

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 moluscos de água doce *Biomphalaria glabrata*, é um biodicador 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 Parisio Barbosa de Oliveira

Jonas Sérgio de Oliveira Filho

Romildo de Albuquerque Nogueira

DOI 10.22533/at.ed.89319140312

SOBRE A ORGANIZADORA..... 126

ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL PARA ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA DE ESTADOS AGREGADOS DE CORANTES

Adrienne Marlise Mendes Brito

Hebert Freitas dos Santos

Iseli Lourenço Nantes-Cardoso

Universidade Federal do ABC, CCNH, Laboratório de Nanociências e Materiais Avançados

Santo André – SP

RESUMO: Os corantes são utilizados pelo homem desde os tempos pré-históricos e suas aplicações se diversificaram com o avanço científico-tecnológico da humanidade. Atualmente os corantes possuem aplicações tradicionais como na indústria têxtil e avançadas como as aplicações em células solares sensibilizadas por corantes (DSSC, do Inglês, dye sensitized solar cells). Ao mesmo tempo, a larga aplicação dos corantes principalmente na indústria têxtil incluiu essas substâncias entre os agentes poluidores, especialmente das águas dos rios que recebem efluentes. As inúmeras aplicações dos corantes e o problema ambiental a eles associado, torna muito relevante o domínio de suas propriedades espectrais, particularmente na espectrometria UV-visível que é uma técnica relativamente simples e de largo uso tanto na pesquisa científica quanto na indústria. Os avanços tecnológicos atuais requerem que as Universidades preparem os estudantes para níveis mais altos de aprendizagem nos Programas de Pós-

Graduação e para a atuação no setor produtivo. No último caso, a formação interdisciplinar é altamente desejável. Nesse sentido, desenvolvemos 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. Nesse capítulo, mostramos o desenvolvimento dessas estratégias, principalmente aquelas que permitem modular os estados agregados do corante com uso de detergentes. A etapa experimental do estudo foi associada com um objeto de aprendizagem (OA) para melhor domínio dos conteúdos. Adicionalmente, mostramos a análise do núcleo do azul de metileno cujo comportamento fotoquímico é bastante diferenciado.

PALAVRAS-CHAVE: Ensino, Pesquisa, Corantes, Azul de metileno, Espectroscopia UV-visível.

ABSTRACT: Man has used colorants since prehistoric times, and their applications have diversified with the scientific-technological advancement of humankind. Today dyestuffs have traditional usages such as in the textile industry and advanced applications such as dye-sensitized solar cells (DSS). At the same time, the widespread use of the dyes mainly in

the textile industry has included these substances among the pollutants, especially the waters of rivers receiving effluents. The numerous applications of dyes and the environmental problem associated with them make the domain of their spectral properties very relevant, particularly in UV-visible spectrometry, which is a relatively simple and widely used technique in both scientific research and industry. Current technological advances require universities to prepare students for higher levels of learning in graduate programs and for their performance in the productive sector. In the latter case, interdisciplinary training is highly desirable. In this sense, we developed experimental strategies that allow students to master the use of the UV-visible spectroscopy technique for qualitative and quantitative analyzes using a highly known and widely used dye such as methylene blue. In this chapter, we show the development of these strategies, especially those that allow modulating the aggregate states of the dye with the use of detergents. The experimental stage of the study was associated with an object of learning (OA) for a better mastery of contents. Additionally, we show the analysis of the methylene blue core whose photochemical behavior is entirely different.

KEYWORDS: Teaching, Research, Dyes, Methylene Blue, UV-Visible Spectroscopy

1 | INTRODUÇÃO

O fenômeno de absorção de luz diretamente por macromoléculas ou por cromóforos formados em reações secundárias é usado para a caracterização espectral e/ou quantificação dessas substâncias por espectrofotometria (SKOOG, 2006). Assim, a espectrometria de absorção eletrônica na faixa de espectro eletromagnético UV-Vis tem sido uma ferramenta muito útil para estudos de Química, Bioquímica e Biofísica.

Por meio de uma análise dos conteúdos das aulas práticas de espectroscopia UV-visível oferecidas em diferentes cursos de Graduação tradicionais verificamos que essas aulas contemplam somente o uso da técnica para análises quantitativas, frequentemente dosagens colorimétricas com aplicação da Lei de Lambert-Beer. Na nossa experiência didática na Universidade Federal do ABC (UFABC) (Brito e Araujo-Chaves, Juliana Casares, Nantes, 2016) ficou evidente que o ensino da espectroscopia UV-Vis aplicada à análise qualitativa constitui um fator motivador da aprendizagem, particularmente para estudantes de áreas distintas àquelas das ciências da vida, pois permite a aplicação em análise de materiais, de corantes sintéticos, de interações e degradações moleculares diversas (BRITO e Nantes, 2017) .

Além disso, a abordagem com análise qualitativa por meio da estratégia como a que será discutida nesse capítulo permite apresentar, reforçar e correlacionar 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 além de noções de fotoquímica, usando o corante azul de

metileno (MB+, do inglês, *Methylene Blue*) como modelo. Desse modo são fornecidas as bases para o entendimento desses 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. Os corantes são um bom exemplo de como o estado de agregação afeta as características espectrais dos cromóforos, sendo, portanto, adequado para o estudo desse tema, além de estar relacionado a questões de desenvolvimento tecnológico em várias áreas e à questão ambiental.

Indubitavelmente, a abrangência e diversidade de aplicação dessa técnica a torna indicada como tópico teórico e prático para estudantes de Bacharelados Interdisciplinares (BIs) e de Bacharelados e Licenciaturas tradicionais bem como para pesquisadores nas ciências biológicas e da saúde, ciências agrárias e multidisciplinar além das ciências exatas e da terra e engenharias. E o presente capítulo tem como proposta apresentar de maneira rápida e objetiva a teoria da técnica de espectrometria de absorção eletrônica na faixa de espectro eletromagnético UV-vis e oferecer estratégias experimentais para o estudo espectroscópico utilizando medidas qualitativas por meio da observação da relação monômero/dímero em agregados supramoleculares do corante azul de metileno. Também será discutido a caracterização espectral de fenotiazinas, um composto orgânico que ocorre em várias drogas antipsicóticas, como a clorpromazina, tioridazina e a trifluoperazina, e em drogas anti-histamínicas.

