



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS BLUMENAU
CENTRO TECNOLÓGICO, DE CIÊNCIAS EXATAS E EDUCAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E EDUCAÇÃO
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

THAYNARA DANNEHL HOPPE

**O USO DE IMAGENS DIGITAIS NA QUÍMICA: UM EXPERIMENTO DIDÁTICO
PARA A DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS**

BLUMENAU – SC

2021

THAYNARA DANNEHL HOPPE

**O USO DE IMAGENS DIGITAIS NA QUÍMICA: UM EXPERIMENTO DIDÁTICO
PARA A DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Licenciatura em Química do Centro Tecnológico, de Ciências Exatas e Educação da Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Blumenau como requisito para a obtenção do título de Licenciada em Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Daniela Brondani

BLUMENAU – SC

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Hoppe, Thaynara Dannehl

O uso de imagens digitais na química: um experimento didático para a determinação de proteínas em amostras de alimentos. / Thaynara Dannehl Hoppe ; orientadora, Daniela Brondani, 2021.
68 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau,
Graduação em Química, Blumenau, 2021.

Inclui referências.

1. Química. 2. Experimentação. 3. Método de Biureto. 4. Proteína. 5. Imagens Digitais. I. Brondani, Daniela. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Química. III. Título.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Romy que sempre acreditou no meu potencial. Agradeço a educação que recebi e por todo o apoio no decorrer da graduação.

Agradeço a todos aos familiares e amigos que foram meus alicerces e me apoiaram diretamente e indiretamente em toda a minha caminhada.

A minha amiga Yara que esteve ao meu lado durante toda a trajetória acadêmica, obrigada por ser consolo e alegria.

A minha amiga Gabriele, pela amizade e por todas as contribuições neste trabalho.

A Professora Daniela, pela oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa e por toda amizade e dedicação, desde meu ingresso na universidade até a construção deste trabalho.

Agradeço também a todos os professores que passaram por mim nesta trajetória acadêmica, com certeza levarei um pouco de cada um na minha prática docente.

Agradeço a UFSC por proporcionar a infraestrutura necessária para a realização do curso.

RESUMO

O ensino de química aliado a práticas experimentais é uma estratégia fundamental para a construção do conhecimento químico, possibilitando o estabelecimento de uma relação entre teoria e prática, que pode facilitar a aprendizagem dos educandos sobre os conceitos da química. As práticas experimentais incluem os experimentos demonstrativos realizados pelos docentes e os experimentos executados pelos próprios estudantes, e podem ser adaptadas de acordo com a realidade escolar. Este trabalho apresenta uma proposta experimental alternativa para análise colorimétrica de proteínas em amostras de alimentos. A proposta se fundamenta no método de biureto e no uso de imagens digitais obtidas e processadas com o auxílio de um aplicativo gratuito para smartphone, o PhotoMetrix. A curva de calibração e a iluminação do ambiente de captura da imagem digital foram investigados. A faixa de concentração linear foi avaliada de 0 a 3,2 g L⁻¹ de albumina de clara de ovo, empregada como padrão de proteína. Os resultados obtidos empregando-se o método de imagens digitais foram comparados aos obtidos utilizando-se um espectrofotômetro comercial (método convencional). O método proposto para quantificação de proteínas apresentou-se simples e potencialmente útil para a realização em sala de aula, possibilitando que os estudantes participem da implementação do experimento e o relacionem com os conceitos químicos estudados.

Palavras-chave: Experimentação; proteína; método de biureto; PhotoMetrix.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da interação entre o íon cúprico e as cadeias proteicas.....	19
Figura 2. Imagem monocromática e sua representação em imagem digital.....	21
Figura 3. (A) Cores primárias e as cores resultantes de suas combinações. (B) Cubo de cores RGB.....	22
Figura 4. Esquema da sequência de procedimentos empregados na metodologia experimental baseada em imagens digitais para a determinação de proteínas.....	24
Figura 5. Aparato para obtenção de imagens com iluminação controlada: (A) vista externa e (B) vista interna.....	26
Figura 6. Interface do aplicativo <i>PhotoMetrix</i>	27
Figura 7. (A) Espectro de uma solução de complexo proteína-Cu, resultante da reação entre o reativo de biureto e uma solução de proteína na concentração de 0,2 g L ⁻¹ . (B) Absorbância e cores complementares (observadas).....	28
Figura 8. Imagem fotográfica das sete soluções padrões de proteína empregadas na construção da curva de calibração após a reação com o reativo de biureto. Valores de concentração de albumina: A) 0,0; B) 0,2; C) 0,4; D) 0,9; E) 1,3; F) 1,8; e G) 2,2 g L ⁻¹	32
Figura 9. Curvas de calibração para proteína na faixa de concentração de 0,0 a 2,2 g L ⁻¹ , obtidas empregando imagens digitais: (A) em um sistema de iluminação controlada; (B) em um sistema de luz natural. Ambas construídas com o aplicativo <i>PhotoMetrix</i>	32
Figura 10. Curvas de calibração para albumina na faixa de 0,0 a 2,2 g L ⁻¹ , obtidas em (A) ambiente de luz controlada e (B) ambiente de luz natural. Inserido: uma aproximação (<i>zoom</i>) da faixa inicial das curvas. (C) Imagem fotográfica das soluções padrão utilizadas nas curvas de calibração, nas concentrações: a) 0; b) 0,05; c) 0,1; d) 0,2; e) 0,4; f) 0,9; g) 1,3; h) 1,8; e i) 2,2 g L ⁻¹	34
Figura 11. Curvas de calibração para albumina na faixa de 0,0 a 3,2 g L ⁻¹ , obtidas em (A) ambiente de luz controlada e (B) ambiente de luz natural. (C) Imagem fotográfica das soluções padrão utilizadas nas curvas de calibração, nas concentrações: a) 0; b) 0,2; c) 0,4; d) 0,9; e) 1,3; f) 1,8; g) 2,2; h) 2,4; i) 2,6; j) 2,8; k) 3,0 e l) 3,2 g L ⁻¹	34

Figura 12. Imagem fotográfica das soluções das amostras de alimento após reação com o reativo de biureto, onde: a) caldo de frango; b) suplemento *whey protein*; c) clara de ovo; d) clara de ovo diluída; e) leite desnatado e f) leite desnatado diluído....36

Figura 13. Curvas de calibração para proteína com a interpolação dos valores obtidos nas leituras das amostras de alimentos: a) caldo de frango; b) suplemento *whey protein*; c) clara de ovo; d) clara de ovo diluída; e) leite desnatado e f) leite desnatado diluído. (Ambiente de iluminação controlada).....36

Figura 14. Curvas de calibração para proteína com a interpolação dos valores obtidos nas leituras das amostras de alimentos: a) caldo de frango; b) suplemento *whey protein*; c) clara de ovo; d) clara de ovo diluída; e) leite desnatado e f) leite desnatado diluído. (Ambiente de iluminação natural).....37

Figura 15. Curvas de calibração de proteína obtidas empregando: (A) a técnica de espectrofotometria e (B) o método baseado em imagens obtidas com smartphone com auxílio do aplicativo PhotoMetrix (em um ambiente de iluminação controlada). Faixa de concentração de 0,0 a 2,2 g L⁻¹ de albumina.....39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Soluções de trabalho para a construção da curva analítica.....	28
Tabela 2. Valores de concentração de proteína em cada amostra de alimento determinados pelo método proposto, em ambiente de luz controlada e em luz natural.....	37
Tabela 3. Valores de concentração de proteína em amostras de alimentos determinados utilizando o espectrofotômetro de UV/Vis e o <i>smartphone</i> (com aplicativo PhotoMetrix) em um ambiente com iluminação controlada.....	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo Geral.....	12
2.2 Objetivos Específicos.....	12
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
3.1 A experimentação no ensino de química.....	13
3.2 Cenário das escolas brasileiras.....	15
3.3 Tecnologia de comunicação e informação (TIC).....	16
3.3.1 TIC no ensino de química.....	16
3.4 Análises colorimétricas.....	17
3.4.1 Determinação de proteínas: método biureto.....	18
3.5 Imagens digitais em análises químicas.....	19
3.5.1 Imagens digitais e os pixels.....	20
3.5.2 Imagens digitais e o modelo de cores RGB.....	21
3.6 O uso de imagens digitais em análises químicas clássicas.....	22
4 METODOLOGIA.....	24
4.1 Determinação de proteínas: método biureto adaptado.....	24
4.1.1 Reagentes, soluções e amostras.....	24
4.1.2 Instrumentos utilizados e construção de um ambiente com iluminação controlada.....	25
4.1.3 Aplicativo utilizado na análise dos padrões e amostras.....	26
4.1.4 Curva de calibração e análise das amostras.....	27
4.2 Desenvolvimento de roteiros e vídeo tutorial.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	30
5.1 Método de biureto adaptado.....	31

5.2 Otimização do ambiente de captura das imagens digitais.....	31
5.3 Otimização da faixa de concentração da curva analítica.....	33
5.4 Análise das amostras de alimentos.....	35
5.5 Avaliação do método proposto frente ao método tradicional de análise.....	39
5.6 Desenvolvimentos dos roteiros e vídeo tutorial.....	42
5.6.1 <i>Roteiro técnico.....</i>	42
5.6.2 <i>Roteiro de aplicação.....</i>	42
5.6.3 <i>Vídeo tutorial.....</i>	45
5.7 Perspectivas de continuidade do trabalho.....	45
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
7 REFERÊNCIAS.....	47
8 APÊNDICES.....	53

1 INTRODUÇÃO

A química é uma ciência experimental, a partir da qual modelos e conceitos têm sido desenvolvidos com base na observação de fenômenos naturais. Da mesma maneira, as aulas experimentais são consideradas ferramentas fundamentais para a construção do conhecimento científico. Contudo, apesar da química estar comumente fundamentada em práticas experimentais, no ensino das ciências essa realidade é bem diferente. No ensino tradicional, o conhecimento científico é na maioria das vezes somente uma reprodução de conteúdo, que é exposto em sala de aula. Essa forma de ensino reflete em inúmeras dificuldades no processo de ensino-aprendizado de tais conteúdos, pois torna distante a relação entre a teoria científica e a realidade do estudante (SANTOS; MENEZES, 2020).

Estratégias didáticas que utilizam práticas experimentais são uma ferramenta notória para estabelecer a relação entre a teoria e a prática, proporcionando um ensino mais efetivo dos conteúdos químicos. Tal atividade deve auxiliar na compreensão dos conteúdos no momento de manuseio das substâncias e também na explicação deles. Nesse processo, o estudante poderá ter condições para se apropriar das representações químicas e teorias microscópicas para explicar o macroscópico observado (GUIMARÃES, 2009).

A atividade experimental quando contextualizada permite que o estudante relacione o conteúdo científico com o seu cotidiano. Ao contrário de uma atividade experimental tecnicista que se baseia na experimentação como comprovação dos conceitos teóricos, a atividade experimental contextualizada pode ser uma facilitadora de debates por meio de problemas reais, despertando a investigação (LEITE, 2018). Os Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio corroboram essa ideia, dando destaque à contextualização, o que provoca um novo significado ao conhecimento escolar, na qual o aprendizado baseia-se em uma relação entre sujeito e objeto, possibilitando uma aprendizagem significativa (BRASIL, 1999).

A atividade experimental facilita a apropriação do conhecimento químico, podendo incluir práticas demonstrativas realizadas pelo professor e experimentos executados pelo próprio estudante. Contudo, existem diversos fatores que devem ser considerados na realização de tal atividade, tais como a infraestrutura da escola e a necessidade de reagentes e materiais (SANTOS; MENEZES, 2020). Na realidade

brasileira, a maioria das escolas da rede pública não possuem tais materiais e nem mesmo ambientes adequados para a realização de práticas experimentais. Neste cenário, cabe ao docente a busca por experimentos que utilizem materiais e equipamentos alternativos para o desenvolvimento de práticas que viabilizem aos estudantes a construção e apropriação do conhecimento científico.

Diante disso, o presente trabalho propõe uma metodologia alternativa para a realização da quantificação de proteínas em amostras de alimentos, permitindo explorar diferentes conteúdos e conceitos químicos. A proposta experimental baseia-se em imagens digitais obtidas por meio de um smartphone e um software gratuito para decomposição de cores (nas componentes vermelho, verde e azul). O método será semelhante ao espectrofotométrico, no qual a cor complementar à visualizada possui um valor de absorvância que é relacionado à concentração do analito na amostra, permitindo sua quantificação. Esta metodologia adaptada emprega reagentes e materiais de baixo custo e de fácil aquisição, possibilitando que seja realizada nos mais diversos ambientes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma metodologia adaptada e baseada em imagens digitais para a quantificação de proteínas em amostras de alimentos, empregando materiais alternativos, visando sua aplicação como experimento didático em nível de ensino médio.

2.2 Objetivos Específicos

- Adaptar o método clássico para determinação de proteínas (biureto), utilizando materiais alternativos;
- Desenvolver uma metodologia para obtenção e análise de imagens digitais, empregando o aplicativo gratuito *PhotoMetrix*, para acompanhamento da reação colorimétrica em estudo (formação complexo proteína-cobre);

- Propor a construção de uma curva de calibração baseada na intensidade de cor em função da concentração de proteína, por meio do uso de imagens digitais;
- Comparar os resultados obtidos empregando a metodologia proposta (baseada nas imagens digitais capturadas com um *smartphone*) aos resultados adquiridos por meio do método tradicional (que emprega um espectrofotômetro);
- Propor roteiros experimentais e vídeo tutorial com instruções e sugestões para a realização do experimento de quantificação de proteínas e uso do aplicativo *PhotoMetrix*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A experimentação no Ensino de Química

No século XVII a experimentação adquiriu uma função imprescindível na consolidação das ciências naturais, tendo em vista a necessidade de as leis propostas serem averiguadas com base na formulação das hipóteses, para conhecer sua consistência. Neste período, a experimentação teve papel de destaque como uma metodologia científica baseada na racionalização de procedimentos (IZAIS; PINTO, 2016).

No ambiente escolar, as atividades experimentais foram implementadas em decorrência de trabalhos universitários, tendo como intuito aperfeiçoar a aprendizagem do conhecimento científico, relacionando teoria e a prática (GALIAZZI, 2001). Entretanto, o conhecimento científico e o aspecto dinâmico da ciência na maioria das vezes são negligenciados na medida que as atividades experimentais possuem a função de somente comprovar a teoria cientificamente aceita (NOVAIS, 2018). Quando a atividade experimental é vista por esse ângulo, os estudantes apenas seguem rigorosamente o roteiro do professor e não questionam, refletem e discutem o conhecimento envolvido.

Ao trabalhar com conhecimento científico escolar não se espera que os estudantes desenvolvam uma nova lei ou teoria, e sim que se apropriem dos métodos científicos como o de observar, formular hipóteses, experimentar, registrar,

sistematizar, analisar e criar (MELO; OLIVEIRA; SOUZA, 2019). O desenvolvimento dessas habilidades é fundamental no Ensino de Química, pois favorece a construção das relações entre a teoria e a prática.

