National Award

Photophysical Properties of Methylene Blue Applied for the Teaching of UV-Visible Spectroscopy for the Qualitative Analysis in Biochemistry

Propriedades Fotofísicas do Azul de Metileno Aplicadas para o Ensino de Espectroscopia UV-Visível como Ferramenta para Análise Qualitativa em Bioquímica

Adrienne Marlise Mendes Brito^{1*}, Iseli Lourenço Nantes^{2*}

¹ Universidade Federal do ABC - UFABC

* adriannemmb@gmail.com, ilnantes@ufabc.edu.br

Support: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, Núcleo de Bioquímica e Biotecnologia da UFABC – NBB/UFABC and NTE-UFABC.

Abstract

The advent of interdisciplinary baccalaureates brought the need of more diverse applications for Biochemistry, in addition to Biological Sciences. The object of learning (OA) is useful for teaching and learning of concepts about water, supramolecular aggregates of dyes and surfactants, the binding affinity of molecules with charged interfaces and qualitative application of UV-visible spectroscopy. These concepts are approached by representations of a cuvette containing combinations of 3 different concentrations of methylene blue and anionic or cationic surfactants. In the virtual cuvettes are represented: molecular species present in the solution, their states of aggregation, the color and corresponding absorption spectra. The use of OA allows to manipulate the aggregation states and binding dictated by the interface charge and hydrophobicity virtually. A click on the representations opens explanatory text boxes. The concepts worked by OA are useful for different levels of education.

Keywords: qualitative UV-Vis Spectrophotometry; dyes; micelles.

Resumo

O advento dos bacharelados interdisciplinares trouxe a necessidade de aplicações mais diversas para disciplinas como a Bioquímica, além das Ciências Biológicas. O objeto de aprendizagem (OA) facilita o ensino e aprendizagem dos tópicos: água, agregados supramoleculares de corantes e surfactantes, afinidade de ligação de moléculas com interfaces carregadas e aplicação qualitativa da espectroscopia UV-Visível. Para tal, faz representações de uma cubeta contendo combinações de 3 diferentes concentrações de azul de metileno e de surfactantes aniônicos ou catiônicos. Nas cubetas virtuais são representadas: espécies moleculares presentes na solução, seus estados de agregação, coloração e os correspondentes espectros de absorção no visível. O uso do OA permite manipular virtualmente a agregação e interações ditadas pela carga da interface e hidrofobicidade. Um click nas representações abre caixas de texto explicativas. O presente OA é útil para diversos níveis de ensino.

Palavras-chave: espectrofotometria UV-Vis qualitativa; corantes; micelas.

Ficha da atividade

Título	Propriedades Fotofísicas do Azul de Metileno Aplicadas para o Ensino de Espectroscopia UV-Visível como Ferramenta para Análise Qualitativa em Bioquímica
Categoria:	Prêmio Nacional de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular “Bayardo Baptista Torres”: Materiais didáticos ou Prática de Ensino
Tipo de Material	Material didático
Público-alvo:	Estudantes de Bacharelados Interdisciplinares (BIs) e de Bacharelados e Licenciaturas tradicionais tais como Biologia, Química, Medicina e Biomedicina. Pós-graduandos que necessitam aplicar os conceitos de estados de agregação de corantes, interação de moléculas com interfaces carregadas e centro hidrofóbico de micelas, que não estejam familiarizados com esses conceitos e que precisam de uma aprendizagem rápida e objetiva. Para cientistas empreendedores como inspiração para criação de novos sistemas envolvendo esses conceitos.
Conteúdos abordados	Formação de agregados supramoleculares de corante e de moléculas anfifílicas (micelas), concentração micelar crítica, afinidade de ligação com interfaces carregadas e hidrofobicidade analisados por espectroscopia UV-Vis.
Objetivos educacionais	<p>1 - Entender as relações entre a estrutura e propriedades da água;</p> <p>2- Entender a formação de agregados supramoleculares de moléculas de baixa constante dielétrica e de surfactantes em meio aquoso.</p> <p>3 – Entender a relação entre o estado de agregação de moléculas hidrofóbicas determinadas por concentração e interação com micelas com suas propriedades ópticas tendo o azul de metileno como modelo.</p> <p>4 – Aprender que a espectroscopia UV-visível é útil para análises qualitativas bastante precisas e não apenas para determinações quantitativas baseadas em mudanças colorimétricas como normalmente predomina nas aulas tradicionais de espectroscopia aplicada à Bioquímica.</p>
Duração estimada	30 min
Materiais utilizados	Computador com acesso à internet. OA do tipo simulação (HTML5).
Justificativa	As aulas práticas de espectroscopia UV-visível oferecidas pela disciplina de Bioquímica em diferentes cursos de Graduação privilegiam o ensino da técnica aplicada a análises quantitativas, frequentemente dosagens colorimétricas com aplicação da Lei de Lambert-Beer. O advento dos bacharelados interdisciplinares (BIs) trouxe a necessidade de aplicações mais diversas para a Bioquímica, além das Ciências Biológicas. A abrangência e diversidade dos conceitos tratados no presente OA possibilita que seja utilizado nos BIs e também para um aprendizado diferenciado nos bacharelados e licenciaturas disciplinares e também para uma rápida e objetiva aprendizagem desses conceitos por pessoas que necessitam aplicá-los em projetos de pesquisa e desenvolvimento tecnológico. Os corantes são um bom exemplo de como o estado de agregação afeta as características dos espectros. Portanto, trata-se de um OA concebido dentro do moderno conceito de ensino interdisciplinar com ampla abrangência de aplicação e útil como motivador da aprendizagem.
Link	http://nte.ufabc.edu.br/categoria/oa-mais