2 | FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Corantes

As cores são resultado da absorção seletiva de radiação eletromagnética na região espectral da luz visível (400 a 780 nm). A absorção de radiação nessa região se deve à presença de grupos cromóforos – principalmente ligações duplas conjugadas - na estrutura dos compostos (GÜRSES et al., 2016). Corantes e pigmentos são as substâncias mais importantes usadas para adicionar cor ou mudar a cor da matéria. Os corantes são definidos como substâncias que, quando aplicadas a um substrato, fornecem cor por um processo que altera, pelo menos temporariamente, a estrutura cristalina das substâncias coloridas. Os corantes sintéticos possuem diversas aplicações tradicionais e tecnológicas, como por exemplo, em vários tipos de têxteis, papel, curtimento de couro, processamento de alimentos, plásticos, cosméticos, indústrias de fabricação de borracha, impressão e tintas (GÜRSES et al., 2016) e células solares sensibilizadas por corantes (FREITAG et al., 2017). Já os pigmentos são sólidos particulados, orgânicos ou inorgânicos, finamente divididos, podem ser coloridos, incolores ou fluorescentes, geralmente insolúveis no veículo ou meio em que são incorporados e, essencialmente, inertes. Antagonicamente aos corantes, alteram apenas a aparência da superfície por absorção seletiva ou espalhamento de luz e podem ser usados para qualquer substrato polimérico (DRUMOND CHEQUER

et al., 2013).

Os corantes comerciais podem ser classificados em relação à estrutura, cor, métodos de aplicação ou carga das partículas após a dissolução em meio aquoso. Estruturalmente, um aspecto comum a praticamente todos os corantes sintéticos é a presença de ligações duplas e simples alternadas. Em relação à carga das partículas podem ser catiônicos (corantes básicos), aniônicos (corantes diretos, ácidos e reativos) e não-iônicos (corantes dispersos). São conhecidos mais de 100.000 corantes que correspondem a produção anual de mais de 7×10^5 toneladas/ano (DRUMOND CHEQUER et al., 2013). Apenas na indústria têxtil mundial há o consumo superior a 10.000 toneladas/ano de corantes com descarte de aproximadamente 100 toneladas nos sistemas de água. Os dados exatos sobre a quantidade descarregada proveniente de vários processos industriais no meio ambiente são desconhecidos, todavia já são bem conhecidos diversos de seus efeitos tóxicos (YAGUB et al., 2014).

O lançamento não controlado de efluentes industriais com corantes em maior ou menor nível de concentração na hidrosfera representa fonte significativa de poluição devido à sua natureza recalcitrante e à cor indesejável na água. Em consequência, ocorre interferência na absorção da luz pela população vegetal e animal do ambiente aquático além de possível ação carcinogênica, mutagênica ou teratogênica sobre a vida microbológica e várias espécies de peixes decorrente da presença de metais e hidrocarbonetos aromáticos. Além disso, essas substâncias podem ser transportadas para os mananciais ou para a estação de tratamento de água (principalmente os corantes com alta solubilidade) contribuindo para a contaminação da água distribuída à população. Para a saúde humana os riscos toxicológicos estão relacionados a disfunção no rim, sistema reprodutivo, fígado, cérebro e sistema nervoso central (YAGUB et al., 2014).

Diversos métodos físicos, químicos e biológicos para tratamento de efluentes com corantes têm sido estudados nos últimos anos (KATHERESAN et al, 2018). As principais técnicas disponíveis na literatura envolvem processos de adsorção, precipitação, degradação química, eletroquímica e fotoquímica, biodegradação e outros. Contudo, cada um desses métodos tem limitações, vantagens e desvantagens. A busca por corantes com maior poder de fixação e menos poluente assim como por métodos e tecnologias específicos para remover corantes de diferentes tipos de águas residuais apresenta-se muito relevante e está correlacionada, dentre outros fatores, com o estudo dos fatores físico-químicos que influenciam a fase aquosa do corante.

Com frequência, a efetividade da remoção da cor das águas de rejeitos industriais pode ser avaliada por espectroscopia UV-vis por meio da comparação com um padrão de valores já conhecidos na literatura. Assim, através da comparação direta entre absorbância da amostra de um efluente industrial e o padrão aceitável para aquele sistema aquático que o recebe, é possível avaliar o grau de contaminação e controlar a diluição do corante nas águas receptoras (COOPER, 1995). Entretanto, corantes geralmente são moléculas complexas e alguns fatores tais como concentração, pH e

presença de outras moléculas (surfactantes, por exemplo) influenciam no seu estado de agregação e afetam as características dos espectros (JUNQUEIRA et al., 2002), o que pode interferir nos resultados da avaliação espectrofotométrica em relação ao padrão analítico. Como um exemplo, se a determinação da concentração do corante no efluente for feita por meio da medida de absorbância em um comprimento de onda fixo, caso o meio promova um deslocamento batocrômico ou hipsocrômico no espectro (SKOOG, 2006), a medida em comprimento de onda fixo resulta em grandes erros de dosagem. Um outro exemplo é o erro de dosagem decorrente de não considerar que diferentes meios podem ter efeito hipercrômico ou hipocrômico, sem alteração do comprimento de onda máximo de absorção. Isso evidencia a importância de se conhecer as propriedades óticas dos corantes e sua avaliação por espectroscopia de absorção eletrônica.

O azul de metileno é um corante tiazínico com aplicações variadas. Foi sintetizado pela primeira vez para ser usado como corante de tecidos durante o período de grande expansão da indústria têxtil europeia e, atualmente, a água residual do processo textil representa um problema ambiental mundial. É largamente utilizado como um indicador redox em química analítica: soluções desta substância são azuis quando em ambiente oxidante, mas tornam-se incolores quando expostas a um agente redutor. O MB⁺ também desempenha papéis importantes na microbiologia e farmacologia há tempos, como coloração temporária para análise por microscopia em RNA ou DNA; para o tratamento da metahemoglobinemia (conversão de Fe³⁺Hb a Fe²⁺Hb) por meio de sua forma leuco que é reduzida com dois elétrons; como bactericida e fungicida. Uma inovação terapêutica tem tido sucesso na medicina, odontologia e na veterinária: o MB⁺ como agente fotossensibilizador para a terapia fotodinâmica (TFD) de tumores, infecções e parasitoses (TARDIVO et al., 2005). Essa terapia utiliza a aplicação de um corante na área a ser tratada, seguida de irradiação com luz do comprimento de onda que penetre melhor no tecido. A luz promove excitação eletrônica do corante que transfere sua energia ao oxigênio molecular do meio e o converte em uma espécie altamente oxidante, o oxigênio singlete, que leva à morte o tecido tumoral ou o agente infeccioso.