Sendo assim, um aspecto importante da experimentação é a possibilidade de viabilização do desenvolvimento de discussões que contemplem os três níveis do conhecimento químico: macroscópico, microscópico e o simbólico. O nível macroscópico corresponde aos fenômenos químicos que são observáveis e perceptíveis por meio dos sentidos. O nível microscópico condiz com as representações abstratas, como movimentos e arranjo de moléculas e átomos. Por último, o nível simbólico relaciona-se com as fórmulas, equações e estruturas (PAULETTI; ROSA; CATELLI, 2014). É de suma importância que o conteúdo químico seja trabalhado articulando-se esses três níveis para o desenvolvimento de um conhecimento mais concreto.

O ensino da ciência deve estar incorporado no cotidiano escolar para que o estudante possa desenvolver as habilidades da atividade científica. Corroborando com tal ideia, o Parâmetro Curricular Nacional (PCN) (BRASIL, 2000) aponta que, no Ensino de Química, a experimentação deve ser caracterizada como parte da vida escolar e cotidiana dos estudantes.

Outro aspecto importante viabilizado pelas atividades experimentais é o desenvolvimento de um ensino contextualizado. A contextualização dos conhecimentos teve início com a reforma do ensino médio, apoiada na Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional (LDB-9.394/97) que recomenda o desenvolvimento do conhecimento considerando o contexto social dos educandos. De modo semelhante a LDB, os PCN apontam um Ensino de Química baseado na relação entre o conhecimento científico e o contexto social. Ressalta-se que a contextualização não é realizar uma ligação superficial entre o conteúdo de sala de aula e o cotidiano do estudante com exemplos, ilustrações, etc. Contextualizar o Ensino de Química é apresentar “situações problemáticas reais e buscar o conhecimento necessário para entendê-las e procurar solucioná-las” (PCN+) (BRASIL, 2000). O Ensino de Química contextualizado visa não somente a consolidação do conhecimento científico escolar, mas também o desenvolvimento cidadão do estudante.

Em resumo, as atividades experimentais possuem grande potencial em despertar o interesse dos estudantes, sendo esta uma ferramenta importante para a promoção do processo de ensino-aprendizagem.

3.2 Cenários das escolas brasileiras

Segundo o Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (INEP), em 2019, o cenário das escolas de Ensino Médio foi o seguinte: 87,0% das escolas federais possuem laboratório de ciências, entre as escolas municipais somente 30,9% das escolas dispõem de tal espaço e entre as escolas de ensino médio estaduais 40,9% possuem laboratório de ciências em sua infraestrutura (BRASIL, 2020).

Esses dados revelam que uma baixa parcela das escolas de ensino médio dispõe de laboratório de ciências, mas não apresentam informações sobre a realidade desses laboratórios e se estão aptos para o desenvolvimento de atividades de ensino. Além disso, a existência de um laboratório de ciências não garante o desenvolvimento de atividades experimentais de forma constante e tampouco o êxito no ensino (PEREIRA; MANDACARI, 2018). Vários fatores podem se tornar empecilhos para o desenvolvimento de atividades experimentais, tais como o elevado número de estudantes por turma, falta de materiais e manutenção no laboratório, falta de apoio/incentivo da direção/coordenação, etc. (ANDRADE; COSTA, 2016).

O laboratório de ciências no ambiente escolar pode ser associado a qualquer espaço físico diferente da sala de aula, que possua alguns equipamentos, materiais instrumentais, reagentes e vidrarias (PEREIRA; CONCEIÇÃO, 2019). Ressalta-se também que laboratório pode ser qualquer espaço físico que seja destinado as atividades experimentais, pois “é possível, de acordo com a realidade de cada escola que o professor realize adaptações nas suas aulas práticas a partir do material existente e, ainda, utilize materiais de baixo custo e de fácil acesso” (BEREZUK; INADA, 2010, 207p). Isto significa que o laboratório de ciência é um conceito que pode se expandir para diversos espaços que permitam a investigação experimental e construção do conhecimento científico.

Em escolas que não possuem um laboratório de ciências, é comum que ocorra a utilização de outros espaços, tais como: bibliotecas, salas de aula, espaços de

convivência, para a realização de atividades experimentais (em geral esporádicas), podendo ou não estes espaços passarem por adaptações para este fim. Aqui vale ressaltar que o laboratório de ciências ou qualquer outro espaço deve atender as normas básicas de segurança, com reagentes armazenados em local apropriado e a disponibilidade de material de proteção individual (EPI) a todos os envolvidos na prática (FARIA et al., 2019).

3.3 Tecnologias de comunicação e informação (TIC)

O progresso no desenvolvimento das Tecnologias de Informação e Comunicação (TIC) desencadeou um crescente acesso da população aos dispositivos móveis como *smartphones*, *tablets* e *laptops*, e o ambiente escolar não ficou de fora dessa difusão tecnológica.

As TIC englobam dispositivos eletrônicos que mediam o processo de informação e comunicação entre sujeitos, promovendo processos automáticos e facilidade de troca de mensagens, sendo utilizadas em negócios, pesquisas científicas e na prática pedagógica (DIONÍZIO et al., 2019). A utilização destes recursos como estratégia didática pode ser uma aliada do docente, pois, além de serem ferramentas promissoras, podem tornar o conteúdo menos abstrato, mais dinâmico e motivador.

No ambiente escolar a utilização de TIC como agente mediador no processo de ensino-aprendizagem possibilita uma interação do indivíduo com o mundo e coloca o estudante a frente do seu processo de ensino-aprendizagem (GIORDAN, 2005). Neste cenário, há uma mudança no papel do professor em sala de aula, antes visto como detentor do conhecimento e agora tornando-se o mediador do conhecimento (FIRMINO, 2019).

3.3.1 TIC no Ensino de Química

A química é uma ciência experimental, o que torna as atividades práticas essenciais para a completa compreensão de seus fenômenos. Em sala de aula os conteúdos teóricos são ministrados, mas geralmente sem a realização de qualquer atividade experimental. A maior parte das instituições não dispõem de um laboratório ou quando dispõem enfrenta diversas dificuldades, tais como: falta de materiais e

reagentes, o número elevado de discentes em sala de aula, entre outros (MACHADO; MÓL, 2008). Deste modo, se faz necessário que o professor busque diferentes metodologias para suprir essa lacuna e neste contexto as TIC são uma ferramenta promissora.

As TIC podem ser uma ferramenta de ensino poderosa, por exemplo, para facilitar a compreensão do nível microscópico da química, que muitas vezes se torna abstrato para os estudantes pela falta de visualização dos fenômenos. Neste sentido, *softwares* livres podem ser utilizados para auxiliar no esclarecimento de conceitos, permitindo que os estudantes possam visualizar e interagir com representações de orbitais atômicos e reações químicas, por exemplo (DIONÍZIO et al., 2019).

A utilização das TIC também viabiliza que o ensino dos conhecimentos químicos seja realizado de maneira contextualizada promovendo uma aprendizagem significativa. De acordo com Lima e Moita (2011),

a Química que nos circunda tem seus fundamentos negligenciados ao ser ensinada na escola, porquanto, não raras vezes, é trabalhada superficialmente, desconsiderando-se toda a sua abrangência. Porém, se sua implantação for planejada, pode propiciar um conjunto de práticas preestabelecidas que têm o propósito de contribuir para que os alunos se apropriem de conteúdos sociais e culturais de maneira crítica e construtiva (LIMA; MOITA, 2011, p. 133-134).

Adicionalmente, a utilização das TIC nas aulas de química oferece uma oportunidade de inovação no processo de ensino-aprendizagem e inclui efetivamente o conhecimento tecnológico na trajetória escolar do estudante.

3.4 Análises colorimétricas

Diariamente são realizadas inúmeras análises químicas para identificação de diferentes substâncias e suas respectivas quantidades em diversas amostras, tais como em laboratórios de análises clínicas, no controle de qualidade de indústrias do setor alimentício, higiene e limpeza, farmacêutico, etc. Essas análises podem ser classificadas de acordo com a sua finalidade em “qualitativas” e “quantitativas”. As análises qualitativas identificam a presença de uma determinada substância, enquanto as análises quantitativas determinam a quantidade desta substância na amostra (SKOOG et al., 2006).

A colorimetria e a espectrofotometria são técnicas amplamente utilizadas para a realização de análises qualitativas e quantitativas de espécies químicas coloridas mediante a absorção de energia radiante (luz). Atualmente, o espectrofotômetro é o instrumento de análise mais empregado para a quantificação de compostos coloridos, pois permite análises de absorbância e transmitância na região do visível do espectro eletromagnético com elevada eficiência (SKOOG et al., 2006).

Um exemplo de análise baseado em cor é a determinação de proteínas a partir da formação de um complexo colorido com íons cobre(II). Desta forma, a quantidade (concentração) de proteínas pode ser determinada por meio da intensidade da cor azul do composto formado, ou seja, quanto maior intensidade maior a concentração de proteínas na amostra analisada.

3.4.1 Determinação de proteínas: método biureto

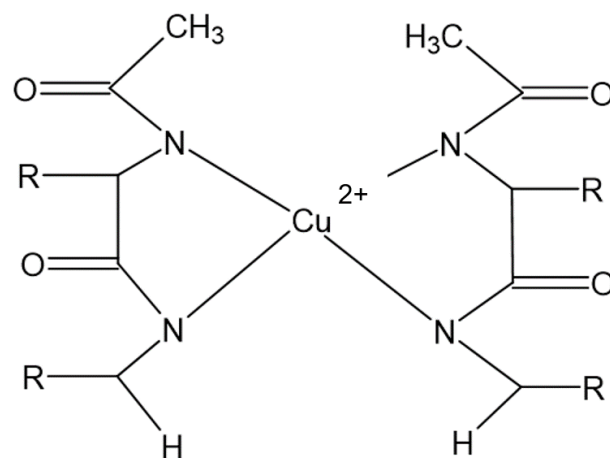
O método biureto foi proposto pela primeira vez em 1915 por Autenrieth, tendo sofrido várias modificações até se tornar a metodologia utilizada atualmente, proposta por Gornall e colaboradores (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949). Neste método, é utilizado o reativo de biureto, uma solução de sal de cobre e hidróxido de sódio. Na proposta mais recente é recomendado o emprego do tartarato de sódio como agente estabilizante dos íons cobre em solução. Os íons cobre(II), em meio básico, de ligam às cadeias das proteínas, formando um complexo quadrado planar de coloração azul-violeta, cuja estrutura está representada na Figura 1. O produto desta reação apresenta duas bandas de absorção, uma em 270 nm e outra em 540 nm, sendo a banda em 540 nm a mais seletiva e, portanto, a mais utilizada, em virtude de diversas outras espécies absorverem em 270 nm (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998).

Os complexos metálicos (ou compostos de coordenação) são estruturas que possuem um átomo central (geralmente um metal) envolto por outras moléculas denominadas de ligantes (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014). Os complexos metálicos são em sua grande maioria compostos coloridos, ou seja, absorvem luz na região do visível, a qual abrange a faixa de comprimento de onda de 400 a 700 nm. O que confere cor a esses compostos é a promoção de um elétron de um estado de menor energia (estado fundamental) a um estado de maior energia (estado excitado) (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014). A coloração de um composto, que vemos a

olho nu, pode ser resultante da reflexão da luz da cor complementar ou pela absorção da luz da cor complementar a cor observada (ALMEIDA et al., 2013).

O método de biureto é um método clássico para a quantificação de proteínas e continua sendo empregado em diversas amostras, tais como em fertilizantes e suplementos alimentares. Além disto, por exemplo, esse método é recomendado pela Associação Americana de Análises Clínicas para a determinação da concentração de proteínas em plasma sanguíneo (ALMEIDA et al., 2013).

Figura 1. Representação da interação entre o íon cúprico e as cadeias proteicas.



3.5 Imagens digitais em análises químicas

Estudos recentes investigam a utilização de imagens digitais para a quantificação de compostos químicos coloridos. Esta técnica tem se mostrado bastante promissora, pois apresenta baixo custo e fácil implementação, além de proporcionar resultados semelhantes às técnicas clássicas espectrofotométricas. Esta estratégia se fundamenta nas informações pertencentes à cor de imagens digitais oriundas de compostos químicos capazes de absorver na região do visível. A imagem digital apresenta a coloração da radiação emitida, a qual é complementar à radiação absorvida por estes compostos coloridos (LYRA et al., 2009).

O desenvolvimento das tecnologias para aquisição e processamento de imagens em *smartphones* possibilitou a realização de análises colorimétricas com o uso destes aparelhos, sem a necessidade de instrumentos analíticos específicos e de

elevado custo. A quantificação de espécies químicas através do uso e tratamento de imagens digitais tem despertado o interesse da comunidade científica por ser uma técnica de fácil uso e com o custo reduzido (BARBOSA et al., 2016). Imagens digitais podem ser utilizadas para a quantificação de substâncias que absorvem radiação na região do visível, pois estas imagens irão conter a coloração refletida por estas espécies, a qual é complementar à radiação absorvida. A técnica que emprega imagens digitais é fundamentada no fenômeno de absorção molecular, sendo assim análoga à espectrofotometria na região do visível (LYRA et al., 2009).