1 Introdução

Com o advento dos cursos interdisciplinares que começaram a ser oferecidos no Brasil em 2005, tal como o bacharelado em Ciência e Tecnologia, no qual a disciplina de Bioquímica é oferecida para estudantes das mais diversas pretensões de carreira profissional, tem sido observada a carência de materiais pedagógicos adequados. Atualmente há mais de 40 cursos nesse formato ofertados por 19 universidades federais e a tendência é o aumento pois esse modelo tem sido visto como uma solução futura para a educação superior, segundo o Ministério da Educação e Cultura (MEC). Somado a esse fato, observa-se o esforço do MEC para aumentar a modalidade do ensino a distância (EaD). Entre as metas do Plano Nacional de Educação (PNE), há estratégias que usam o EaD para melhoria dos números da educação no país, o que implica em aumento da demanda de materiais pedagógicos apropriados.

Sendo assim, esse objeto de aprendizagem foi concebido visando suprir essa deficiência e considerando os tópicos abordados na referida disciplina, dentre os quais se destacam aqueles relacionados ao fenômeno de absorção da luz. A espectrometria de absorção eletrônica na faixa de espectro eletromagnético UV-Vis é usada para a caracterização espectral e/ou quantificação de substâncias sendo, portanto, uma ferramenta muito útil para estudos de Bioquímica. Entretanto, a análise das aulas práticas de espectroscopia UV-visível oferecidas pela disciplina de Bioquímica em diferentes cursos de Graduação tradicionais evidencia o uso dessa técnica somente para análises quantitativas, frequentemente dosagens colorimétricas com aplicação da Lei de Lambert-Beer. Contudo, na nossa experiência didática [1] ficou evidente que o ensino da espectroscopia UV-Visível aplicada à análise qualitativa mostra-se muito importante, especialmente como um fator motivador da aprendizagem para estudantes de áreas distintas àquelas das ciências da vida. Os corantes são um bom exemplo de como o estado de agregação afeta as características dos espectros.

2 Apresentação do material ou prática de ensino

Dentre as estratégias pedagógicas apresentadas nesse OA está a simulação de condições que modulam a agregação do corante azul de metileno e o entendimento de como isso interfere qualitativamente nos espectros de absorção [2,3]. As condições moduladoras são concentração e uso de surfactantes. Para tal, é apresentada a possibilidade de preparar virtualmente soluções a partir de três diferentes concentrações de azul de metileno combinadas com três diferentes concentrações de surfactante

aniônico ou catiônico (na ausência, abaixo da concentração micelar crítica, e acima dessa). As representações dessas condições são: espécies moleculares presentes na solução, cor da solução e os correspondentes espectros de absorção no visível. A figura de uma cubeta com a solução tem a representação dos estados de agregação do corante e dos surfactantes. Ao clicar nas diversas representações são abertas caixas de texto com explicações sobre os conceitos e interações envolvidas.

