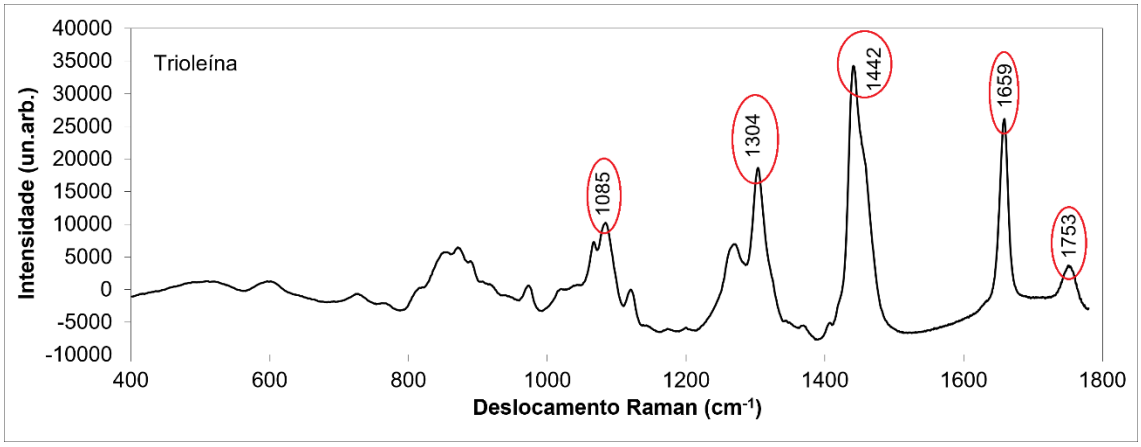
Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Figura 5 – Espectro Raman do ácido oleico.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

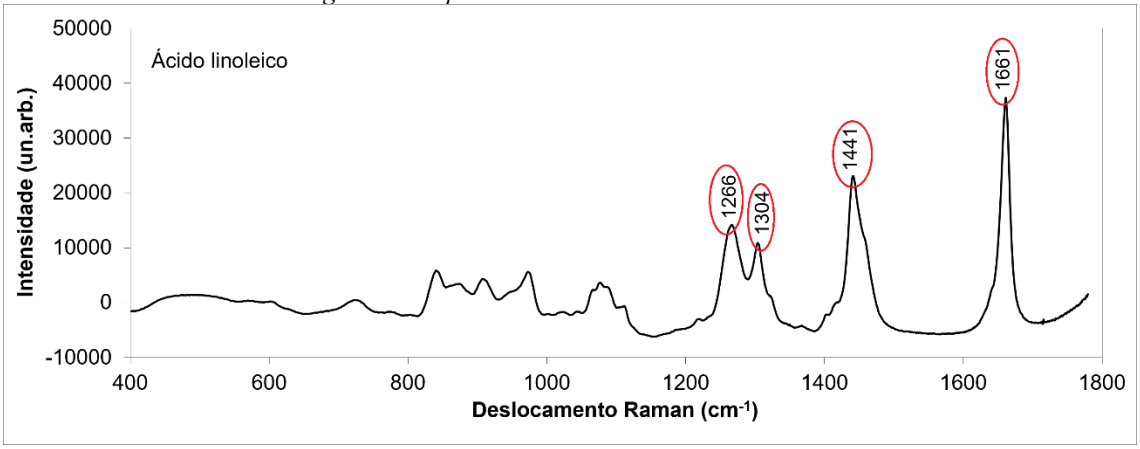
Figura 6 – Espectro Raman da trioleína.