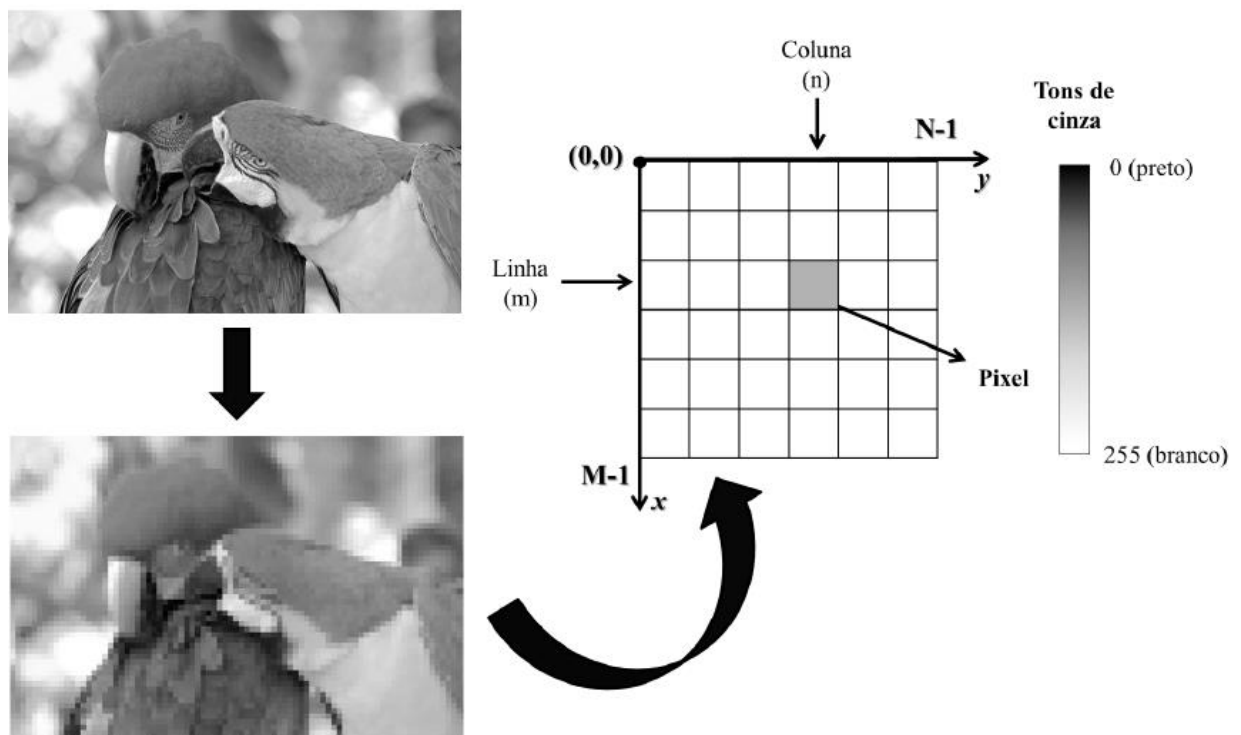
3.5.1 Imagens digitais e os pixels

A imagem digital é a representação de uma cena em forma bidimensional e se baseia em duas etapas: aquisição e digitalização. As imagens digitais podem ser obtidas por diversos aparelhos como câmeras digitais, celulares, webcam, scanners, microscópios eletrônicos, dentre outros aparelhos (SOUZA et al., 2014). Esses equipamentos captam uma cena em forma tridimensional e convertem em uma imagem analógica, esse processo é chamado de transdução optoeletrônica. Os responsáveis pela redução da dimensionalidade em dispositivos eletrônicos é um sensor, o mais utilizado é o CCD (*Charge Coupled Device* – Dispositivo de Carga Acoplada), sua função é converter a energia luminosa emitida pelo objeto em sinal elétrico (DAMASCENO et al., 2015).

Para que uma imagem digital seja processada por um dispositivo, como computador ou *smatphone*, é necessário que ela seja digitalizada, ou seja, convertida em números na forma de matriz como arranjos bidimensionais de pontos (GOMES et al., 2008). Na digitalização, a imagem é convertida em uma matriz $M \times N$ quadrados (dados na horizontal e vertical) de tamanhos iguais, como pode-se observar na representação apresentada na Figura 2. Cada quadrado da imagem é denominado pixel (elemento de imagem) e está associado a um valor numérico da intensidade de cor naquele ponto (SOLOMON; BRECKON, 2011). Cada pixel da imagem pode conter até 256 níveis de cores, variando do 0 ao 255 (DAMASCENO et al., 2015). Por exemplo, em uma imagem digital monocromática os valores de cada pixel podem variar do preto que possui o valor 0 ao branco com valor de 255.

A probabilidade de uma imagem conter pixels de um mesmo valor de cor e intensidade pode ser representada por um histograma. O histograma contém a distribuição da frequência dos valores que um pixel pode conter, isto é, quantas vezes um valor de cor variando do 0-255 pode ser encontrada em uma imagem. Em uma imagem monocromática que possui diferentes tons de cinza, o seu histograma irá indicar o percentual de pixels para cada nível da cor (MENDONÇA, 2017).

Figura 2. Imagem monocromática e sua representação em imagem digital.



(Fonte: GONÇALVES, 2015)

3.5.2 Imagens digitais e o modelo de cores RGB

O modelo de cores RGB corresponde às três cores primárias (*Red*/vermelho, *Green*/verde e *Blue*/azul), sendo o mais utilizado para a representação da imagem digital e o mais comumente empregado em monitores e televisores (NETO; FONSECA; BRAGA, 2016).

O modelo RGB fundamenta-se no método de formação de cores do olho humano, deste modo a combinação das cores primárias em diversos níveis de intensidade pode resultar em todas as cores existentes no espectro da região visível. A combinação de duas cores primárias resultará em uma cor secundária (conforme

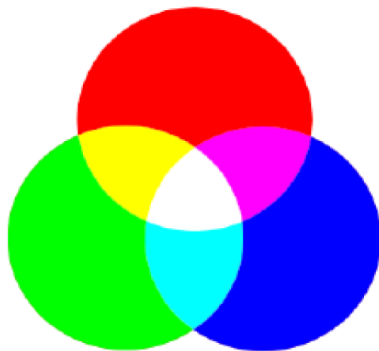
Figura 3-A), sendo as cores ciano, magenta e amarelo opostas às cores vermelho, verde e azul. A cor branca é formada na mistura equitativa das três cores primárias. As demais cores são produzidas na combinação de duas cores primárias:

- vermelho + azul = magenta;
- vermelho + verde = amarelo e
- verde + azul = ciano.

Variando o nível de intensidade das cores primárias é possível obter inúmeras cores secundárias.

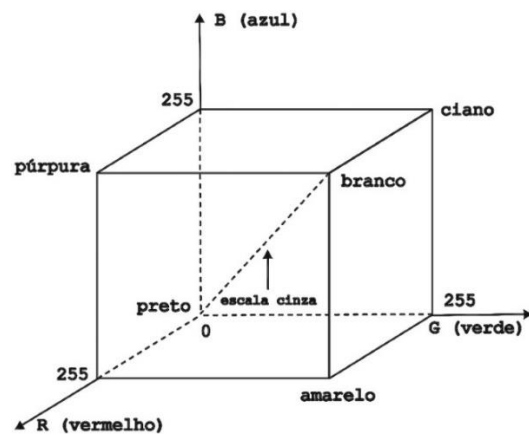
Figura 3. (A) Cores primárias e as cores resultantes de suas combinações. (B) Cubo de cores RGB.

(A)



(Fonte: GONÇALVES, 2015)

(B)



(Fonte: DAMASCENO; et al. 2015)

O modelo RGB ainda pode ser representado por um sistema de coordenadas cartesianas, resultando em um cubo sólido denominado de cubo de cores (DAMASCENO et al., 2015), representado na Figura 3-B. Em três vértices do cubo estão os valores de RGB e nos outros três as cores opostas ciano, magenta e amarelo. A cor preta está localizada na origem (0, 0, 0), a cor branca no ponto mais distante da origem (255, 255, 255) e na diagonal entre esses dois pontos tem-se a escala de cinza.

3.6 O uso de imagens digitais em análises químicas clássicas

As imagens digitais vêm sendo amplamente empregadas para a identificação e quantificação de espécies em diferentes áreas, com especial destaque na química. Exemplos de aplicações de imagens digitais em análises químicas são bastante

diversos e, em sua maioria, são baseados em adaptações (ou inspirações) de metodologias clássicas espectrofotométricas.

Recentemente Gee *et al.* (2017) utilizaram as imagens digitais capturadas por um *smartphone* para a quantificação de proteínas. Para isso, os autores utilizaram os métodos de Bradford e biureto, empregando a albumina de soro bovino como padrão de proteína para a construção da curva de calibração. As imagens digitais foram obtidas pela câmera de um *smartphone* e os componentes RGB foram decompostos utilizando softwares como *Adobe Photoshop* ou *ImageJ*. Os autores também recomendam o uso do aplicativo *Colorômetro* para iOS e *Code Picker* para Android. O método colorimétrico baseado em imagens digitais foi comparado ao método clássico que emprega um espectrofotômetro UV/Vis, e os autores concluíram que o uso de câmeras de *smartphone* são eficientes para esse tipo de análise.

Damasceno *et al.* (2015) empregaram imagens digitais para a determinação do pH em amostras de águas potáveis. Através da análise multivariada das imagens de padrões, uma curva de calibração foi construída e a partir dela foram determinados os valores de pH das amostras. Para a captura das imagens digitais, os pesquisadores utilizaram um *scanner* de mesa e posteriormente as imagens foram processadas no *software GNU Octave*. Os autores relataram que não houve diferenças significativas entre o emprego das imagens digitais para a determinação do pH e dos valores obtidos com um pHmetro.

Ledesma e colaboradores (2019) utilizaram as imagens digitais para determinar a constante de equilíbrio para a reação dos íons ferro (Fe^{3+}) com tiocianato (SCN^-), que resulta na formação de um complexo de coloração vermelha intensa. As imagens digitais foram obtidas com um *scanner* de mesa e os dados foram trabalhados com planilhas do *Microsoft Excel*. Segundo os autores, os valores de constantes de equilíbrio obtidas apresentaram um intervalo de confiança de 95%.

Bazani (2019) realizou a determinação do teor de fenólicos e da atividade antioxidante de tomate e de morango utilizando método alternativo e o emprego de imagens digitais. De acordo com o autor, os dados obtidos com o *smartphone* se assemelham aos do espectrofotômetro, fato esse comprovado por testes estatísticos.

Em suma, as imagens digitais possuem uma ampla aplicação e podem ser obtidas utilizando diferentes dispositivos de registro de imagens. Todos os trabalhos mencionados empregaram as imagens digitais em atividades experimentais

abrangendo diversos temas e conceitos da química, ratificando como essa metodologia pode ser aplicada para o ensino de química.

4 METODOLOGIA

4.1 Determinação de proteínas: método biureto adaptado

A determinação de proteínas em amostras de alimentos foi baseada no método de biureto. Esse método clássico foi modificado empregando materiais alternativos e as análises foram realizadas a partir de um aplicativo para *smartphone* (denominado de *PhotoMetrix*). A sequência de procedimentos para a realização da determinação de proteínas pode ser visualizada na Figura 4, e encontra-se detalhada nas próximas seções deste capítulo.

Figura 4. Esquema da sequência de procedimentos empregados na metodologia experimental baseada em imagens digitais para a determinação de proteínas.



4.1.1 Reagentes, soluções e amostras

Os reagentes utilizados no reativo biureto foram adquiridos comercialmente, sendo eles: hidróxido de sódio (NaOH), sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e antiácido efervescente “sal de frutas” sem sabor.

Para o preparo do reativo de biureto, o complexante tartarato de sódio e potássio foi substituído pelo antiácido efervescente. Deste modo, o reativo de biureto

modificado foi preparado dissolvendo 5,0 g de sal de fruta sem sabor (1 envelope) em 100 mL de água, ao final da efervescência foram dissolvidos 1,2 g de sulfato de cobre e hidróxido de sódio (avaliou-se as seguintes massas: 1,0 g e 1,6 g).

A solução padrão de proteína (estoque) utilizada na construção da curva de calibração foi preparada na concentração de 3,3 g L⁻¹ de albumina de clara de ovo. Esse reagente também foi obtido comercialmente (em loja de suplementos alimentares), com pureza de 80%, a qual foi considerada nos cálculos para preparo da solução estoque.

Para avaliação do método proposto, este foi aplicado na determinação de proteínas em amostras selecionadas de alimentos. As amostras previamente selecionadas foram: leite desnatado (marca Tirol), clara de ovo, caldo de frango (marca Maggi) e suplemento alimentar (*whey protein*) (marca Probiotica). As amostras de caldo de frango e *whey protein* foram preparadas solubilizando 0,3 g do pó em 100 mL de água, em seguida uma alíquota de 5 mL da amostra reagiu com 2,5 mL do reativo de biureto por 15 minutos. As amostras de clara de ovo e de leite desnatado foram analisadas em sua forma pura e diluída. A solução diluída foi preparada utilizando 2,5 mL da amostra e 2,5 mL de água. Em seguida uma alíquota de 5 mL da amostra reagiu com 2,5 mL do reativo de biureto pelo mesmo tempo.

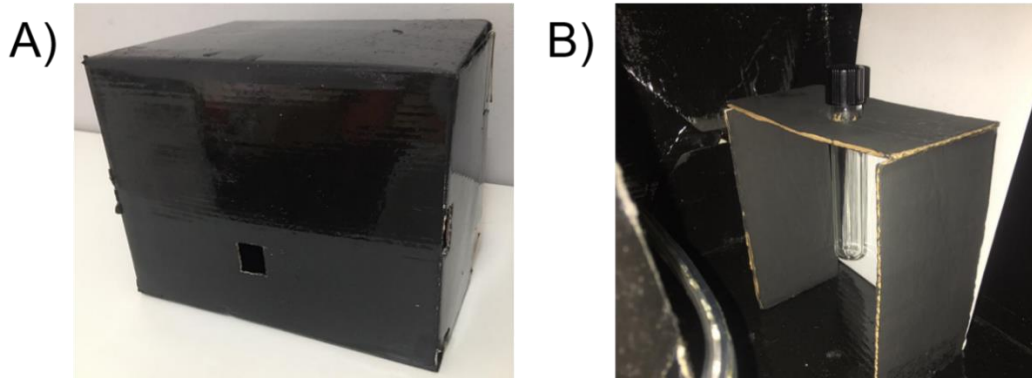
4.1.2 Instrumentos utilizados e construção de um ambiente com iluminação controlada

Para a medição das massas de reagentes, padrões e amostras empregadas no preparo das soluções foi utilizada uma balança digital de cozinha. As imagens digitais foram obtidas empregando-se um *smartphone* iPhone (modelo 6s Plus).

O ambiente de luz controlada para captura das imagens digitais foi construído utilizando uma caixa de papelão preta com dimensões 24x19x19 (largura x comprimento x altura). A iluminação interna é feita com uma fita de diodos emissores de luz branca (LED 5 W), os quais foram fixados na parte superior da caixa, que se localiza cerca de 6 cm da amostra. Os frascos são trocados pela lateral da caixa, que tem uma parte removível. Na Figura 5-A é possível visualizar o aparato completamente montado e na Figura 5-B o seu interior. Na parte externa da caixa há um suporte para acomodar o *smartphone* bem como um orifício com cerca de 2 cm

de diâmetro, o qual é alinhado com a câmera do celular e com o suporte do frasco da amostra.

Figura 5. Aparato para obtenção de imagens com iluminação controlada: (A) vista externa e (B) vista interna.



No interior da caixa há um suporte para o frasco da amostra, construído com papelão e posicionado a 5 cm do smartphone. O fundo da amostra foi pintado de branco para construir um fundo neutro para a captura da imagem. Os frascos utilizados para as amostras foram tubos de ensaios que continham aproximadamente 12 mL e 1,5 cm de diâmetro e 10 cm de altura.