Esse objeto de aprendizagem, do tipo simulação construído em linguagem HTML5, está disponível online no link: <http://nte.ufabc.edu.br/categoria/oa-mais>. A tela de acesso é mostrada na Figura 1. Nessa tela encontra-se os botões que permitem obter as informações pedagógicas, técnicas e sugestões de uso do OA.

Figura 1. Tela de acesso ao OA.

Para começar a interação deve-se clicar no botão azul central, conforme mostrado na Figura 2:

Figura 2. Tela inicial do OA.

Após optar pelo início da interação com o OA será exibida a tela com a representação das espécies químicas em diferentes estados de agregação na água, relacionadas às simulações, conforme mostrado na Figura 3.

Na parte inferior da tela há um menu contendo os botões que permitem que o usuário retorne para a PÁGINA INICIAL, verifique as condições relacionadas à formação de AGREGADOS SUPRAMOLECULARES do corante e dos surfactantes ou simule as condições que modulam a agregação do corante azul de metileno na opção EXPERIMENTO. Ao passar o cursor sobre cada representação na cubeta o usuário terá acesso ao conteúdo teórico relacionado. Essa ação é válida para todas as telas do objeto de aprendizagem (agregados moleculares e experimento). No canto inferior esquerdo da tela é possível ter acesso ao Manual do usuário.

Figura 3. Tela com as espécies químicas em diferentes estados de agregação na água e menu com as simulações disponíveis no OA.

Na tela “agregados supramoleculares”, ao ser selecionado individualmente os botões (MB, SDS e CTAB) e suas respectivas concentrações, será observado na cubeta o estado de agregação e, na parte inferior direita da tela, em algumas concentrações, a representação de uma situação de equilíbrio químico.

Para o corante azul de metileno essa representação corresponde à quantidade relativa de formas monômeros e dímeros (Figura 4) e, para o surfactante, corresponde à condição na qual o equilíbrio se desloca drasticamente dos monômeros e agregados pré-micelares para micelas, ou seja, na concentração micelar crítica (CMC), conforme mostrado na Figura 5:

Figura 4. Agregados supramoleculares: representação do equilíbrio químico para o corante.

Figura 5. Agregados supramoleculares: representação do equilíbrio químico para surfactante.

Na tela “Experimento”, que pode ser observada nas Figuras 6 e 7, o usuário tem acesso aos botões que recebem os nomes do corante azul de metileno (MB) e dos surfactantes (SDS e CTAB), com respectivas concentrações. Nessa opção é possível preparar virtualmente soluções a partir das três diferentes concentrações de MB combinadas com as três diferentes concentrações do surfactante aniônico ou do catiônico (na ausência, abaixo da concentração micelar crítica e acima dessa).

Na figura da cubeta com a solução aparece a representação dos estados de agregação do corante e dos surfactantes relacionados.

As representações dessas condições acima são disponibilizadas como espécies moleculares presentes na solução (MOLECULAS), COR DA SOLUÇÃO e os correspondentes espectros de absorção no visível (ESPECTRO UV-VIS). Esses recursos estão disponíveis na parte inferior direita da tela. Ao passar o cursor sobre o ponto de interrogação, a cubeta ou o espectro são apresentadas informações teóricas.

Figura 6. Botões e recursos de representação das simulações (Experimento). Recurso: cor da solução.

Figura 7. Recurso: espectro UV-Vis

3 Potencial Educacional

O uso de referências visuais fornecidas pelo OA permite melhor rendimento e motivação no processo de aprendizagem da aplicação qualitativa da espectroscopia UV-visível e das propriedades da água e surfactantes. Os alunos utilizam os elementos gráficos do OA para entender a capacidade que as micelas possuem de sequestrar o corante azul de metileno e modular seus estados de agregação em diferentes razões micelas/corante com repercussões em suas propriedades óticas. A visualização dos espectros do corante, correspondentes às diferentes condições, permite a assimilação do potencial da técnica de espectroscopia UV-Visível para análise qualitativa. Ao mostrar a modulação das propriedades fotofísicas do corante azul de metileno pela interação com a água e surfactantes, o OA fornece as bases para que os estudantes apliquem esses conceitos para uma diversidade de biomoléculas e seus miméticos com potencial aplicação em diferentes áreas do conhecimento e no desenvolvimento de novos materiais e tecnologias.