ISSN 2317-1316

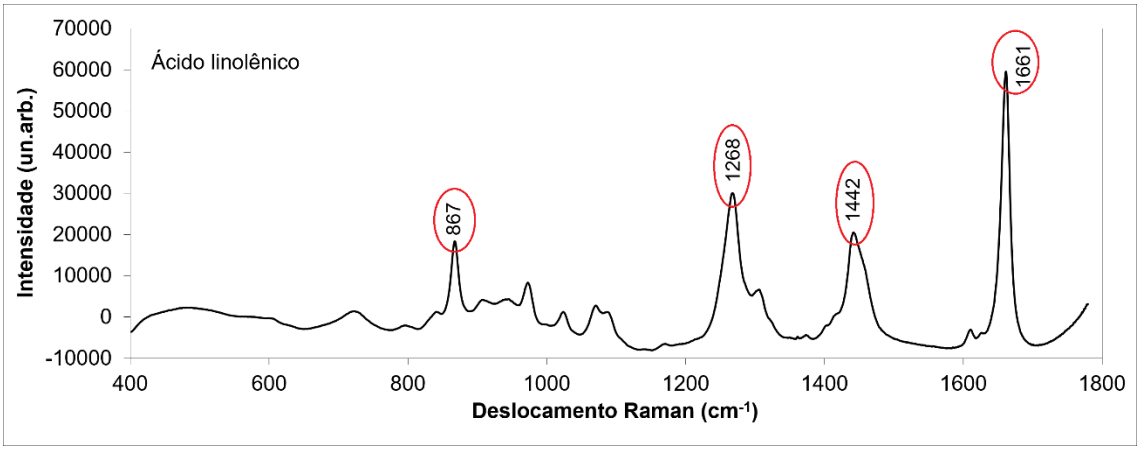
Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Figura 7 – Espectro Raman do ácido linoleico.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Figura 8 – Espectro Raman do ácido linolênico.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Os espectros Raman obtidos para soro controle e para o soro dos pacientes apresentaram bandas compatíveis com características moleculares dos componentes lipídicos investigados por meio dos padrões. No soro controle, o ácido esteárico apresentou correspondências nas regiões de 1061 e 1128 cm^{-1}. Para o ácido oleico, foram observadas correspondências em 1319, 1457 e 1656 cm^{-1}. A trioleína apresentou correspondências em 1319, 1457, 1656 e 1761 cm^{-1}. Para o ácido linoleico, foram observadas correspondências em 1270, 1319 e 1656 cm^{-1}, enquanto o ácido linolênico apresentou correspondências em 882, 1270, 1442 e 1656 cm^{-1}.

Nos soros de pacientes, o ácido esteárico apresentou maiores correspondências em 1065 e 1132 cm^{-1}. Para o ácido oleico, a principal correspondência ocorreu em 1659 cm^{-1}. Para a

ISSN 2317-1316

trioleína, foram observadas correspondências em 1659 e 1752 cm^{-1}. O ácido linoleico apresentou correspondências em 1273 e 1659 cm^{-1}, enquanto o ácido linolênico apresentou correspondências em 1273 e 1659 cm^{-1}.

Os valores de referência foram baseados na tabela 1, que representa os picos das bandas que representam cada ácido graxo e triglicerídeo.

Tabela 1 – Principais bandas Raman dos padrões lipídicos em correspondência aos analisados.

Componente	Principais bandas Raman (cm^{-1})
Ácido esteárico	1063; 1131; 1297; 1439
Ácido oleico	1085; 1304; 1442; 1659
Trioleína	1085; 1304; 1442; 1659; 1753
Ácido linoleico	1266; 1304; 1441; 1661
Ácido linolênico	867; 1268; 1441; 1661

Fonte: Adaptado de Giansante (2021) e Czamara (2014).

A comparação dos espectros com os padrões analisados e com dados descritos na literatura permitiu identificar sinais compatíveis com características estruturais de ácidos graxos e triglicerídeos, indicando que a espectroscopia Raman foi capaz de fornecer informações relacionadas à composição molecular das amostras. Esses resultados são compatíveis com estudos que demonstram a capacidade da técnica de diferenciar componentes lipídicos e investigar constituintes bioquímicos do soro (CZAMARA et al., 2015; SILVEIRA et al., 2021). Entretanto, a identificação de bandas compatíveis com os componentes analisados não permite, isoladamente, determinar sua concentração.