4.1.3 Aplicativo utilizado na análise dos padrões e amostras

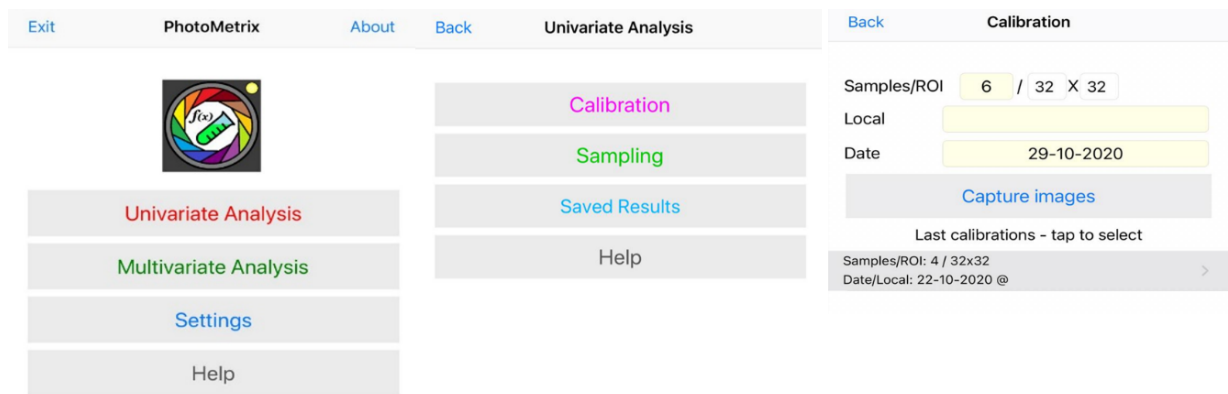
O aplicativo *Photometrix* (HELPER *et al.*, 2017) foi utilizado para a calibração e quantificação colorimétrica de proteínas nas amostras de alimentos selecionadas. O aplicativo encontra-se disponível gratuitamente para *smartphones* com sistema operacional Android (na *Google Play Store*) ou sistema operacional iOS (na *Apple Store*).

A interface inicial do aplicativo (Figura 6) possui as opções de análise univariada ou multivariada, configurações e informações sobre o aplicativo. A análise univariada será aplicada para as análises quantitativas deste trabalho. Após a seleção da análise univariada, o aplicativo dispõe das opções de calibração, amostragem, resultados salvos e ajuda.

Primeiramente, foi realizada a construção da curva de calibração, e para isso foi selecionada a opção *calibration* e em seguida foi indicado o número de padrões

(pontos) utilizados para a construção da curva. Em seguida, as imagens das amostras foram capturadas selecionando-se a opção *capture images*. Nesta opção, o aplicativo habilita a câmera do smartphone e no espaço indicado a solução foi nomeada com a concentração que ela corresponde. Para a obtenção das imagens digitais das demais soluções a mesma metodologia foi seguida. Após a construção da curva de calibração, passou-se a etapa de análise das amostras de alimentos.

Figura 6. Interface do aplicativo *PhotoMetrix*.



A captura das imagens das amostras de alimentos foi feita selecionando a opção *sampling*, em seguida o número de amostras foi indicado para então realizar a obtenção das imagens digitais. Ao término das leituras, a curva de calibração previamente construída foi selecionada (para extrapolação dos dados de coloração das amostras) e as concentrações de proteína das amostras analisadas foram finalmente apresentadas pelo aplicativo.

4.1.4 Curva de calibração e análise das amostras

A curva de calibração foi construída com soluções padrões com diferentes concentrações de proteína e a faixa mais apropriada para a análise das amostras de alimentos foi investigada. Inicialmente, a faixa de concentração utilizada foi de 0,0 a 2,2 g L⁻¹ de albumina de clara de ovo, a fim de se avaliar a faixa linear. Posteriormente, foi avaliado a inclusão de concentrações inferiores a 0,2 g L⁻¹ e superiores a 2,2 g L⁻¹ na curva de calibração, com a intenção de aumentar a faixa de trabalho.

Para a construção da curva, a solução padrão de proteína foi misturada ao reativo de biureto para formação do complexo colorido. Os volumes da solução padrão de proteína ($3,3 \text{ g L}^{-1}$), do reativo de biureto e de água empregados nas análises em cada ponto da curva inicial estão indicados na Tabela 1. A imagem digital de cada solução foi obtida conforme descrito na seção 4.1.3.

Tabela 1. Preparação das soluções usadas na construção da curva de calibração, empregando uma solução estoque de albumina de clara de ovo ($3,3 \text{ g L}^{-1}$) como padrão de proteína.

Tubo	Solução estoque padrão de proteína (mL)	Água (mL)	Reativo de biureto (mL)	Concentração de proteína (g L^{-1}) (solução resultante)
1	0	5,0	2,5	0
2	0,5	4,5	2,5	0,2
3	1,0	4,0	2,5	0,4
4	2,0	3,0	2,5	0,9
5	3,0	2,0	2,5	1,3
6	4,0	1,0	2,5	1,8
7	5,0	0	2,5	2,2

Para otimizar o sistema, investigou-se a interferência da luminosidade durante a captura das imagens digitais. Para isso, foram realizados testes em um ambiente com iluminação controlada e sob a iluminação natural. Em ambos os ambientes foram utilizadas as mesmas concentrações de amostras e seguiram-se os mesmos passos descritos na seção 4.1.3 para a captura das imagens.

O experimento de determinação de proteína nas amostras de alimentos foi realizado misturando-se 5,0 mL de cada amostra com 2,5 mL do reativo de biureto, deixando-se reagir por aproximadamente 15 minutos. Por fim, a imagem digital da solução colorida gerada foi capturada e analisada com auxílio do aplicativo *Photometrix*.

Para avaliar o método proposto, realizou-se a comparação dos resultados deste método com os obtidos utilizando o método espectrofotométrico clássico (CARO, 2015). No método comparativo empregou-se um espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-1800, que foi utilizado para construção da curva de calibração e análise das amostras de alimentos selecionadas.

4.2 Desenvolvimento de roteiros de apoio e vídeo tutorial

Roteiros de apoio foram desenvolvidos para apresentar orientações e instruções para a realização do experimento didático de determinação de proteína baseada em imagens digitais, bem como um vídeo tutorial para que estudantes e professores possam realizar o experimento mais facilmente. Os roteiros foram divididos em: um roteiro técnico e dois roteiros de aplicação da metodologia de análise proposta, sendo um direcionado aos estudantes e outro aos professores.

O roteiro técnico para o uso do aplicativo *Photometrix* apresenta uma introdução do aplicativo e seu emprego na obtenção das imagens digitais para fins analíticos. Nele são descritas as instruções de como realizar o *download* e o seu manuseio para a construção da curva e análise das amostras.

Os roteiros de aplicação têm o objetivo de instruir e apresentar sugestões para adoção da proposta experimental apresentada nesta pesquisa nas aulas de química da educação básica (Ensino Médio), bem como apresentar elementos teóricos que auxiliem nas discussões teóricas que permeiam o experimento.

O roteiro de aplicação do professor apresenta uma proposta didática para a aplicação do experimento e detalha ao professor as possibilidades a serem alcançadas com a prática. A atividade prática é detalhada em um quadro sintético que indica o conteúdo e os objetivos a serem alcançados. Em seguida a proposta é dividida em dois momentos pedagógicos, sendo o primeiro uma fundamentação teórica e o segundo a atividade experimental. A fundamentação teórica aborda os princípios da técnica de espectrometria de UV/Vis e o uso de imagens digitais na química. Os objetivos e habilidades desenvolvidas em cada momento são indicados no roteiro. Em seguida, a execução do experimento está detalhada e por fim, uma proposta de avaliação é apresentada.

Visando facilitar o acesso às instruções da prática, um roteiro direcionado para os estudantes foi desenvolvido. Este roteiro apresenta uma breve apresentação sobre o método de biureto para a determinação de proteína, os reagentes e materiais utilizados na prática, seguido da descrição do preparo das soluções e dos procedimentos para análise. Este roteiro juntamente com o roteiro técnico poderá ser entregue aos estudantes como material de apoio para guiar seus estudos.

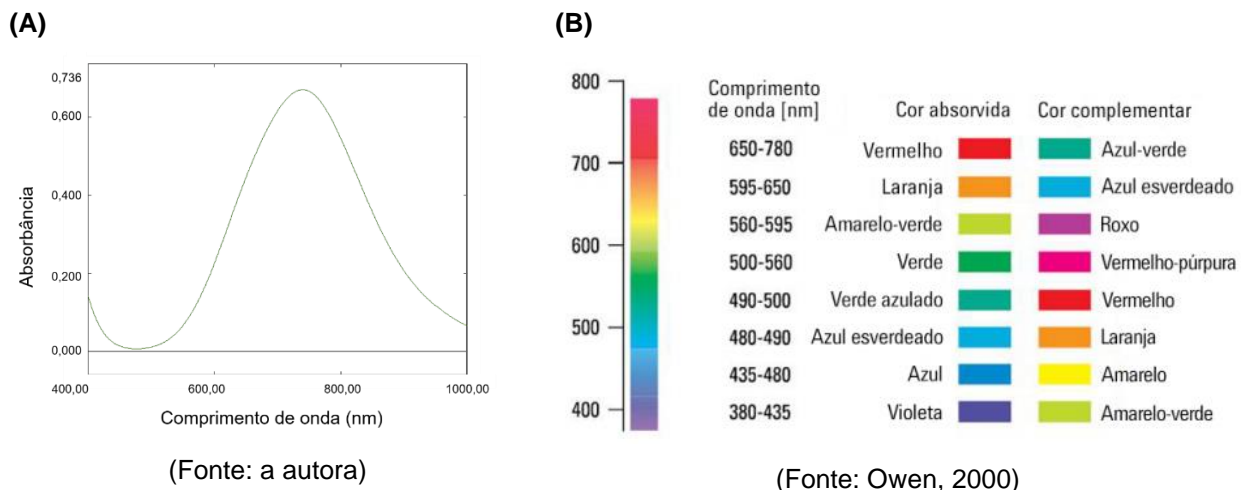
O vídeo tutorial tem como objetivo instruir os estudantes e professores na utilização do aplicativo e também na realização do experimento. Nele é exposto a utilização do aplicativo *PhotoMetrix* e sua configuração para a realização da prática. Além disto, a metodologia experimental é demonstrada, e são destacados alguns parâmetros essenciais para a prática, tais como: iluminação, distância câmera-solução, ângulo da captura, etc.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método colorimétrico baseado na reação de biureto consiste na reação entre o reativo de biureto e moléculas de proteína em meio alcalino, resultando em um complexo quadrado planar de coloração azul.

A Figura 7-A mostra um espectro obtido experimentalmente para uma solução do produto formado na reação entre o reativo de biureto e uma solução de proteína na concentração de $0,2 \text{ g L}^{-1}$. Como pode ser observado no espectro, o máximo de absorção do complexo proteína-Cu ocorre no comprimento de onda de 740 nm. Isto indica que a solução absorve radiação correspondente a cor vermelha e a cor observada (complementar) é azul-esverdeada. O olho humano enxerga a cor complementar àquela que é absorvida, conforme apresentado na Figura 7-B. Portanto, as imagens digitais empregadas como metodologia de análise foram acompanhadas em função da variação da componente R (red) do sistema RGB.

Figura 7. (A) Espectro de uma solução de complexo proteína-Cu, resultante da reação entre o reativo de biureto e uma solução de albumina de clara de ovo. (B) Absorbância e cores complementares.



5.1 Método de biureto adaptado

O método de biureto clássico utiliza como reagentes o sulfato de cobre (encontrado em lojas de produtos para agricultura e jardinagem (fungicida) e para tratamento de piscina (algicida)), o hidróxido de sódio (“soda cáustica” encontrado em mercados) e tartarato de sódio e potássio (vendido em lojas especializadas em produtos químicos).

O hidróxido de sódio é utilizado como alcalinizante do meio promovendo um ambiente adequado para a reação. A massa desse reagente foi investigada utilizando 1,0 g e 1,6 g para o preparo do reativo de biureto. A utilização de 1,6 g de hidróxido de sódio atribuiu uma alta turbidez à solução, por outro lado a massa de 1,0 g não provocou o mesmo problema. Deste modo, a massa de hidróxido de sódio empregada para o preparo do reativo de biureto foi de 1,0 g.

O tartarato de sódio é empregado como estabilizante dos íons cobre, evitando a precipitação e mantendo-os em solução. Todavia, esse reagente não é muito fácil de adquirir e a sua ausência causa a precipitação dos íons na forma de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ (DIAS, 2006), deste modo foi realizada a substituição do tartarato de sódio e potássio por um antiácido efervescente (“sal de frutas” encontrado em farmácias), que apresenta na sua composição: bicarbonato de sódio, carbonato de sódio e ácido cítrico. Neste caso, propõem-se que o ácido cítrico contido no antiácido atue como agente estabilizante dos íons cobre (RODRIGUES, 2006).

5.2 Otimização do ambiente de captura das imagens digitais

Como a iluminação influencia diretamente na cor dos objetos e soluções, estes apresentam mudanças muitas vezes significativas na aparência da cor quando submetidos a diferentes fontes luminosas. Por esta razão, as curvas de calibração foram obtidas a partir do método colorimétrico (sistema RGB) em um sistema de iluminação controlada, utilizando o aparato construído para tal fim, e também em um ambiente com luz natural.

A Figura 8 apresenta uma imagem das soluções padrão de proteína após reação com o reativo de biureto empregadas na obtenção da curva de calibração, em um sistema de iluminação controlada (Figura 9-A) e em um ambiente com luz natural

(Figura 9-B). A partir desta imagem é possível observar que há uma mudança na intensidade de coloração azul proporcional ao aumento de concentração de proteína. Essa mesma relação pode ser observada no perfil das curvas de calibração (Figura 11-A e B), onde essa relação é proporcional e linear nessa faixa de concentração.

Figura 8. Imagem fotográfica das sete soluções padrão de proteína empregadas na construção da curva de calibração após a reação com o reativo de biureto. Valores de concentração de albumina: A) 0,0; B) 0,2; C) 0,4; D) 0,9; E) 1,3; F) 1,8; e G) 2,2 g L⁻¹.

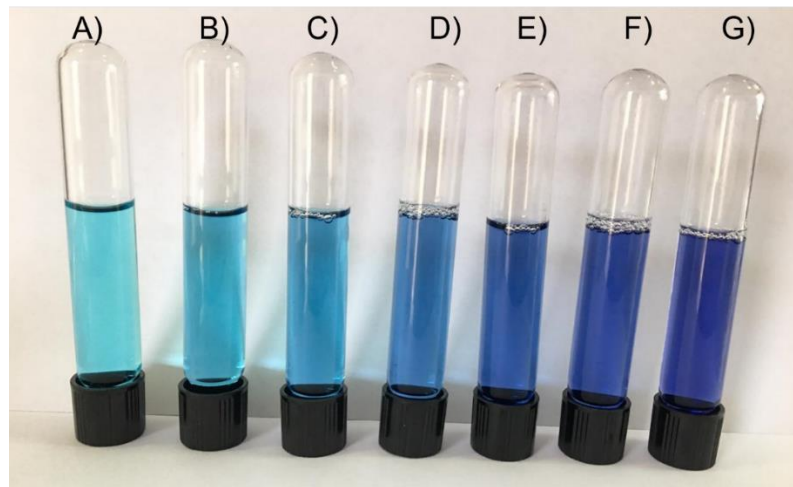
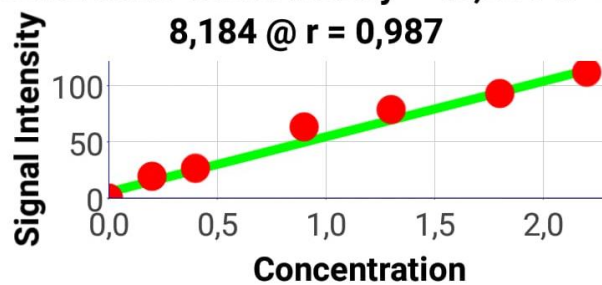
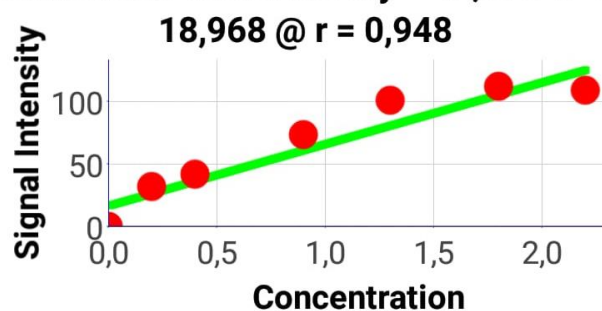


Figura 9. Curvas de calibração para proteína na faixa de concentração de 0,0 a 2,2 g L⁻¹, obtidas empregando imagens digitais: (A) em um sistema de iluminação controlada; (B) em um sistema de luz natural. Ambas construídas com o aplicativo PhotoMetrix.