É conhecido que, em solução aquosa o corante azul de metileno encontra-se em equilíbrio entre as formas monômero e dímero. O equilíbrio encontra-se deslocado para a forma monomérica e dimérica, respectivamente em baixas e altas concentrações do corante. Em solução, o estado fundamental do MB⁺ forma dímeros com uma constante de associação de $4 \pm 1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ e que podem ser favorecidos pelo aumento da força iônica e presença de micelas em determinadas razões de corante/surfactante (JUNQUEIRA et al., 2002). Soluções de diferentes concentrações de MB⁺, associado ou não a surfactantes, apresentam diferentes tonalidade de azul, relacionada a predominância de dímeros ou monômeros. A interação corante-surfactante representa uma estratégia experimental para estudos de estados agregados de corante por meio de espectroscopia UV-vis e tem sido estudada devido a sua grande relevância para a

indústria de tingimento e fotografia.

2.1 Espectroscopia

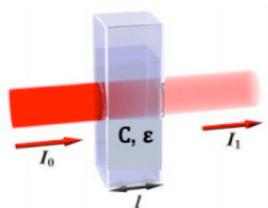
A espectrofotometria é um dos métodos ópticos de análises mais usados nas investigações bioquímicas. O espectrofotômetro é um instrumento que permite comparar a intensidade de luz absorvida ou transmitida por uma solução que contém uma quantidade desconhecida de soluto em relação a quantidade conhecida da mesma substância em solução. A absorção das radiações ultravioleta e visível depende da estrutura molecular e é característica para cada substância. Quando a luz atravessa uma solução de determinado composto, parte da energia é absorvida. A cor enxergada pelos nossos olhos se deve a transmitância (T) de certos comprimentos de ondas da luz branca não absorvidos, conforme indicado na equação 1, onde I_0 é a intensidade da radiação incidente e I corresponde à intensidade do feixe de radiação transmitido. Esse fenômeno pode ser usado para quantificação de substâncias por meio da intensidade de absorbância em um comprimento de onda específico, com base em uma curva padrão, utilizando-se da Lei de Lambert-Beer (SKOOG, 2006). À medida que aumentamos a concentração da solução, a transmitância varia em relação inversa ao logaritmo da concentração. Em consequência, pode-se definir um novo termo, absorbância (A), que será diretamente proporcional à concentração. Portanto,

$$T = I/I_0 \quad (1)$$

$$A = -\log I/I_0 = -\log T \quad (2)$$

$$A = \log 1/T \quad (3)$$

Dessa forma, a absorbância é direta e linearmente proporcional à concentração. Esta varia também de forma direta com o caminho óptico (diâmetro interno) da cubeta, ou seja, se dobrarmos o caminho óptico mantendo a concentração constante, teremos um valor de absorbância duas vezes maior. Essa relação é referida como *Lei de Lambert-Beer*.



$$A = \epsilon \cdot C \cdot l$$

(4)

Onde A = absorbância, ϵ = constante de proporcionalidade (absortividade ou coeficiente de extinção), l = caminho óptico (em centímetros) e C = concentração (em mol/L). Como os valores de A são adimensionais, a unidade de ϵ são as recíprocas daquelas para l e C . Quando l (geralmente é) e C é expresso em mol/L ou mol.L⁻¹, a constante ϵ pode ser chamada de absortividade ou coeficiente de extinção molar (ϵ , epsilon) e é constante para dado **comprimento de onda**, temperatura, pH, solvente, etc.

Assim, a proporcionalidade direta entre absorvância e concentração representa uma estratégia a ser usada para a determinação da absorvidade de uma dada substância em determinada condição experimental por meio de realização de uma curva padrão construída com concentrações conhecidas do cromóforo. A aplicação da Lei de Lambert-Beer permite a determinação do ϵ no meio de análise, o qual será usado para determinar a concentração desconhecida do cromóforo no mesmo meio. A Figura 1 mostra curvas padrão de concentração de albumina feitas com uso dos aminoácidos aromáticos como cromóforos endógenos da proteína e com uso do cromóforo formado pela complexação com cobre presente no reagente Biureto (ZAI, 1998).

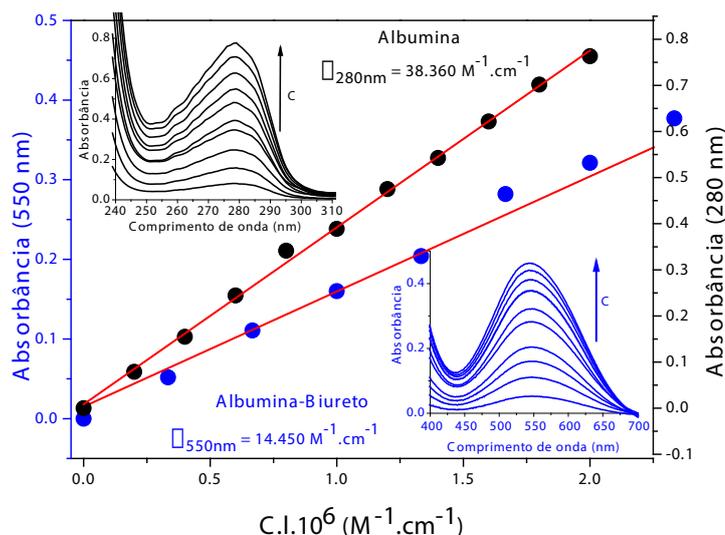


Figura 1 . Curva padrão de albumina determinada pelo método direto (em preto) e pelo método com Biureto (em azul). O inserto mostra os espectros do cromóforo, os quais forneceram os valores de absorvância usados na construção da curva padrão.

A espectroscopia UV-visível também pode ser usada para análise qualitativa de substâncias, como será discutido a seguir utilizando o corante azul de metileno. A cor característica do MB^+ é causada pela forte banda de absorção na região espectral de 550-700 nm, sendo seu espectro de absorção dependente da concentração (MORGOUNOVA *et al.*, 2013). Monômeros e dímeros tem espectros de absorvância distintos: monômeros tem intensidade máxima em 665 nm ($\epsilon = 85.000 M^{-1}cm^{-1}$) e dímeros em 610 nm e agregados maiores do tipo H em 590 nm (Figura 2). A diferença na absorção entre monômeros e dímeros facilita o cálculo da concentração de cada espécie presente em solução. A intensidade relativa dos picos indica em qual direção o equilíbrio está deslocado. A razão entre a absorvância a 580 e 665 nm (A_{580}/A_{665}) dá uma estimativa qualitativa da concentração relativa de dímeros para monômeros, o que representa uma indicação de qual forma do corante prevalece no meio.