Assim, nas condições experimentais empregadas, a espectroscopia Raman permitiu caracterizar o comportamento espectral das amostras e identificar correspondências com os padrões lipídicos, mas não possibilitou estabelecer quantitativamente a concentração de triglicerídeos. Para uma determinação quantitativa, será necessária uma estratégia de calibração com amostras de concentrações conhecidas e a construção de um modelo quantitativo adequado. Dessa forma, os resultados obtidos representam uma etapa inicial para a investigação da aplicação da técnica na análise de TG em soro.

ISSN 2317-1316

4 CONCLUSÃO

O estudo permitiu investigar a aplicação da espectroscopia Raman na análise de triglicerídeos em amostras de soro, em comparação com o método espectrofotométrico convencional. A espectrofotometria estabeleceu uma referência de concentração, enquanto os espectros Raman apresentaram correspondências com padrões de ácidos graxos e trioleína, indicando potencial da técnica para a investigação dos componentes lipídicos. Nos espectros Raman obtidos das amostras de soro dos pacientes, a intensidade dos picos relacionados com o analito de interesse parece estar relacionada com a concentração de TG nas amostras. Entretanto, considerando as condições experimentais e o número de amostras analisadas, não foi possível estabelecer a concentração de TG por Raman nem propor sua substituição pela espectrofotometria na rotina laboratorial. Em futuros estudos, uma análise com maior número de amostras e diferentes concentrações de TG, poderá permitir a construção de uma estratégia quantitativa e ampliar a avaliação do desempenho da técnica.

Este trabalho contou com o apoio institucional da UNISANTA e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (pela concessão de bolsa de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq), fundamentais para o desenvolvimento e execução desta pesquisa.

5 DECLARAÇÃO DE USO DE IA

Não foram utilizadas ferramentas de IA no desenvolvimento desse artigo.

6 REFERÊNCIAS

AHMED, Syed M.; Clasen, MARK E.; DONNELLY, John F. Management of Dyslipidemia in Adults. American Family Physician logo., [s. l.], 1 maio 1998.

BARRETO, Mayckel da Silva; CARREIRA, Lígia; MARCON, Sonia Silva. Envelhecimento populacional e doenças crônicas: Reflexões sobre os desafios para o Sistema de Saúde Pública. Revista Kairós-Gerontologia, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 325–339, 2015. DOI: 10.23925/2176-901X.2015v18i1p325-339.

BISPO, J. A. M. et al. Correlating the amount of urea, creatinine, and glucose in urine from patients with diabetes mellitus and hypertension with the risk of developing renal lesions by means of Raman spectroscopy and principal component analysis. Journal of Biomedical Optics, v. 18, n. 8, p. 087004, 8 ago. 2013. DOI.1117/1.JBO.18.8.087004.

ISSN 2317-1316

CHAVES, Gabriela S. S. Effects of comprehensive cardiac rehabilitation on functional capacity and cardiovascular risk factors in Brazilians assisted by public health care: protocol for a randomized controlled trial. Brazilian Journal of Physics, [s. l.], dezembro 2016. DOI https://doi.org/10.1590/bjpt-rbf.2014.0192.

CHUNXIU, Hu. Analytical strategies in lipidomics and applications in disease biomarker discovery. Journsl of Chromatography B, [s. l.], 15 set. 2009. DOI https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.01.038.

CZAMARA, Krzysztof et al. Raman spectroscopy of lipids: a review. Journal of Raman Spectroscopy, [s. l.], v. 46, p. 4-22, 1 dez. 2014. DOI https://doi.org/10.1002/jrs.4607.

DANAHER. Spectrophotometry, [s. d.].

DE ALMEIDA, M. L. et al. Estimating the concentration of urea and creatinine in the human serum of normal and dialysis patients through Raman spectroscopy. Lasers in Medical Science, v. 31, n. 7, p. 1415–1423, 8 jul. 2016. DOI /10.1007/s10103-016-2003-y.

DINGARI, N. C. et al. Raman Spectroscopy Provides a Powerful Diagnostic Tool for Accurate Determination of Albumin Glycation. PLoS ONE, v. 7, n. 2, p. e32406, 29 fev. 2012. DOI.1371/journal.pone.0032406.