(A) **Calibration Vector RGB: $y = 49,354 \cdot x + 8,184$ @ $r = 0,987$**



(B) **Calibration Vector RGB: $y = 49,376 \cdot x + 18,968$ @ $r = 0,948$**



A Figura 9-A mostra a curva de calibração obtida em um sistema de iluminação controlada, a qual apresentou uma equação linear descrita por $y = 49,354 x + 8,184$, com um coeficiente de relação $R^2 = 0,974$. A Figura 9-B mostra a curva de calibração obtida em um sistema de iluminação natural, a qual apresentou uma equação linear descrita por $y = 49,376 x + 18,968$, com um coeficiente de correlação $R^2 = 0,899$. Como pode ser analisado, as duas curvas apresentaram perfil linear nesta faixa de concentração estudada, mas houve variação importante nos valores do coeficiente linear (intercepto com o eixo Y) e do coeficiente de correlação (R^2), conforme poderia ser esperado, pois a incidência de luz sobre a amostra afeta a captação da cor da imagem. A curva obtida no ambiente de iluminação controlada apresentou um valor de coeficiente de correlação (R^2) mais próximo de 1,000 quando comparado com a curva obtida em ambiente de luz natural. Isso indica que, no ambiente de iluminação controlada, a dependência estatística entre as duas variáveis, concentração e absorvância é maior (FILHO; JÚNIOR, 2009), o que é mais adequado para aplicações que exigem maior acurácia.

Considerando todas as características apresentadas, se o objetivo for um maior rigor científico, recomenda-se a realização da captura das imagens digitais em um ambiente com iluminação controlada. Todavia, se o docente não dispõe de tal aparato ou é inviável a sua construção para uso por toda a turma, recomenda-se a realização dos experimentos em luz ambiente (natural ou artificial), visto que esta estratégia permite a obtenção de resultados adequados para fins didáticos.

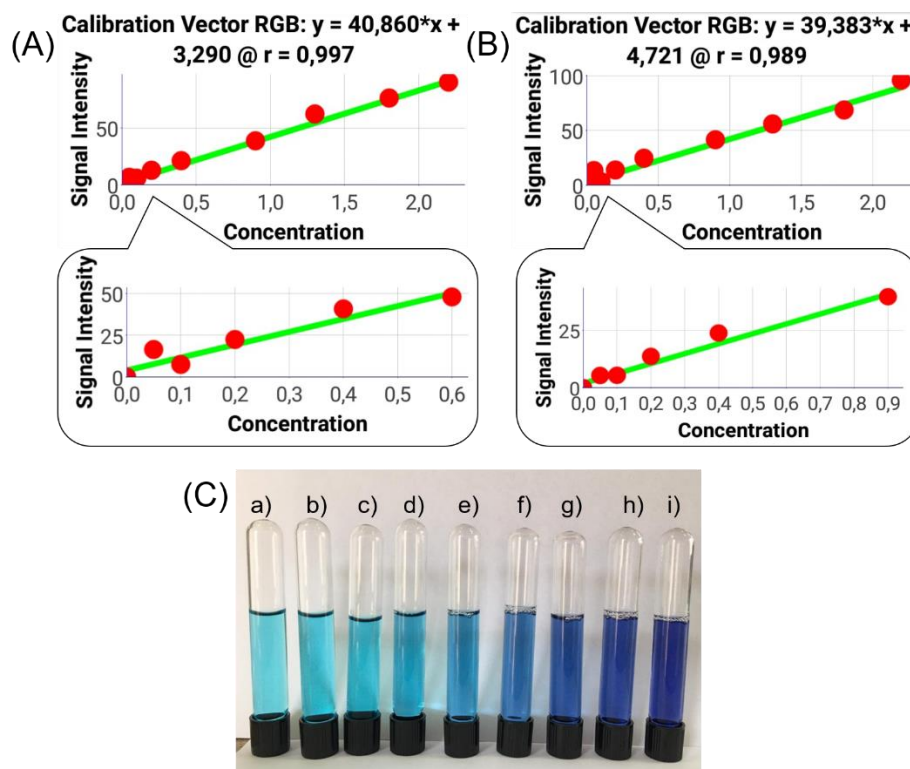
Os resultados apresentados a seguir foram realizados nos dois ambientes (iluminação controlada e natural) para evidenciar as possíveis interferências (ou não) da iluminação nos resultados obtidos.

5.3 Otimização da faixa de concentração da curva analítica

Com o intuito de otimizar as condições experimentais, investigou-se qual seria a melhor faixa de concentração de proteína para a construção da curva de calibração. Partiu-se da faixa de concentração 0,0 a 2,2 g L⁻¹ de proteína e, em seguida, avaliou-se a inclusão de concentrações de proteína acima e abaixo desta faixa, buscando garantir uma maior faixa de trabalho para quantificação das amostras selecionadas.

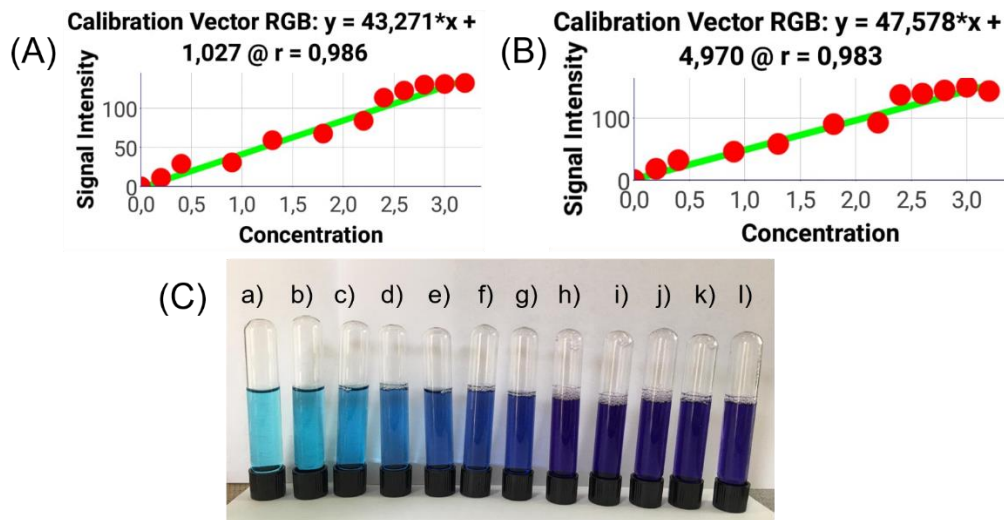
Iniciou-se avaliando o acréscimo de duas concentrações mais baixas de proteína: 0,05 e 0,1 g L⁻¹. As curvas de calibração obtidas podem ser visualizadas na Figura 10-A (ambiente de luz controlada) e 10-B (ambiente de luz natural). Para melhor visualização do comportamento dos primeiros pontos das curvas, foi inserido um gráfico com maior aproximação (*zoom*) desta região de concentrações mais baixas. As colorações das 9 soluções padrão utilizadas para obtenção das curvas podem ser visualizadas na Figura 10-C.

Figura 10. Curvas de calibração para albumina na faixa de 0,0 a 2,2 g L⁻¹, obtidas em (A) ambiente de luz controlada e (B) ambiente de luz natural. Inserido: uma aproximação (*zoom*) da faixa inicial das curvas. (C) Imagem fotográfica das soluções padrão utilizadas nas curvas de calibração, nas concentrações: a) 0; b) 0,05; c) 0,1; d) 0,2; e) 0,4; f) 0,9; g) 1,3; h) 1,8; e i) 2,2 g L⁻¹.



Posteriormente foi avaliado o comportamento da curva em concentrações acima de 2,2 g L⁻¹ e, para isso, adicionaram-se mais 5 concentrações, sendo elas: 2,4; 2,6; 2,8; 3,0 e 3,2 g L⁻¹. As curvas de calibração obtidas com 12 concentrações de proteína podem ser visualizadas nas Figuras 11-A e 11-B, sendo obtidas em um ambiente com iluminação controlada e em luz natural, respectivamente. Na Figura 11-C pode-se observar as colorações das soluções padrão utilizadas.

Figura 11. Curvas de calibração para albumina na faixa de 0,0 a 3,2 g L⁻¹, obtidas em (A) ambiente de luz controlada e (B) ambiente de luz natural. (C) Imagem fotográfica das soluções padrão utilizadas nas curvas de calibração, nas concentrações: a) 0; b) 0,2; c) 0,4; d) 0,9; e) 1,3; f) 1,8; g) 2,2; h) 2,4; i) 2,6; j) 2,8; k) 3,0 e l) 3,2 g L⁻¹.



A escolha da melhor faixa de concentração para construção da curva de calibração vai depender da concentração das amostras a serem analisadas. Neste trabalho, as curvas da Figura 10 serão usadas para a amostra que se espera uma menor concentração de proteína (caldo de frango) e as curvas da Figura 11 serão usadas para as demais amostras, que se espera uma maior concentração de proteína (*whey protein*, clara de ovo e leite desnatado).

5.4 Análise das amostras de alimentos

Para avaliar a metodologia proposta frente a amostras de alimentos, foram analisadas amostras de: caldo de frango, *whey protein*, clara de ovo e leite desnatado. A coloração de cada amostra de alimento após a reação com o reativo de biureto pode ser visualizada na Figura 12.

Na Figura 13 são apresentadas as curvas de calibração (obtidas em um ambiente de iluminação controlada), representadas pelos pontos vermelhos, juntamente com os valores experimentais obtidos para as amostras analisadas (pontos verdes), sendo: a) caldo de frango; b) suplemento *whey protein* (proteína de soro de leite); c) clara de ovo; d) clara de ovo diluída; e) leite desnatado e f) leite desnatado diluído.

Figura 12. Imagem fotográfica das soluções das amostras de alimento após reação com o reativo de biureto, onde: a) caldo de frango; b) suplemento *whey protein*; c) clara de ovo; d) clara de ovo diluída; e) leite desnatado e f) leite desnatado diluído.

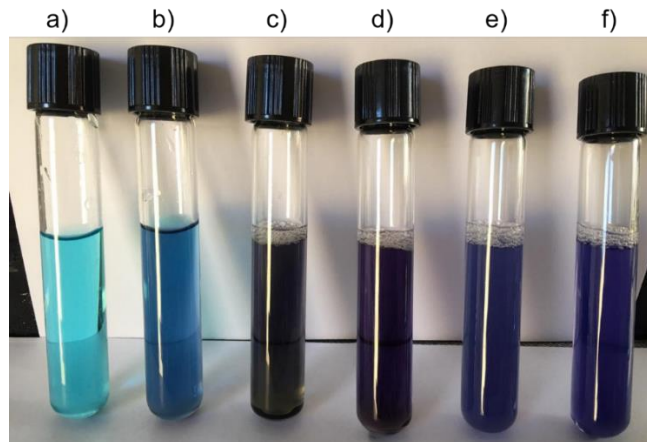
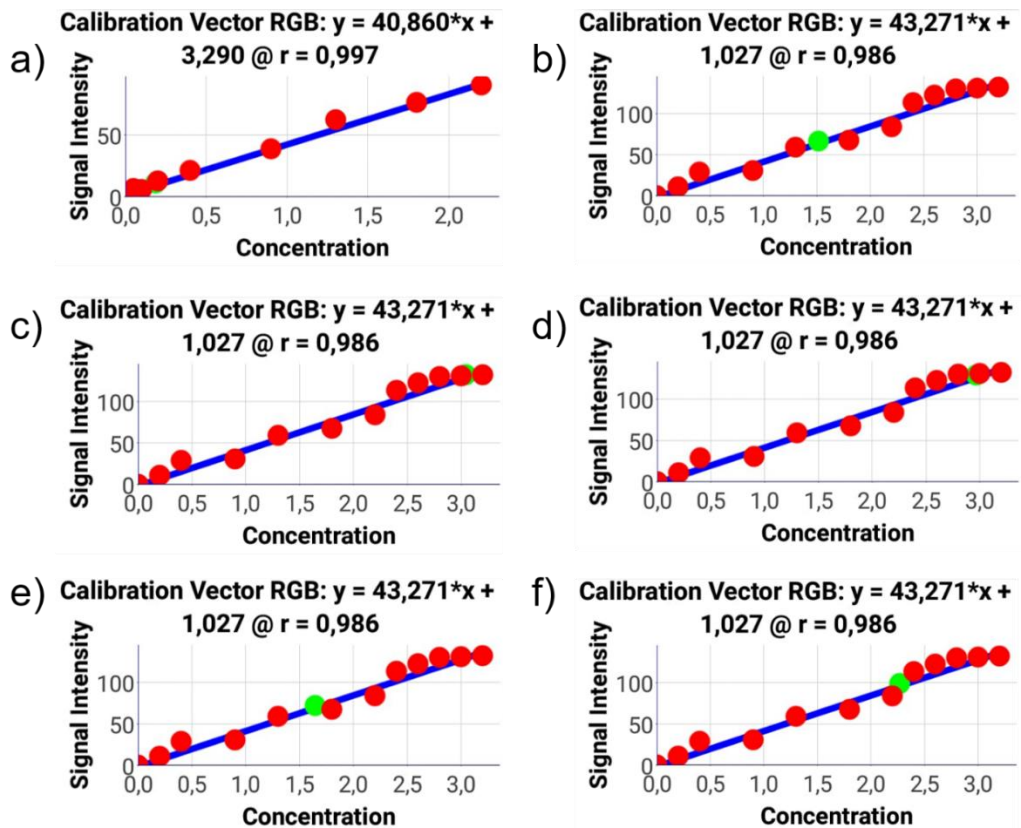
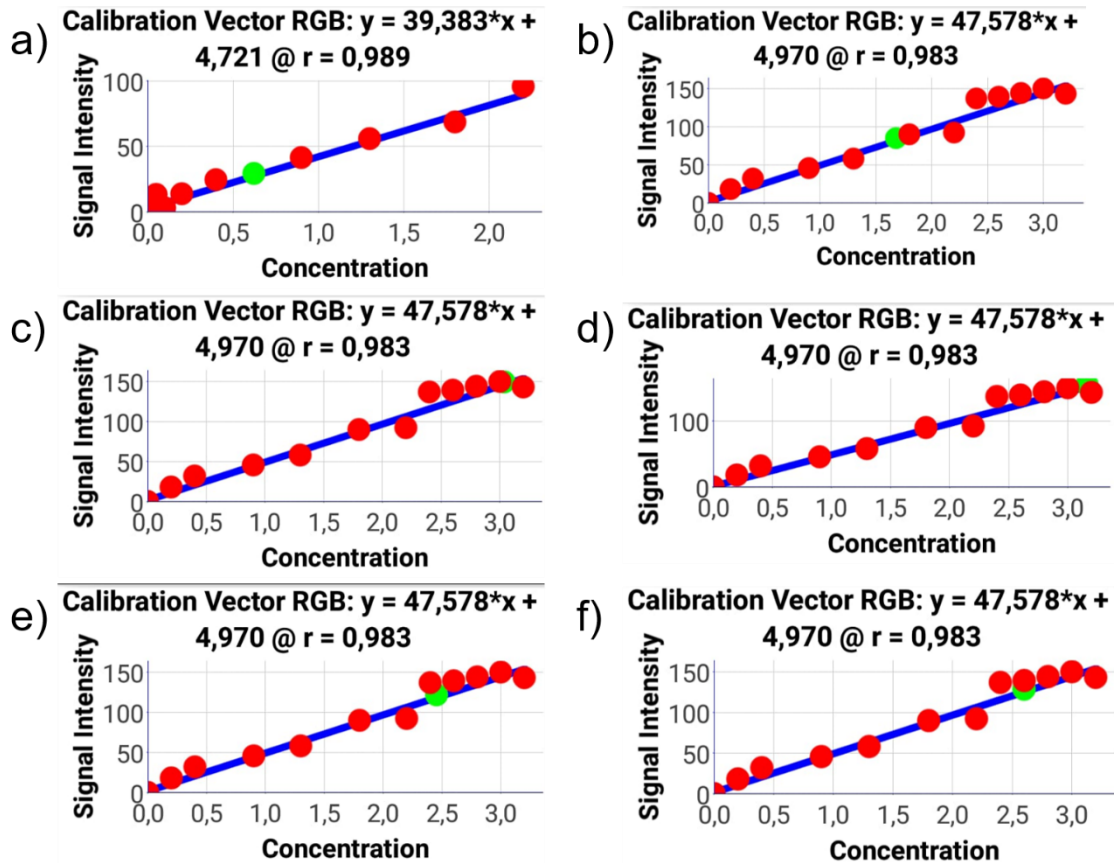