É interessante observar que a forma agregada de azul de metileno possui peculiares propriedades fotoquímicas (JUNQUEIRA *et al.*, 2002). Quando os dímeros ou agregados maiores são expostos à luz branca ou vermelha observa-se a separação

de carga dos pares, pois o tripleto é oxidante e oxida seu par com formação do par radicalar formado pelo corante reduzido com um elétron (MB^{\cdot}) e o corante oxidado com menos um elétron ($MB^{\cdot 2+}$). Dessa forma, o rendimento quântico de produção de oxigênio singleto cai bastante para as formas agregadas. A forma reduzida com um elétron absorve luz em 420 nm e possui $pK_a = 9,0$. Essa espécie pode transferir o elétron ao oxigênio do meio e gerar íon superóxido ou prontamente dismutar para a forma reduzida com dois elétrons, ou seja, a forma leuco (MBH) e o estado fundamental MB^+ . O cátion radical do azul de metileno ($MB^{\cdot 2+}$) absorve em 520 nm.

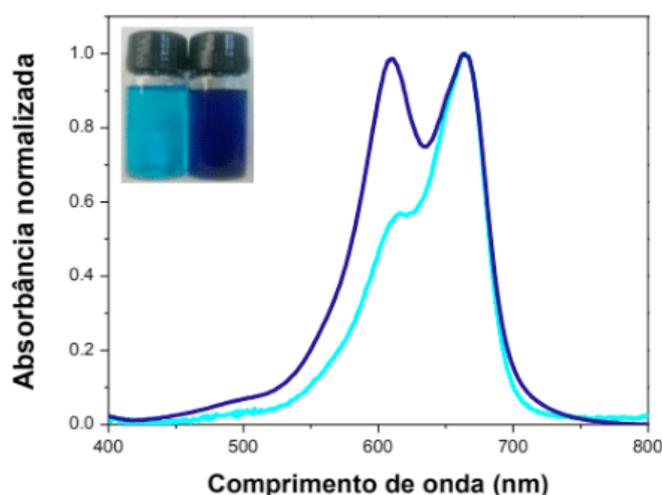


Figura 2. Espectro UV-visível de MB^+ em água obtido com 25 (azul claro) e 250 (azul escuro) $\mu\text{mol.L}^{-1}$ do corante. O inserto mostra a coloração diferenciada das soluções com elevada porcentagem de dímero (azul royal) e de monômero (azul turquesa).

O princípio que faz a fotoquímica interessante é o uso da luz como uma fonte de energia para promover reações químicas. Em comprimentos de onda de luz (λ) específicos, a energia pode ser absorvida por determinadas moléculas, levando-as a um estado molecular excitado no qual, devido à conformação menos estável ficam propensas a reagirem com outras moléculas (MORGOUNOVA *et al.*, 2013). A maior parte das reações química realizadas em laboratório utiliza a faixa espectral visível ao olho humano (vis), ultravioleta (UV) e infravermelho (IV) próximo. Moléculas excitadas podem perder sua energia através das propriedades físicas ou por participar de reações químicas.

O processo fotoquímico (TURRO *et al* 2012) se inicia com a absorção de um fóton por uma molécula com a qual encontra condição de ressonância. A energia do fóton absorvida pela molécula no estado fundamental (S_0) leva ao deslocamento de um elétron de seu orbital ligante para um orbital anti-ligante desocupado de mais alta energia, o que leva a molécula ao estado eletronicamente excitado singleto S_1 , S_2 , ... S_n , dependendo da energia de excitação ou do solvente. Uma molécula também pode atingir o estado eletronicamente excitado, na ausência de luz por um processo conhecido como Fotoquímica no Escuro, tal como acontece na clivagem do dioxetano (NANTES *et al* 1996; GREEN *et al.*, 2017) e na reação luciferina/luciferase (Viviani *et*

al., 2018). A molécula no estado eletronicamente excitado pode ter diferentes rotas de decaimento para o estado fundamental (processos fotofísicos) que são mostradas na Figura 3. A conversão interna ($S_n \rightarrow S_1 + \text{calor}$) ocorre quando a molécula encontra-se em estado excitado S_n acima de S_1 . A fluorescência é a desativação radiativa de $S_1 \rightarrow S_0$, sendo que S_1 pode ter sido atingido por excitação a partir de S_0 ou por conversão interna. O cruzamento intersistemas ocorre de $S_1 \rightarrow T_1$ ou $S_2 \rightarrow T_2$ e $T_2 \rightarrow T_1$, por meio de conversão interna. O estado eletronicamente excitado tripleto possui tempo de vida relativamente longo e pode reagir com outras moléculas dando origem a fotoprodutos. As transições sem a emissão de fótons ou não radiativas são aquelas em que a desativação se dá por meio de liberação de calor para o ambiente. (MORGOUNOVA *et al.*, 2013).

A fim de compreender o comportamento fotoquímico quando interage com biomoléculas, em particular com membranas, as propriedades do MB⁺ foram estudados em soluções de SDS (dodecil sulfato de sódio) e CTAB (brometo de cetil trimetil amônio) em vários trabalhos (Junqueira *et al.*, 2002). O uso de micelas de SDS em diferentes razões micela/corante permite modular o estado de agregação do MB⁺. Assim, em presença de excesso de micelas em relação ao corante temos a predominância da forma monomérica e em presença de excesso de corante em relação às micelas obtêm-se a predominância dos dímeros.