DUAN, Yajun et al. Regulation of cholesterol homeostasis in health and diseases: from mechanisms to targeted therapeutics. Signal Transduction and Targeted Therapy, [s. l.], 2 ago. 2022. DOI https://doi.org/10.1038/s41392-022-01125-5.

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA. QUIMITRI – Triglicérides: GPO/Peroxidase: instruções de uso. São Paulo: Ebram, 2022. Disponível em: https://ebram.com/wp-content/uploads/2023/07/7014.intuse.pdf.

GIANA, Hector Enrique; SOUZA, Luiza Oliveira; SILVEIRA, Landulfo. Comparison of different Raman spectrometer models in the quantification of blood serum analytes. Lasers in Medical Sciense, [s. l.], 17 mar. 2025. DOI 10.1007/s10103-025-04413-y.

GIANSANTE, Stella et al. Analytical performance of Raman spectroscopy in assaying biochemical components in human serum. Lasers in Medical Science, [s. l.], 5 jan. 2021. DOI https://doi.org/10.1007/s10103-021-03247-8.

JAMIESON, Lauren E et al. Ratiometric analysis using Raman spectroscopy as a powerful predictor of structural properties of fatty acids. Royal Society Open Science, [s. l.], 12 dez. 2018. DOI https://doi.org/10.1098/rsos.181483.

KUDELSKI, A. Analytical applications of Raman spectroscopy. Talanta, v. 76, n. 1, p. 1–8, 30 jun. 2008. DOI 10.1016/j.talanta.2008.02.042.

ISSN 2317-1316

MAUREIRA, Alvaro Cerda. Papel de inibidores da síntese e absorção do colesterol na modulação de biomarcadores de inflamação e adesão celular in vivo e in vitro. 2013. Dissertação (Doutorado em farmácia) - USP, [S. l.], 2013. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-16102013-180455/publico/DOUTORADOALVAROCERDAMAUREIRA.pdf.

MOZAFFARIAN, Dariush. Global Scourge of Cardiovascular Disease: Time for Health Care Systems Reform and Precision Population Health. American College of Cardiology, [s. l.], 4 jul. 2017. DOI https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.05.007.

PINHO, Priscila Matos de et al. Síndrome metabólica e sua relação com escores de risco cardiovascular em adultos com doenças crônicas não transmissíveis. Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica, [s. l.], 2014.

QI, D.; BERGER, A. J. Chemical concentration measurement in blood serum and urine samples using liquid-core optical fiber Raman spectroscopy. Applied Optics, v. 46, n. 10, p. 1726, 13 mar. 2007.

RAMASAMY, Indra. Update on the molecular biology of dyslipidemias. Clinica Chimica Acta, [s. l.], 15 fev. 2016. DOI https://doi-org.ez255.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.cca.2015.10.033.

RITA et al. Detecting alterations of glucose and lipid components in human serum by near-infrared Raman spectroscopy. Research on Biomedical Engineering, v. 31, n. 2, p. 160–168, 1 jun. 2015. DOI 10.1590/2446-4740.0593.

SILVEIRA, L. et al. Quantifying glucose and lipid components in human serum by Raman spectroscopy and multivariate statistics. v. 32, n. 4, p. 787–795, 7 mar. 2017. DOI 10.1007/s10103-017-2173-2.

SMITH, E.; DENT, G. Modern Raman Spectroscopy. [s.l.] John Wiley & Sons, 2005.

SPENCER LIMA, L. Lei de Lambert–Beer. Revista de Ciência Elementar, v. 1, n. 1, 30 dez. 2013. DOI 10.24927/rce2013.047.

WEI, Lynn. Quais são os principais desafios na análise espectrofotométrica?. In: Drawel Artist of Science. [S. l.], 2024. Disponível em: https://pt.drawellanalytical.com/what-are-key-challenges-in-spectrophotometric-analysis/.

WENG, Yih-Ming et al. Structural analysis of triacylglycerols and edible oils by near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy. Applied Spectroscopy, [s. l.], abril 2003. DOI 10.1366/00037020360625952.