Figura 13. Curvas de calibração para proteína com a interpolação dos valores obtidos nas leituras das amostras de alimentos: a) caldo de frango; b) suplemento *whey protein*; c) clara de ovo; d) clara de ovo diluída; e) leite desnatado e f) leite desnatado diluído. (Ambiente de iluminação controlada).



Os valores de concentração obtidos em um ambiente com luz natural podem ser visualizados nas curvas de calibração da Figura 14, sendo que as análises foram realizadas com as mesmas amostras de alimentos da Figura 12.

Figura 14. Curvas de calibração para proteína com a interpolação dos valores obtidos nas leituras das amostras de alimentos: a) caldo de frango; b) suplemento *whey protein*; c) clara de ovo; d) clara de ovo diluída; e) leite desnatado e f) leite desnatado diluído. (Ambiente de iluminação natural).



Os valores de concentração de proteína determinados experimentalmente em cada amostra de alimento estão apresentados resumidamente na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de concentração de proteína em cada amostra de alimento determinados pelo método proposto, em ambiente de luz controlada e em luz natural.

Amostra de alimento	[proteína] em g L ⁻¹	
	Iluminação controlada*	Luz natural*
Caldo de frango	0,2±0,1	0,5±0,1
<i>Whey Protein</i>	1,4±0,1	1,7±0,1
Clara de ovo	3,1±0,1	3,1±0,1
Clara de ovo diluída	3,1±0,1	3,1±0,1
Leite desnatado	1,7±0,1	2,5±0,1
Leite desnatado diluído	2,2±0,1	2,6±0,1

*n = 2

A partir dos valores apresentados na Tabela 2, é possível verificar que as concentrações de proteína nas amostras de alimentos determinadas em ambos os ambientes são relativamente próximas. A maior diferença foi observada para amostra de caldo de frango.

As informações nutricionais apresentadas no rótulo do caldo de frango indicam que não há a presença de proteína na amostra. Apesar de apresentar baixos valores experimentais de absorvância, eles podem estar associados a presença de interferentes (como por exemplo de sais) que causam um aumento na intensidade de coloração da solução (HENRY; SOBEL; BERKMAN, 1957). De acordo com as informações nutricionais presentes na embalagem a quantidade de sódio em meio tablete é de 873 mg.

As informações nutricionais presentes na amostra de suplemento *whey protein* indicam uma quantidade de 11 g de proteína em 25 g do pó. Na análise foram utilizados 0,3 g do pó e de acordo com o fabricante nessa alíquota há 0,132 g de proteína, convertendo massa em concentração temos que teoricamente as amostras analisadas possuíam uma concentração próxima a $1,32 \text{ g L}^{-1}$. O valor experimental de proteína encontrada para essa amostra foi de $1,4 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1}$ para o ambiente de iluminação controlada e $1,7 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1}$ para o ambiente de luz natural. O valor experimental de proteína encontrado para a amostra usando o método proposto em um ambiente de iluminação controlada mostrou-se muito próximo ao valor rotulado, ou seja, sem diferença significativa.

A amostra de clara de ovo apresentou o mesmo valor de concentração de proteína em ambos os ambientes, de $3,1 \text{ g L}^{-1}$. Em virtude de o ovo de galinha ser a única amostra de alimento sem informações nutricionais na embalagem sobre a quantidade de proteína, os dados serão comparados com a concentração experimental baseando-se no método tradicional com o espectrofotômetro de UV/Vis (cujo resultados são apresentados na seção 5.4).

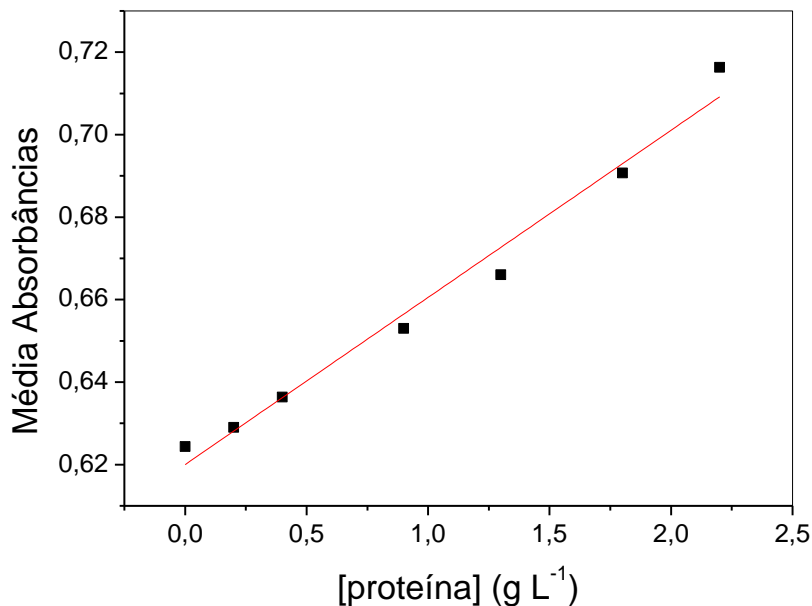
As informações nutricionais presentes na embalagem da amostra de leite indicam que em 200 mL há 6,3 g de proteína. O valor experimental de proteína encontrada para o leite desnatado foi de $2,1 \text{ g L}^{-1}$ para amostra pura e $2,1 \text{ g L}^{-1}$ procedendo-se uma diluição da amostra. Essa diferença entre valor experimental e valor rotulado pode estar relacionada a presença de proteínas na amostra que diferem do padrão de proteína (albumina) utilizado na curva de calibração (KANAYA; HIROMI,

1987). Além disso, entre os interferentes presentes nesta amostra estão os aminoácidos e peptídeos, sendo que principalmente os peptídeos com baixo peso molecular reagem com o íon cobre interferindo na análise (KANAYA; HIROMI, 1987).

5.5 Avaliação do método proposto frente ao método tradicional de análise

Com a finalidade de se avaliar a confiabilidade do método alternativo proposto, uma curva de calibração foi obtida utilizando a técnica tradicional de espectrofotometria no visível para as leituras de absorbância, empregando as mesmas soluções padrão de proteína. Na Figura 15 é apresentada a curva de calibração obtida pelo método clássico, sendo no eixo x a concentração de proteína (g L^{-1}) e no eixo y as absorbâncias encontradas em $\lambda = 740 \text{ nm}$. A equação da reta que representa esta curva pode ser descrita por $y = 0,0405x + 0,620$, com $R^2 = 0,990$.

Figura 15. Curva de calibração de proteína obtida empregando a técnica de espectrofotometria. Faixa de concentração de 0,0 a 2,2 g L^{-1} de albumina.



A análise das amostras de alimentos selecionadas também foi realizada por ambos os métodos e a concentração experimental obtida para cada amostra pode ser encontrada na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de concentração de proteína em amostras de alimentos determinados utilizando o espectrofotômetro de UV/Vis e o *smartphone* (com aplicativo PhotoMetrix) em um ambiente com iluminação controlada e em um ambiente com luz natural.

Amostra de alimento	Espectrofotômetro (g L ⁻¹)	Smartphone (1) Iluminação controlada (g L ⁻¹)	Smartphone (2) Iluminação com luz natural (g L ⁻¹)	**E.R. ₁ (%)	**E.R. ₂ (%)
Caldo de frango	1,0±0,1	0,2±0,1	0,5±0,1	80,0	50,0
<i>Whey protein</i>	1,2±0,1	1,4±0,1	1,7±0,1	16,6	41,6
Clara de ovo	2,1±0,1	3,1±0,1	3,1±0,1	47,6	47,6
Leite desnatado	1,4±0,1	1,7±0,1	2,6±0,1	21,4	85,7

*n=3; **O cálculo do erro relativo considera o resultado obtido com o espectrofotômetro como valor de referência; E.R = [(concentração determinada com *smartphone* – concentração determinada com espectrofotômetro) / concentração determinada com espectrofotômetro] x 100.

É possível observar pelos resultados apresentados na Tabela 3 que as concentrações de proteína encontradas para cada amostra de alimento em os ambos os métodos apresentam diferenças, maiores ou menores dependendo do tipo de amostra. A amostra de *whey protein* apresentou os valores mais próximos de concentração comparando os dois métodos, com uma diferença de 16,6% para o ambiente com iluminação controlada e 41,6% para o ambiente com luz natural. O caldo de frango apresentou variação de 80% em um ambiente com iluminação controlada e 50% em um ambiente com iluminação natural, quando comparada as duas técnicas. Além da alta concentração de interferentes nessa amostra, acredita-se que essa variação se deu pela dissolução incompleta da amostra sólida que interferiu diretamente na heterogeneidade da cor da solução. E as amostras de clara de ovo e leite desnatado, apresentaram a maior variação 47,6% para a amostra de clara de ovo em ambos os ambientes e a variação para a amostra de leite desnatado foi de 21,4% para o ambiente de iluminação controlada e 85,7% para o ambiente de luz natural.

As amostras de clara de ovo e de leite desnatado foram as que apresentaram maior desvio entre os valores da mesma técnica e a maior variação quando comparados ambos os métodos. Essa grande variação pode estar associada à turbidez da solução e também à presença de interferentes tais como lipídeos, lactose ou amido, essas substâncias geram um aumento da absorção da radiação no método de biureto (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998). Em virtude desses interferentes, as

concentrações de proteína determinadas pelo método de biureto podem ser superestimadas tendo em vista que outras estruturas que possuem grupos $-NH_2$ podem vir a ser quantificadas conjuntamente (VIEIRA, 2008).

No trabalho de Gee et al. (2017) um *smartphone* foi utilizado para a construção de uma curva analítica baseada no método de biureto. A proteína padrão utilizada foi a albumina de soro bovino (BSA) e a curva foi construída na faixa de concentração de 0 a 2,3 mg mL⁻¹. A técnica baseada em imagens digitais foi avaliada frente a técnica de espectrofotometria de UV/Vis, as curvas resultantes apresentaram valores de coeficiente de correlação (R^2) maiores que 0,9 e a equação derivada do ajuste de tendência linear foi utilizada para determinar a concentração de uma amostra hipotética. Os autores relatam que o emprego de imagens digitais foi eficaz para análises quantitativas, a concentração de proteína na amostra estimada pelo espectrofotômetro de UV/Vis foi de 1,32 mg mL⁻¹ enquanto a concentração empregando o *smartphone* estimou como sendo 1,28 mg mL⁻¹.

Apesar dos resultados satisfatórios obtidos por Gee et al (2017), a amostra hipotética utilizada foi preparada com a própria proteína padrão BSA (albumina de soro bovino), ou seja, além de ser exatamente a mesma proteína usada na amostra e na curva, a amostra simulada não possuía outras substâncias em sua composição que pudessem atuar como interferente na resposta.

No caso dos resultados obtidos no presente trabalho, atribuiu-se que os valores de concentração de proteína das amostras de alimento obtidos com o *smartphone* diferiram dos valores obtidos com o espectrofotômetro de UV/Vis possivelmente em decorrência da turbidez e falta de homogeneidade das misturas obtidas a partir da maioria das amostras analisadas. Em função do método ser baseado nas imagens captadas das “soluções”, este tipo de interferência é bastante relevante.

Diante disso, faz-se necessário uma posterior investigação de um preparo de amostra inicial que permita eliminar ou minimizar este problema. Além disso, sugere-se a seleção de outras amostras, como a de *whey protein*, que apresentou resultado altamente satisfatório.

5.6 Desenvolvimentos dos roteiros e vídeo tutorial

Foram desenvolvidos três roteiros, sendo um técnico que orienta o uso do aplicativo PhotoMetrix e dois roteiros de aplicação com sugestões e orientações para a realização da prática experimental (em duas versões, uma destinada aos estudantes e outra destinada ao docente).