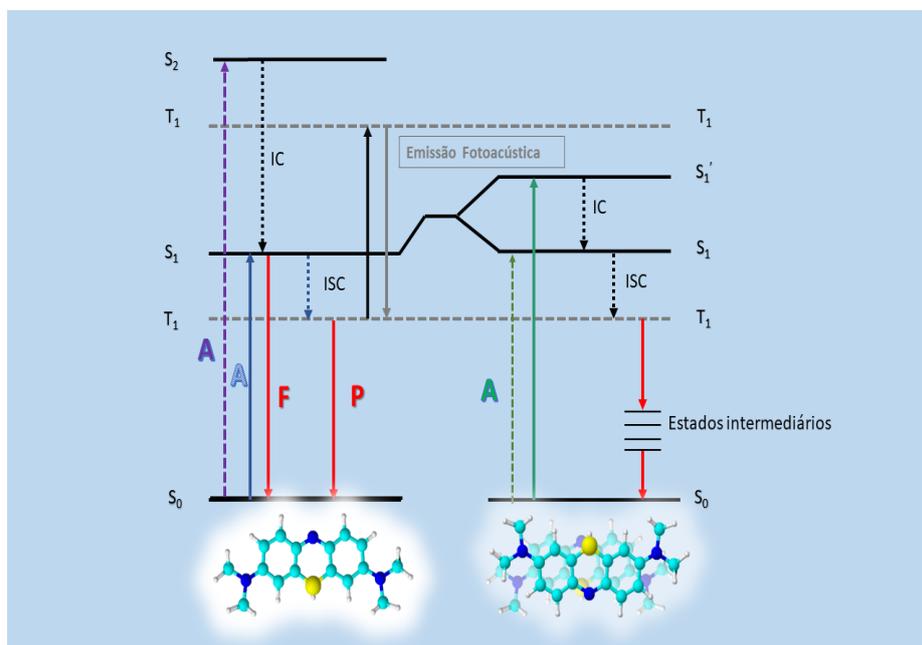


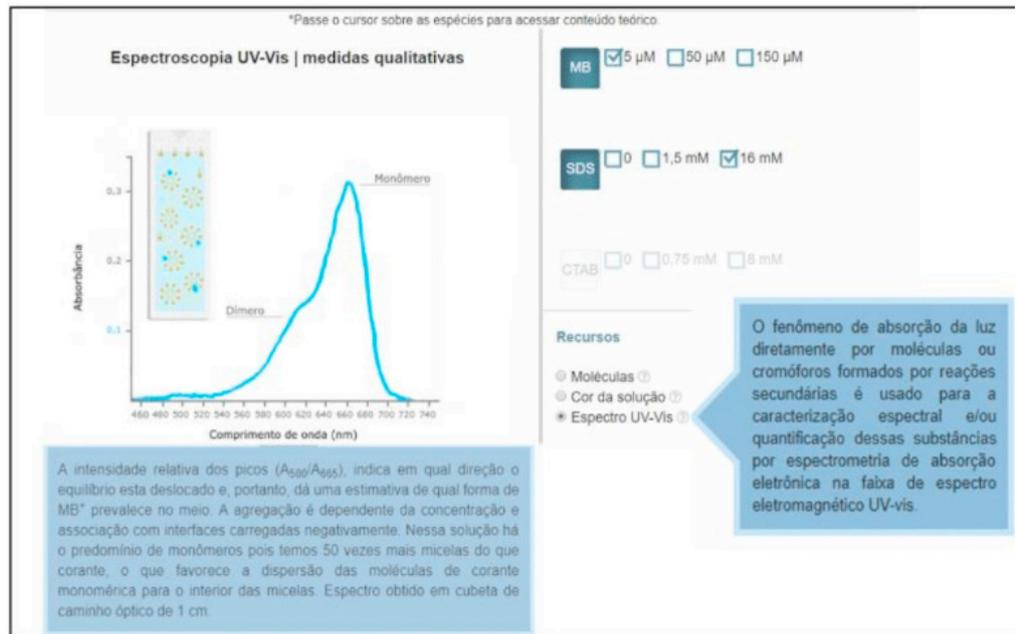
Figura 3 . Diagrama de Jablonski: à esquerda, para uma forma monomérica do MB⁺ após interagir com um fóton em condições de ressonância; à direita, especificamente para a forma dimérica. A, absorção; F, fluorescência; P, fosforescência; IC, conversão interna, ISC, cruzamento intersistemas, S, estado singleto, T, tripleto. S₀, estado fundamental. Adaptado de (MORGOUNOVA *et al.*, 2013).

3 | ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL

Para a fundamentação da estratégia experimental aqui discutida foi realizado ensaio com soluções do corante azul de metileno (MB⁺) em três diferentes concentrações

(5, 50 e 150 μM) que interferem em seu estado de agregação, sendo que a forma monomérica é predominante até 20 μM . A essas soluções foram adicionados os detergentes SDS (aniônico) e CTAB (catiônico) em duas concentrações diferentes, sendo uma abaixo e uma acima da CMC (concentração micelar crítica). Para SDS, usamos 1,5 e 16 mM e para CTAB usamos 0,75 e 8 mM. Em seguida foi realizada a aquisição do espectro de absorção no visível (região espectral de 350 a 750 nm) de cada solução utilizando cubetas de vidro de caminho óptico 1 cm ou 0,1 cm (dependendo da concentração de MB⁺ usada). Foram plotados os gráficos absorvância X comprimento de onda e analisada a razão entre os picos de absorção das formas monomérica e dimérica em cada condição. Essa estratégia experimental permite, dessa forma, trabalhar com os alunos a aplicação da Lei de Lambert-Beer no que concerne à influência da concentração dos cromóforos, do seu estado de agregação e do caminho óptico de aquisição espectral.

Como recurso pedagógico para o estudo da espectroscopia UV-vis considerando medidas qualitativas e utilizando como modelo o MB⁺, desenvolvemos o objeto de aprendizagem (OA) “Propriedades Fotofísicas do Azul de Metileno Aplicadas para o Ensino de Espectroscopia UV-Visível como Ferramenta para Análise Qualitativa em Bioquímica” disponível no link <http://nte.ufabc.edu.br/bioquimica/oa/index.html>, objeto este agraciado em 2017 no 1º Prêmio Nacional de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular “Bayardo BaptistaTorres” na categoria Materiais Didáticos ou Prática de Ensino, promovido pela Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq) (BRITO e NANTES, 2017). Por meio da interação com esse OA é possível fazer 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. As condições moduladoras dos estados de agregação 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 conforme Figura 4:



Pagina Inicial Experimento Agregados supramoleculares

Figura 4. Exemplo de uma das telas do objeto de aprendizagem, com indicação de algumas das opções disponíveis para simulação.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 5 são apresentadas fotos de todas as soluções de MB⁺ em diferentes condições de concentração e da presença de micelas. A predominância de agregados já é evidenciada pela cor da solução, uma vez que as formadas de monômeros apresentam a cor azul *cyan*, enquanto que as de formadas por dímeros de MB⁺ apresentam a cor azul *royal* (tonalidade mais escura). A mudança de cor conforme o estado de agregação decorre do fato de que a agregação afeta a estrutura molecular, que por sua vez, afeta os níveis de energia dos orbitais moleculares e assim, os comprimentos de onda de luz que são absorvidos e transmitidos (vide Figura 3)



Figura 5. Fotos das soluções referentes aos espectros apresentados. Em cada foto, os tubos Eppendorfs da esquerda contém 0; 1,5 e 16 mM de SDS e os da direita contém 0; 0,75 e 8 mM de CTAB. Nas fotos da esquerda, centro e direita, as concentrações de azul de metileno são respectivamente, 5, 50 e 150 µM. Observar as diferenças de tonalidade de azul. A tonalidade *royal* indica predominância de dímeros do corante e a tonalidade *cyan* indica predominância de monômero do corante.