Esse material pode ser usado em curso presencial ou em Ensino a Distância (EaD), como material complementar para aulas práticas e teóricas de espectroscopia, de estrutura e propriedades da água e físico-química de membranas. Pode ser utilizado também como uma forma de aprendizado rápida e objetiva para pessoas que necessitam desses conceitos para aplicar em projetos de pesquisa e desenvolvimento tecnológico.

4 Diferencial com os materiais/ atividade pré-existent

O OA aqui apresentado possui o diferencial de ter sido concebido para o ensino interdisciplinar de tópicos da Bioquímica sobre estrutura e propriedades da água, surfactantes, interações com modelos de membranas biológicas e espectroscopia UV-Visível. Conforme já mencionado, as aulas práticas de espectroscopia UV-visível oferecidas pela disciplina de Bioquímica em diferentes cursos de Graduação privilegiam sua aplicação para análises quantitativas, ou seja, uma aplicação de interesse mais restrito. Além do mais, o foco na aplicação quantitativa da espectroscopia UV-Visível, não permite integrar esse tópico com outros precedentes que envolvem a relação estrutura e propriedades da água e surfactantes.

O uso do OA permite que os alunos de diferentes cursos e principalmente aqueles dos Bacharelados Interdisciplinares sintam-se motivados e possam reforçar esses conteúdos de forma integrada. A escolha do azul de metileno - um corante utilizado em diferentes áreas tais como medicina, biologia, energia, entre outras - como modelo de

molécula que tem as propriedades fotofísicas moduladas pelo estado de agregação dá ao aluno a visão de que conceitos relacionados à Bioquímica como formação de agregados supramoleculares, interações hidrofóbicas, propriedades de interfaces de membranas, análise de mudanças espectrais de cromóforos relacionadas à agregação e interações com o meio tem aplicação multidisciplinar.

5 Procedimentos de uso ou aplicação

Considerando a sua facilidade de uso, esse OA pode ser usado em diversos cenários educacionais. Pode ser apresentado aos alunos como assunto introdutório à aula e/ou como material auxiliar para análise dos resultados do experimento realizado na aula prática de espectroscopia UV-visível [1] e consolidação dos conceitos abordados. Também pode ser usado em Ensino a Distância (EaD) voltados para a graduação de BIs, bacharelados e licenciaturas disciplinares de Química, Biologia e Ciências da Saúde, bem como para a capacitação de professores. Portanto, pode ser usado como material complementar a aula de espectroscopia, de físico-química de membranas, de estrutura e propriedades da água, e também para uma rápida e objetiva aprendizagem desses conceitos e outros afins por pessoas que necessitam aplicá-los em projetos de pesquisa e desenvolvimento tecnológico.

5.1. Materiais/ procedimentos

Material	Descrição	Tipo do arquivo
Computador com acesso à internet	Acessar o link http://nte.ufabc.edu.br/categoria/oa-mais/ e interagir com o OA	Simulador (HTML5)

6 Considerações finais

Esse OA permite não apenas o aprendizado da aplicação qualitativa da espectroscopia UV-Visível, como apresenta, reforça e correlaciona conteúdos tais como relação estrutura/propriedades da água, formação de agregados supramoleculares de surfactantes em meio aquoso, estado de agregação de moléculas hidrofóbicas (determinadas por concentração e interação com micelas) com suas propriedades ópticas, tendo o azul de metileno como modelo. Desse modo, se caracteriza como um moderno modelo de ensino de Bioquímica.

Referências

- [1] Brito AMM, Araujo-Chaves JC. Apostila de aulas práticas de bioquímica: estrutura, propriedades e funções de biomoléculas para o BC&T. Santo André-SP: UFABC; 2016. Available from: <http://biblioteca.ufabc.edu.br>.
- [2] Junqueira HC, Severino D, Dias LG, Gugliotti MS, Baptista MS. Modulation of methylene blue photochemical properties based on adsorption at aqueous micelle interfaces. *Phys Chem Chem Phys* 2002;4:2320–8. doi:10.1039/B109753A.
- [3] Ovchinnikov O V, Evtukhova A V, Kondratenko TS, Smirnov MS, Khokhlov VY, Erina O V. Manifestation of intermolecular interactions in FTIR spectra of methylene blue molecules. *Vib Spectrosc* 2016;86:181–9. doi:10.1016/j.vibspec.2016.06.016.

Agradecimentos

As autoras agradecem a David da Mata pela assistência técnica e a toda a equipe do NTE-UFABC.