5.6.1 Roteiro técnico

O roteiro técnico foi desenvolvido para que tanto o professor quanto o estudante recebam uma orientação para a utilização do aplicativo, tendo em vista que esse possa ser o primeiro contato de ambos com o PhotoMetrix. No Apêndice 1 está inserido o roteiro técnico, o qual contém uma parte introdutória que apresenta o aplicativo e as finalidades que ele pode ser empregado. Em seguida o roteiro apresenta as orientações para realizar o *download*, sendo que o aplicativo está disponível para os sistemas operacionais iOS e Android. Em seguida é exibida as configurações do aplicativo para serem realizadas antes de sua utilização. E por fim é detalhado a sequência de procedimentos para a realização da prática que vai desde a captura das imagens para a construção da curva de calibração até a análise das amostras de alimentos.

No trabalho de Souza et al. (2019), o aplicativo PhotoMetrix foi empregado como ferramenta didática para a determinação de fosfato em fertilizantes. Os autores relataram que a utilização de materiais como os *smartphones* e a determinação de analitos que estão presentes no cotidiano dos estudantes instigou o interesse e propiciou discussões construtivas por partes dos educandos. Ainda, segundo os autores, a avaliação dos estudantes a respeito da metodologia experimental foi positiva sobretudo por utilizarem seus próprios *smartphones* na aquisição e tratamento de dados.

5.6.2 Roteiro de aplicação

Visando facilitar a realização da prática foi proposto um roteiro de aplicação para o professor (Apêndice 2). No Apêndice 3 está inserido o roteiro de aplicação

voltado aos estudantes. É importante destacar que cabe ao professor, baseado na disponibilidade da escola e no perfil dos estudantes, realizar as alterações das propostas visando adaptar a prática a sua realidade.

O roteiro de aplicação para os estudantes conta com uma parte introdutória que discorre a respeito do método de biureto e em quais princípios essa técnica se fundamenta. Em seguida são listados os reagentes e materiais utilizados, e por fim são detalhados o preparo das soluções, a construção da curva de calibração e a obtenção das imagens digitais.

Os conteúdos de cálculo de concentração e diluição podem ser trabalhados juntamente com a construção da curva de calibração, deste modo é sugerido no roteiro que os estudantes desenvolvam tais atividades. Todavia, é indispensável o auxílio do professor nesta atividade, tendo em vista que muitos estudantes apresentam dificuldade na relação entre o cálculo matemático e os conceitos químicos (FERREIRA, 2019).

A atividade experimental além de permitir uma aprendizagem dos conceitos químicos de modo mais efetivo também possibilita que os estudantes se apropriem da metodologia científica (MELO; OLIVEIRA; SOUZA, 2019). O desenvolvimento dessas habilidades é essencial para estabelecer a relação entre teoria e prática. Gomes et al (2015) apresentam a metodologia científica a estudantes do ensino técnico a partir da experimentação. A proposta era destinada a estudantes que estavam no período de realização do estágio, na qual eles tiveram que desenvolver um trabalho sobre o tema de sua preferência, realizar a pesquisa bibliográfica, escolher e executar o experimento, elaborar um relatório escrito e apresentar os resultados em um seminário. Segundo os autores, os estudantes avaliaram positivamente a proposta e que a abordagem da metodologia científica colaborou para a formação acadêmica dos estudantes, além de ampliar a visão de trabalho laboratorial e despertar o interesse pela pesquisa científica.

O roteiro de aplicação do professor descreve uma proposta didática para a realização do experimento de determinação de proteínas em amostras de alimentos utilizando materiais e recursos alternativos. A proposta didática é dividida em dois momentos pedagógicos, sendo o primeiro a fundamentação teórica e o segundo a atividade experimental. É detalhado no roteiro a metodologia para os dois momentos, bem como os conteúdos e objetivos a serem alcançados.

A proposta experimental apresentada é baseada na utilização de *smartphone* e *um aplicativo*. O emprego destes recursos no processo de ensino-aprendizagem ainda é visto como desafiador para a maioria dos professores. Mas, de acordo com uma pesquisa realizada por Moreno e Heideiman (2016), apesar dos desafios, os professores acreditam que a utilização dessas tecnologias em sala de aula pode ser uma estratégia interessante e muito importante para o ensino.

No final do roteiro do professor é proposto uma metodologia de avaliação não tradicional, que é a construção de um *podcast* pelos estudantes. Propõem-se que o *podcast* seja no formato de áudio e se caracterize como informativo (SOUZA; LEITE, 2013), apresentando uma síntese da prática de determinação de proteína em alimentos pelo método de biureto, abordando os tópicos como a metodologia da reação de biureto e os resultados das análises das amostras de alimento. A duração do *podcast* deve ser curta, mantendo-se dentro do período de 3 até 5 minutos.

A utilização do *podcast* enquanto recurso didático é uma ferramenta motivadora de discussões a respeito do conteúdo, enfatizando os conceitos abordados em sala de aula (LEITE, 2012). Ferramentas tecnológicas podem aprimorar a educação por meio de novas formas ensino, aproximando o conteúdo escolar do universo dos estudantes (SOARES; BARIN, 2016). De acordo com Barin, Ellensohn e Palma (2015), o uso de ferramentas tecnológicas propicia a democratização dos saberes e aproxima professores e estudantes na busca de uma aprendizagem significativa.

No trabalho de Silva, Leite e Leite (2016) é proposta uma atividade pedagógica onde os estudantes de uma turma de ensino médio desenvolveram *videocast* sobre modelos atômicos. Os autores aplicaram um questionário aos estudantes no final da atividade para avaliar suas opiniões a respeito do *videocast* como ferramenta no processo de aprendizagem. Como resultado, 91% dos estudantes responderam que o *videocast* auxilia neste processo. De acordo com esta pesquisa a utilização de tal ferramenta auxilia na liberdade intelectual, na compreensão, na prática dos conceitos e também que estimula o engajamento dos estudantes.

Além disso, a prática experimental proposta no presente trabalho é para a determinação de proteína em amostras de alimentos, havendo a possibilidade de este ser um tema gerador em uma proposta interdisciplinar. Um exemplo de proposta interdisciplinar que aborda o tema proteínas é descrito por Correia e colaboradores (2004), neste trabalho ocorreu a integração das disciplinas de química e biologia e o

conteúdo de proteína e sua ação enzimática foi abordado. A experimentação e discussão realizada pelos estudantes promoveram uma participação ativa dos mesmos, diferentemente das aulas tradicionais. Além disto as propostas interdisciplinares desfazem a visão fragmentada das disciplinas que a maioria dos estudantes possuem (CORREIA, et al., 2004).

5.6.3 Vídeo tutorial

O vídeo tutorial foi desenvolvido com o intuito de oferecer uma orientação mais visual aos estudantes e professores que utilizarão o aplicativo PhotoMetrix em uma atividade experimental. Desta forma, o vídeo instrui a realização do download no *smartphone* e em seguida detalha a configuração do aplicativo que deve ser ajustada anteriormente a prática, além disto são orientados os parâmetros para a captura de imagem e todos os detalhes que necessitam de atenção para um completo êxito no experimento.

O vídeo tutorial encontra-se disponível através do link: <https://youtu.be/ybq7Dwb-ZCE> . E também poderá ser encontrado no site do Grupo de Pesquisa CReATe (Chemical Research and Application Team) (<https://create.paginas.ufsc.br/>).

5.7 Perspectivas de continuidade do trabalho

Se analisa a possibilidade de avaliar a presente proposta em turmas de ensino médio na cidade de Blumenau/SC. Contudo, tendo em vista o cenário atual da pandemia de COVID-19, tal intenção só poderá ser posta em prática em um momento seguro para todos. Existe ainda a possibilidade de a aplicação ocorrer de modo remoto, todavia, neste cenário a metodologia deverá ser modificada para melhor atender os objetivos de ensino-aprendizagem.

Além disto pretende-se propor a professores da rede estadual e federal de ensino que avaliem a proposta de prática experimental para a determinação de proteína em amostras de alimentos utilizando imagens digitais. Nesta consulta pretende-se verificar se a prática é aplicável em turmas de Ensino Médio e se está de acordo com a realidade das instituições que estes docentes estão inseridos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi possível realizar o desenvolvimento de uma metodologia para a determinação de proteínas em amostras de alimentos, utilizando materiais e equipamentos alternativos. Os reagentes empregados em geral podem ser facilmente adquiridos, e a obtenção e processamento de dados podem ser realizados com um *smartphone* do próprio estudante em uma atividade experimental.

A partir do emprego do aplicativo PhotoMetrix foi possível investigar o efeito da iluminação do ambiente fotográfico e a faixa de concentração de proteína utilizada na curva de calibração. O ambiente com iluminação controlada apresentou os resultados mais satisfatórios, todavia em uma situação que não se disponha de um aparato para realizar a captura das imagens, ou em virtude do alto número de estudantes seja inviável a construção do mesmo, é possível a realização do experimento em luz natural para fins didáticos, sem prejuízos significativos quanto a isso.

A partir da curva de calibração desenvolvida, a metodologia proposta foi empregada na análise de amostras de alimentos e os resultados comparados frente ao método convencional. Observou-se resultados satisfatórios nas análises de amostras com composição mais simples e sem a presença de potenciais interferentes, como de suplemento alimentar (*whey protein*).

Em suma, a metodologia alternativa proposta para a determinação de proteína utilizando imagens digitais apresentou-se promissora para o emprego como ferramenta didática em aulas de química.

Para estudos futuros, pretende-se investigar um procedimento simples para o preparo de amostras de alimentos de maior complexidade para que os estudantes possam realizar antes da análise, evitando potenciais interferências, e permitindo assim que a proposta possa ser empregada a uma maior diversidade de amostras. Pretende-se também aplicar a proposta experimental em turmas de Ensino Médio e submetê-la a avaliação de professores da rede pública.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V. V. de.; CANESIN, E. A.; SUZUKI, R. M.; PALIOTO, G. F. Análise qualitativa de proteínas em alimentos por meio de reações de complexação do íon cúprico. **Química nova na escola**, v. 35, n. 1, p. 34-40, 2013.

ANDRADE, T. Y. I.; COSTA, M. B. O laboratório de ciências e a realidades dos docentes das escolas estaduais de São Carlos-SP. **Química Nova na Escola**, v.38, n.3, 2016.

BARBOSA, J. Z.; et al. Uso de imagens digitais obtidas com câmeras para analisar plantas. **Revista de Ciências Agrárias**, v.39, n.1, 2016.

BARIN, C. S.; ELLEN SOHN, R. M.; BOTE GA, M.P. Uso e apropriação de recursos da tecnologia como elemento flexibilização no ensino-aprendizagem de geografia. **Renote**, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2015.

BAZANI, E. J.O. Determinação do teor de fenólicos e da atividade antioxidante de tomate e de morango utilizando método alternativo. **Dissertação (Mestrado Profissional em Química)** – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2019.

BRASIL. **Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (Inep)**. Censo da Educação Básica 2019: notas estatísticas. Brasília, 2020.

BRASIL, Ministério da Educação. Secretaria de Educação Básica. **Parâmetros Curriculares Nacionais: Ensino Médio (PCN+)**. 2000.

BRASIL. Ministério da Educação. Diretrizes e Bases da Educação Nacional. Lei n.º 9.394 e legislação correlata. Bauru: São Paulo: Endipro, 1997.

BRASIL. Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio. Brasília: MEC/SEMTEC. 1999.

CARO, C. A. UV/VIS Spectrophotometry – Fundamentals and Applications. **Mettler Toledo**, 2017/

CORREIA, P. R. M.; DAZZANI, M.; MARCONDES, M. E. R.; TORRES, B. B. A bioquímica como ferramenta interdisciplinar. **Química Nova na Escola**, n. 19, 2004.

DAMASCENO, D; TOLEDO, T. G; GODINHO, M. S; SILVA, C. P,da; OLIVEIRA, S. B. de; OLIVEIRA, A. E. de. Análise multivariada de imagens na química: um experimento para determinação do pH de águas potáveis. **Química Nova**, v.38, n.6, 2015.

DIAS, S. S. Eletrodeposição e caracterização de ligas SnZn sobre carbono vítreo. **Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica)** – Universidade Federal do Ceará. Ceará, 2006.

DIONÍZIO, T.P.; et al. O Uso de Tecnologias da Informação e Comunicação como Ferramenta Educacional Aliada ao Ensino de Química. **EaD em Foco**, v.9, 2019.

FARIA, R. R.; et al. Pesquisa com professores de química do ensino médio de Uberaba / MG: Laboratórios das escolas e capacitação dos professores. **Revista Virtual de Química**, v.11, n.4, 2019.

FILHO, D. B. F.; JÚNIOR, J. A. S. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 18, n. 1, 2009.

FIRMINO, E. S.; Aplicativos móveis para o uso no ensino de químico: uma breve análise. **Res., Soc. Dev.**, v.8, n.7, 2019.

GALIAZZI, M. C. et al. Objetivos das Atividades Experimentais no Ensino Médio: A pesquisa coletiva como modo de formação de professores de ciências. **Ciência & Educação**, v.7, n.2, 2001.

GEE, C. T.; KEHOE, E.; POMERANTZ, W. C. K.; PENN, R. L. Quantifying protein concentrations using smartphone colorimetry: a new method for na established test. **Journal Chemical Education**, v. 94, p. 941-945, 2017.

GIORDAN, M. O Computador na Educação em Ciências: Breve Revisão Crítica Acerca de Algumas Formas De Utilização. **Ciência & Educação**, v. 11, n.2, 2005.

GOMES, M. A. B.; MELLO, R. M. Q.; MICARONI, L.; GUIMARÃES, J. L. Apresentação da metodologia científica a estudantes do ensino técnico através da experimentação em química. **Revista Extensão em Foco**, v. 11, p. 57-72, 2015.

GOMES, M. S.; TREVISAN, L. C.; NÓBREGA, J. A.; KAMOGAWA, M. Y. Uso de Scanner em Espectrofotometria de Absorção Molecular: aplicação em experimento didático enfocando a determinação de ácido ascórbico. **Química Nova**, v. 31, n. 6, 2008.

GONÇALVES, M. I. S. Aplicações de imagens digitais e análise multivariada para classificação e determinação de parâmetros de qualidade em plumas de algodão. **Dissertação (Mestrado em Química)** – Universidade Federal da Paraíba. Paraíba, 2015.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of sérum proteins by means of the biuret reaction. **J. Biol Chem.**, v. 177, n.2, p. 66-751, 1949.

GUIMARÃES, C. C. Experimentação no ensino de química: caminhos e descaminhos rumo à aprendizagem significativa. **Química Nova na Escola**, v.31, n.3, 2009.

HELPER, G. A.; MAGNUS, V. S.; BÖCK, F. C. TEICHMANN, A.; FERRÃO, M. F.; COSTA, A. B. PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 28, N. 2, p. 328-335, 2017.

IZAIAS, R. D. S.; PINTO, M. F. S. A experimentação na EJA: os diferentes enfoques dos professores de ciências da natureza. **Educon**, v. 10, n.1, p. 1-06, 2016.

KANAYA, K.; HIROMI, K. Determination of low concentrations of protein by the biuret method using the “stopped-flow time difference analysis” technique. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 51, p. 1885-1892, 1987.