O estado de agregação pode ser determinado espectrofotometricamente. As Figuras 6 e 7 mostram os espectros correspondentes aos dados obtidos de todas as

soluções manipuladas indicadas na Figura 5. É possível relacionar cor da solução, estado de agregação e aspecto do espectro apresentado. Além disso, foi observado que mesmo em condições onde predomina a forma monomérica, pode-se deslocar o equilíbrio para a forma dimérica com o uso de detergentes como o SDS. Na presença do detergente SDS a razão entre a concentração de micelas e concentração do corante irá determinar se as moléculas do corante permanecerão distribuídas isoladamente ou em pares no interior das micelas e isso pode ser monitorado por espectroscopia UV-visível (JUNQUEIRA *et al.*, 2002). Portanto, em presença de SDS, a predominância de dímero será dependente da concentração relativa de MB⁺ e SDS. Conforme mostrado na Figura 6, mantendo fixa a concentração do corante, em concentração de SDS relativamente baixa o espectro observado com pico em 580 nm, é referente a forma dimérica, enquanto que, em concentrações relativamente altas de detergente, o espectro observado com pico em 665 nm é relativo a forma monomérica do corante (MORGOUNOVA *et al.*, 2013).

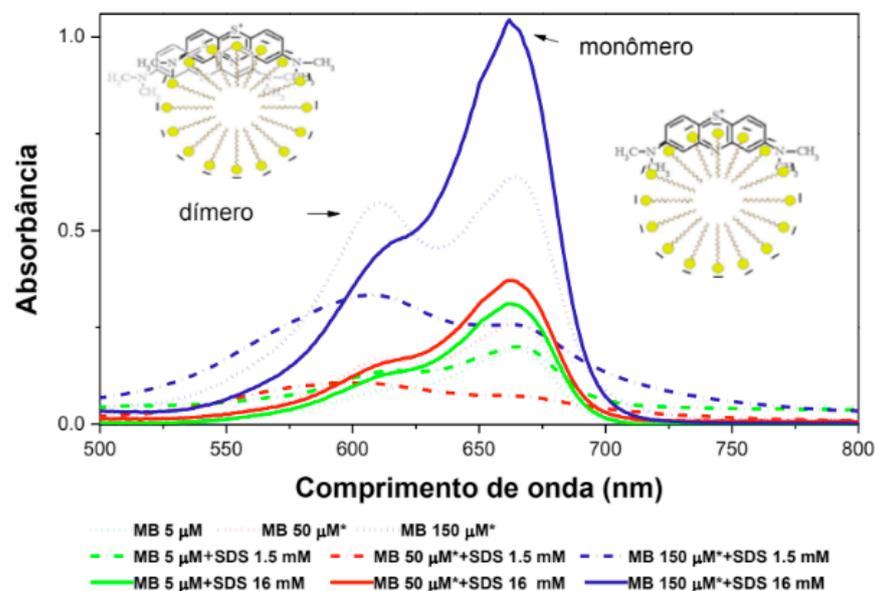


Figura 6. Espectros de absorvância das soluções de azul de metileno (MB⁺) e do surfactante SDS em diversas concentrações. No inserto representação do MB⁺ em micela de SDS na razão 1:1 (forma monomérica do corante) à direita, e 2:1 (forma dimérica do corante) à esquerda.

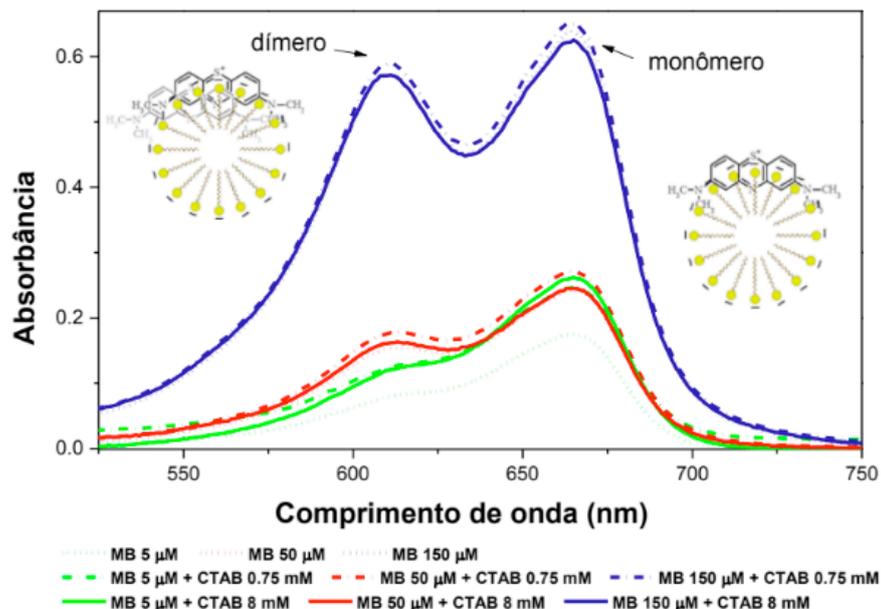


Figura 7. Espectros de absorvância das soluções de azul de metileno (MB^+) e do surfactante CTAB nas diversas concentrações. No inserto representação MB^+ em micela de CTAB na razão 1:1 (forma monomérica do corante) à direita, e 2:1 (forma dimérica do corante) à esquerda.

Para analisar espectros de corantes associados às micelas é importante entender seu comportamento e como alteram o estado de agregação do corante. A estrutura micelar está em equilíbrio com os monômeros da solução e com a monocamada de surfactante na interface ar/água. A presença de um sal na solução diminui a repulsão eletrostática entre os monômeros na interface e conseqüentemente diminui a CMC (efeito da força iônica sobre a CMC de um detergente). Esse efeito é observado apenas com altas concentrações do soluto (mM) (MANIASSO, 2001). Em uma solução de surfactante e corante MB^+ , dependendo da carga do surfactante, e conseqüentemente das interações eletrostáticas, bem como da razão molar entre esses, pode ocorrer ou não formação de complexos que mudam as propriedades de ambos e o equilíbrio da solução. O MB^+ , sendo positivamente carregado tem uma forte atração pelo SDS e tem sido sugerido que essa interação muda o equilíbrio da solução de SDS e os complexos formados têm uma grande tendência a permanecerem na interface (menor repulsão entre monômeros e menor solubilidade em água). Em solução de SDS e MB^+ , a CMC é alcançada com menores concentrações de SDS, em relação ao surfactante puro. Já foi observado (JUNQUEIRA *et al.*, 2002) que quando a concentração do MB^+ é aumentada de 0 para $45 \mu\text{M}$, a CMC de SDS diminui de 7 mM para $70 \mu\text{M}$. Assim, concentrações em micromolar de MB^+ são suficientes para mudar a CMC em duas ordens de magnitude, o que indica que o MB^+ facilita a formação das micelas. O uso de surfactantes catiônicos e aniônicos possibilita obter informações sobre a influência da carga da interface das micelas na associação com outras moléculas.

Para modular o equilíbrio monômero/dímero deve-se atentar ao fato de que o cálculo de concentração do detergente deve levar em conta que o corante se associa às micelas e não ao monômero do detergente. Portanto, acima da CMC, a concentração

de detergente deve ser dividida pelo número de agregação do detergente nas micelas de modo que se calcule corretamente a razão corante/micela.

Além do azul de metileno, outros corantes tiazínicos, como o núcleo das fenotiazinas (PHT) quando excitados ao estado tripleto podem reagir com um par no estado fundamental e assim gerar duas espécies, a forma reduzida com um elétron e o cátion radical. Em baixas concentrações do corante nas quais as formas agregadas não predominam, o cátion radical não fica estabilizado e pode reagir com o oxigênio molecular e dar origem ao derivado sulfóxido. (RODRIGUES *et al.*, 2006 ; SANTOS, 2009) O cátion radical das fenotiazinas são estáveis quando esses compostos estão na forma agregada de tal modo que é possível medir o espectro UV-vis no estado estacionário. Os espectros do cátion radical de fenotiazinas monoméricas podem ser obtidos somente na forma transiente com uso de laser de nano a fentosegundos (SOARES *et al.*, 2007) a regeneration of native horseradish peroxidase (HRP; MOHAN e MITTAL, 1995). Em geral, o cátion radical das fenotiazinas apresenta uma banda de absorção com pico em torno de 520 nm, conforme Figura 8, a qual mostra o espectro atribuído ao cátion radical da PHT após irradiação de 3h em lâmpada UV de 80 W ($\lambda = 254 \text{ nm}$):

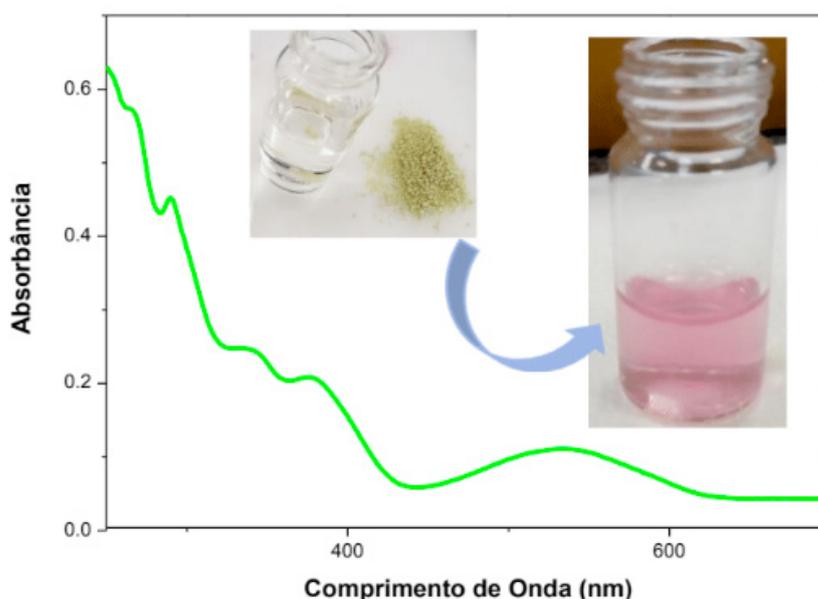


Figura 8. Espectro de absorção do cátion radical de PHT após irradiação de 3h em lâmpada UV de 80W ($\lambda = 254 \text{ nm}$) a distância de 2 cm. O inserto à esquerda mostra a PHT no estado sólido antes da dissolução em H_2O , enquanto o inserto à direita mostra a solução obtida após irradiação e formação do cátion radical, o qual apresenta coloração rosa. A medida espectral foi realizada em cubeta de quartzo de caminho óptico 1 cm.

Nessas condições, a formação do cátion radical é corroborada por medidas de ressonância paramagnética do elétron (não mostrado). O uso da espectroscopia UV-visível para análise qualitativa permite analisar a interconversão temporal entre duas espécies moleculares e caracterizar a cinética de uma reação. A Figura 9 mostra as mudanças espectrais que ocorrem com PHT durante sua irradiação com luz UV. O espectro em amarelo escuro mostra o estado inicial antes da irradiação. As linhas

pretas fina e grossa mostram as mudanças espectrais que precedem o aparecimento do cátion radical e que são atribuídas à formação de sulfóxido. As linhas rosa e vermelha correspondem aos espectros do cátion radical obtidos nas regiões espectrais do UV (esquerda) e visível (direita).

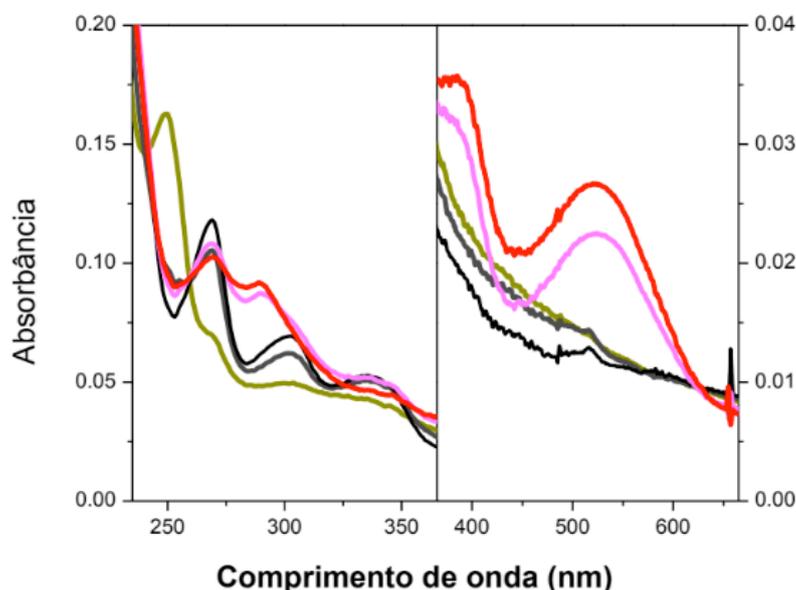


Figura 9. Mudanças espectrais que ocorrem com PHT (solução aquosa 100 μM) durante irradiação com luz UV a distância de 2 cm. As linhas pretas fina e grossa mostram as mudanças espectrais que precedem o aparecimento do cátion radical de PHT e que são atribuídas à formação de sulfóxido. As linhas rosa e vermelha correspondem aos espectros do cátion radical obtidos nas regiões espectrais do UV (esquerda) e visível (direita). A medida UV-vis foi realizada em cubeta de quartzo de caminho óptico 1 cm.

5 | CONCLUSÕES

As estratégias experimentais para analisar os estados agregados dos corantes aqui descritas são de utilidade para aplicação didática em cursos disciplinares e interdisciplinares que requerem a aquisição de competência na área de espectroscopia UV-visível, físico-química de sistemas heterogêneos e fotoquímica de corantes tiazínicos. Por tratar da análise de corantes, tem utilidade para os técnicos especializados que trabalhem em vários aspectos de pesquisa e desenvolvimento de corantes. A associação das estratégias experimentais com o objeto de aprendizagem permite melhor entendimento e assimilação do conteúdo.

REFERÊNCIAS

BRITO, A. M. M.; ARAUJO-CHAVES, JULIANA CASARES, NANTES, I. L. **Apostila de aulas práticas de bioquímica: estrutura, propriedades e funções de biomoléculas para o BC&T.** Santo André-SP: UFABC, 2016.

BRITO, A. M. M.; NANTES, I. L. **Propriedades Fotofísicas do Azul de Metileno Aplicadas para o Ensino de Espectroscopia UV-Visível como Ferramenta para Análise Qualitativa em Bioquímica.** Revista de Ensino de Bioquímica, v. 15, p. 21, 2017.

COOPER, P. **Removing colour from dyehouse waste waters**. Asian Textile Journal, v. 3, n. 4, p. 52–56, 1995.

DRUMOND CHEQUER, F. M.; OLIVEIRA, G. A. R. DE; ANASTACIO FERRAZ, E. R.; CARVALHO, J.; BOLDRIN ZANONI, M. V.; OLIVEIR, D. P. DE. Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact. *In: Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing*. [s.l.] InTech, 2013.

DRUMOND CHEQUER, F. M.; OLIVEIRA, G. A. R. DE; ANASTACIO FERRAZ, E. R.; CARVALHO, J.; BOLDRIN ZANONI, M. V.; OLIVEIR, D. P. DE. Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact. *In: Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing*. [s.l.] InTech, 2013.

FREITAG, M.; TEUSCHER, J.; SAYGILI, Y.; ZHANG, X.; GIORDANO, F.; LISKA, P.; HUA, J.; ZAKEERUDDIN, S. M.; MOSER, J.-E.; GRÄTZEL, M.; HAGFELDT, A. **Dye-sensitized solar cells for efficient power generation under ambient lighting**. Nature Photonics, v. 11, n. 6, p. 372–378, 2017.

GREEN, O.; EILON, T.; HANANYA, N.; GUTKIN, S.; BAUER, C. R.; SHABAT, D. **Opening a Gateway for Chemiluminescence Cell Imaging: Distinctive Methodology for Design of Bright Chemiluminescent Dioxetane Probes**. ACS Central Science, v. 3, n. 4, p. 349–358, 2017.

GURSES, A.; AÇIKYILDIZ, M.; GÜNEŞ, K.; GÜRSES, M. S. **Dyes and Pigments**. Cham: Springer International Publishing, 2016.

JUNQUEIRA, H. C.; SEVERINO, D.; DIAS, L. G.; GUGLIOTTI, M. S.; BAPTISTA, M. S. **Modulation of methylene blue photochemical properties based on adsorption at aqueous micelle interfaces**. Physical Chemistry Chemical Physics, v. 4, n. 11, p. 2320–2328, 2002.

KATHERESAN, V.; KANSEDO, J.; LAU, S. Y. **Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review**. Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 6, n. 4, p. 4676–4697, 2018.

MANIASSO, N. **Ambientes micelares em química analítica**. Química Nova, v. 24, n. 1, p. 87–93, 2001.

MOHAN, H.; MITTAL, J. P. **Formation and Reactivity of the Radical Cation of Bromobenzene in Aqueous Solution: A Pulse Radiolysis Study**. The Journal of Physical Chemistry, v. 99, n. 17, p. 6519–6524, 1995.

MORGOUNOVA, E.; SHAO, Q.; HACKEL, B. J.; THOMAS, D. D.; ASHKENAZI, S. **Photoacoustic lifetime contrast between methylene blue monomers and self-quenched dimers as a model for dual-labeled activatable probes**. Journal of Biomedical Optics, v. 18, n. 5, p. 056004, 2013.

NANTES, LSELI L.; BECHARAT, E. J. H.; CILENTO, G. **Horseradish Peroxidase-Catalyzed Generation of Acetophenone and Benzophenone in the Triplet State**. Photochemistry and Photobiology, v. 63, n. 6, p. 702–708, 1996.

RODRIGUES, T.; SANTOS, C. G. DOS; RIPOSATI, A.; BARBOSA, L. R. S.; MASCIO, P. DI; ITRI, R.; BAPTISTA, M. S.; NASCIMENTO, O. R.; NANTES, I. L. **Photochemically Generated Stable Cation Radical of Phenothiazine Aggregates in Mildly Acid Buffered Solutions**. The Journal of Physical Chemistry B, v. 110, n. 25, p. 12257–12265, 2006.

SANTOS, C. G. DOS. **Caracterização Fotoquímica Do Núcleo Fenotiazínico Fotoexcitado Livre E Associado a Polietileno Glicol**. [s.l.] Universidade de Mogi das Cruzes, 2009.

SKOOG, DOUGLAS A.; HOLLER, F. JAMES; CROUCH, S. **Principles of Instrumental Analysis**. 6. ed. Belmont: Cengage Learning, 2006, 2006.

SOARES, V. A.; SEVERINO, D.; JUNQUEIRA, H. C.; TERSARIOL, I. L. S.; SHIDA, C. S.; BAPTISTA,

M. S.; NASCIMENTO, O. R.; NANTES, I. L. **Light-Driven Horseradish Peroxidase Cycle by Using Photo-activated Methylene Blue as the Reducing Agent**. *Photochemistry and Photobiology*, v. 83, n. 5, p. 1254–1262, 2007.

TARDIVO, J. P.; GIGLIO, A. DEL; OLIVEIRA, C. S. DE; GABRIELLI, D. S.; JUNQUEIRA, H. C.; TADA, D. B.; SEVERINO, D.; FÁTIMA TURCHIELLO, R. DE; BAPTISTA, M. S. **Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2005.

TURRO, N. J.; RAMAMURTHY, V.; SCAIANO, J. C. **Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules**. [s.l: s.n.]. v. 88

VIVIANI, V. R.; AMARAL, D. T.; BEVILAQUA, V. R.; FALASCHI, R. L. **Orfelia -type luciferin and its associated storage protein in the non-luminescent cave worm *Neoditomyia* sp. (Diptera: Keroplatidae) from the Atlantic rainforest: biological and evolutionary implications**. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 17, n. 10, p. 1282–1288, 2018.

YAGUB, M. T.; SEN, T. K.; AFROZE, S.; ANG, H. M. **Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: A review**. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 209, p. 172–184, 2014.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. **Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes**. *Química Nova*, v. 21, n. 6, p. 787–793, 1998.

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