HENRY, R. J.; SOBEL, C.; BERKMAN, S. Interferences with biuret methods for sérum proteins. **Journal Chemical Education**, v. 29, n. 10, 1957.

LEDESMA, C. M.; GELINSKI, J. M. L. N.; BORGES, E. M. Determinação da constante de equilíbrio utilizando imagens digitais. **Rev. Virtual Quim.**, v. 11, n. 3, 2019.

LEITE, B. S. A experimentação no ensino de química: uma análise das abordagens nos livros didáticos. **Educación Química**, v.29, n.3, p. 61-78, 2018.

LEITE, B. S. Elaboração de podcasts para o ensino de química. In: Encontro Nacional de Ensino de Química, XVI, 2012, Salvador. Anais. Recife: 2012.

LIMA, E. R. P. O.; MOITA, F. M. G. S. C. **A tecnologia e o ensino de Química: jogos digitais como interface metodológica**. Campina Grande: Ed. UEPB, 2011. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/6pdy/06>>. Acesso em: 07 de maio de 2020.

LYRA, W. S.; dos SANTOS, V. B.; DIONÍZIO, A. G.; MARTINS, V. L.; ALMEIDA, L. F.; GAIÃO, E. N.; ARAÚJO, M. C. Digital image-based flame emission spectrometry. **Talanta**, v.77, 2009.

MACHADO, P. F. L.; MÓL, G. S. Experimentando química com segurança. *Química Nova na Escola*, n. 27, 2008.

MELO, C. C.; OLIVEIRA, R. C. B.; SOUZA, A. N. A utilização da experimentação como aporte de atividades problematizados para a significação de conceitos químicos no ensino médio. **Debates em Educação**, v. 11, n.24, 2019.

MENDONÇA, J. A. O histograma de imagens coloridas permite melhor visualização de danos ecotexturais pelo ultrassom. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.57, n.1, 2017.

MIESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. Química Inorgânica. Tradução Ana Julia Perrotti-Garcia; Revisão técnica Cid Pereira, André Luiz Bogado. – 5. ed. – São Paulo: **Pearson Education do Brasil**, 2014.

MORENO, E. L.; HEIDELMANN, S. P. Recursos instrucionais inovadores para o ensino de química. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 1, p. 12-18, 2017.

NETO; G. F. S.; FONSECA, A.; BRAGA, J. W. B. Classificação de águas minerais baseada em imagens digitais obtidas por smartphones. **Química Nova**, v.39, n.7, 2016.

NOVAIS, R. M. Experimentação no ensino de química: analisando reflexões de licenciandos durante uma disciplina de prática de ensino. **Chemical Education in Point of View**, v.2, n.2, 2018.

OWEM, T. Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy. **Agilent Technologies**, p. 19, 2000.

PAULETTI, F.; ROSA, M. P. A.; CATELLI, F. A importância da utilização de estratégias de ensino envolvendo os três níveis de representação da química. **R. B. E. C. T.**, v.7, n.3, 2014.

PEREIRA, A. S.; CONCEIÇÃO, N. C. P. de. Um estudo sobre laboratórios multidisciplinares de ciências da natureza em escolas públicas da região oeste do Pará. **Revistas Exitus**, v.9, n.5, 2019.

PEREIRA, A. S.; MANDACARI, C. Um estudo sobre as condições estruturais e materiais dos laboratórios didáticos de ciências das escolas públicas de Dourados/MS. Actio: **Docência em Ciências**, v.3, 2018.

RODRIGUES, C. Desenvolvimento de bioprocesso para produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando polpa cítrica. **Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos)** – Universidade Federal do Paraná. Paraná, 2006.

SANTOS, L. R. d.; MENEZES, J. A. d.; A experimentação no ensino de química: principais abordagens, problemas e desafios. Ver. **Eletrônica Pesquiseduca**, v.12, n.26, p. 180-207, 2020

SILVA, M. S. C. D.; LEITE, Q. S. S.; LEITE, B. S. O vídeo como ferramenta para o aprendizado de química: um estudo de caso no sertão pernambucano. **Revista Tecnologias na Educação**, v. 17, n.8, 2016.

SKOOG, D.A; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana, **Editora Thomson**, São Paulo-SP, 2006.

SOARES, A. B.; BARIN, C. S. Podcast: potencialidades e desafios na práxis educativa. **Revista Tecnologias na Educação**, n. 14, 2,016.

SOLOMON, C.; BRECKON, T. Fundamentals of Digital Image Processing - A Practical Approach with Examples in Matlab. 1ª Ed. United States of America: **John Wiley & Sons Ltd**, 2011.

SOUZA, D. M.; NASCIMENTO, V. R.; KLEIN, V.; SANTOS, C. V.; BOSS, R. Uso do aplicativo photometrix para determinação de fosfato em fertilizantes: um recurso didático para o Ensino de química analítica. **Revista Educacional Interdisciplinar**, v.8, n. 1, p. 1-13, 2019.

SOUZA, F. R.; et al. Avaliação de dispositivos de captura de imagens digitais para detecção colorimétrica em microzonas impressas. **Química Nova**, v.37, n.7, 2014.

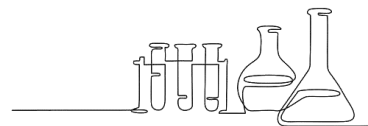
SOUZA, Q. S.; LEITE, B. S. A linguística na produção de podcast em química. In: 5º Simpósio Hipertexto e Tecnologias na Educação, V, 2013, Pernambuco, (Anais)

VIEIRA, D. M. P. V. Estudos cinético em reações de hidrólise enzimática de proteínas acelerada por ultrassom / **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Nova de Lisboa. Lisboa, 2008.

VOGEL, A. I. **Química Analítica Qualitativa**. Tradução da 5ª edição, São Paulo: **Mestre Jou**, 1981.

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, 1998.

APÊNDICE 1



PHOTOMETRIX – Roteiro Técnico

Você sabia?

O aplicativo PhotoMetrix foi desenvolvido por pesquisadores brasileiros (da UNISC, ULBRA e UFRGS)¹. Com esse aplicativo é possível realizar análises químicas para a identificação e a quantificação de espécies de interesse usando somente um smartphone e com resultados semelhantes àqueles obtidos usando métodos clássicos. Vamos ver como podemos usar esse aplicativo?

Para baixar o aplicativo

O aplicativo está disponível para os sistemas operacionais iOS e Android.

Para baixar o aplicativo no iOS, os usuários devem acessar o App Store e buscar por “PhotoMetrix”, instalando o aplicativo na sequência. Para começar a usar não é necessário a realização de ajustes prévios, somente no primeiro acesso aparecerá um convite à permissão que deve ser aceito.

Para baixar o aplicativo no sistema Android, os usuários devem acessar o Google Play e buscar por “PhotoMetrix PRO”, instalando o aplicativo em seguida. Antes de utilizar o aplicativo, é necessário aceitar as permissões de uso de câmera e armazenamento, no instante em que ambas forem requeridas.

Acessando o aplicativo

No **Menu Principal** (Figura 1), o aplicativo oferece a opção de realizar diferentes tipos de análise, com espaço para ajuste das configurações e também para tirar eventuais dúvidas.

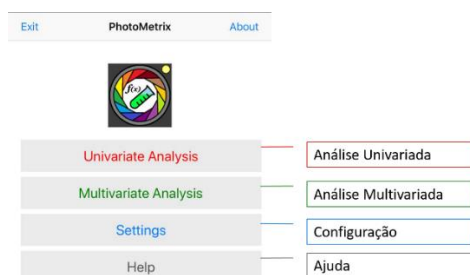


Figura 1. Menu principal do aplicativo PhotoMetrix.

No espaço **Configuração** (Figura 2) é possível ajustar os parâmetros do aplicativo, conforme sua necessidade.

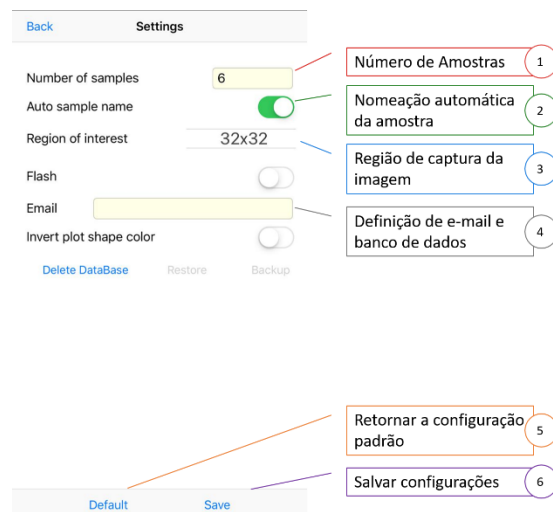


Figura 2. Opção de configurações do aplicativo PhotoMetrix.

Veja o detalhamento dos parâmetros a seguir:

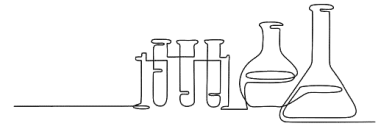
1) *Número de amostras*: Neste espaço deve ser indicado o número de amostras utilizadas na construção da curva de calibração.

2) *Nomeação automática da amostra*: Com essa opção ativada as amostras serão nomeadas automaticamente como *sample1* (amostra 1), *sample2* (amostra 2) e assim por diante.

3) *Região de captura da imagem*: Nesta opção é indicado o número de pixels que serão analisados em uma determinada região de captura da imagem.

4) *Definição de e-mail e banco de dados*: Os resultados e gráficos obtidos poderão ser enviados para o e-mail indicado neste espaço. O aplicativo também possibilita que o usuário realize o *backup* dos dados os quais serão enviados a pasta *Downloads* do aparelho.

Na prática experimental proposta (Determinação de proteína em alimentos) será empregada a **Análise Univariada**, pois essa análise permite que seja determinada a concentração de um analito em um sistema na qual somente a intensidade da cor se modifica.



Ao ser selecionada **Análise Univariada**, o aplicativo apresenta várias opções, conforme pode ser visto na Figura 3.

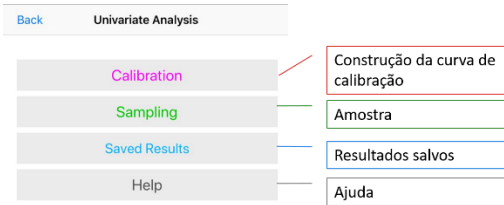


Figura 3. Modo de operação da análise univariada.

Construindo a curva de calibração

Na Figura 4 é apresentado o menu **Calibração**. No espaço (1) é indicado o número de padrões que serão utilizados na construção da curva de calibração. Em (2) é possível nomear a curva de calibração (ex: calibração 1, calibração 2, etc). Por fim, deve-se selecionar a **Captura de Imagens** (3).

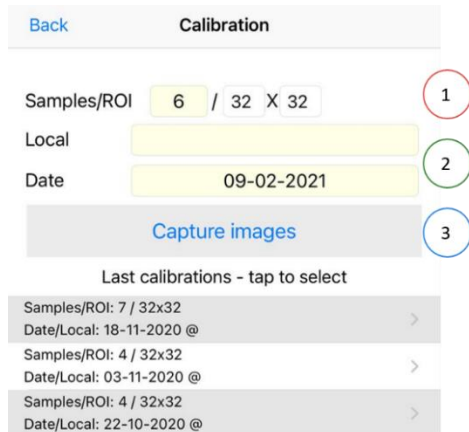


Figura 4. Configuração da construção da curva de calibração.

No painel de **captura de imagens** (Figura 5) siga as seguintes etapas: no espaço (1) indique a concentração da amostra, posicione a câmera do smartphone sobre a amostra e clique em **Capture** (3). A região a ser analisada pelo aplicativo é indicada no quadrado vermelho, quando sua coloração mudar de vermelho para verde está na hora da captura. Em seguida repita os mesmos passos para o restante das soluções padrões. Quando todas as imagens das soluções correspondentes aos pontos da curva de

calibração forem capturadas é possível **enviar os resultados por e-mail** (4) e/ou **salvar** (5).

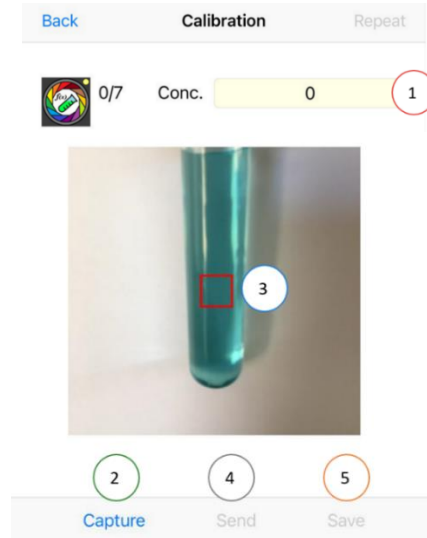


Figura 5. Captura das imagens das soluções padrões para construção da curva de calibração.

Após a captura das imagens, a curva de calibração é construída automaticamente pelo aplicativo. Os resultados são dispostos no espaço demonstrado na Figura 6.

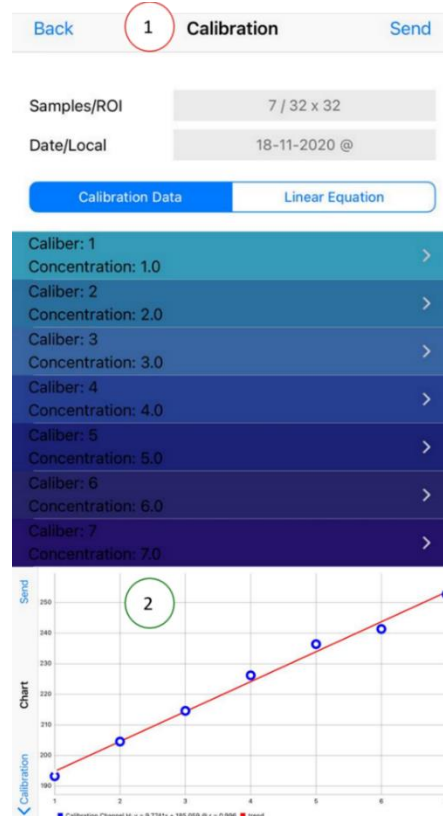
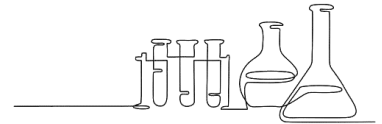


Figura 6. Curva de calibração construída no PhotoMetrix a partir de imagens digitais.



No espaço (1) apresentado na Figura 6 é possível acessar as equações lineares e também enviar os resultados por e-mail clicando em **Send**, além de **visualizar o gráfico** da curva de calibração (2), clicando na equação de interesse.

Quantificando o analito na amostra

Com a curva de calibração construída, agora é possível quantificar o analito na amostra. Para isto, o usuário deve voltar ao menu da análise univariada e selecionar o modo (1) **Sampling** (amostragem). Assim como no modo Calibração é necessário indicar o **número de amostras** (2) que serão analisadas e por fim selecionar a captura de imagens (3), como mostra a Figura 7.

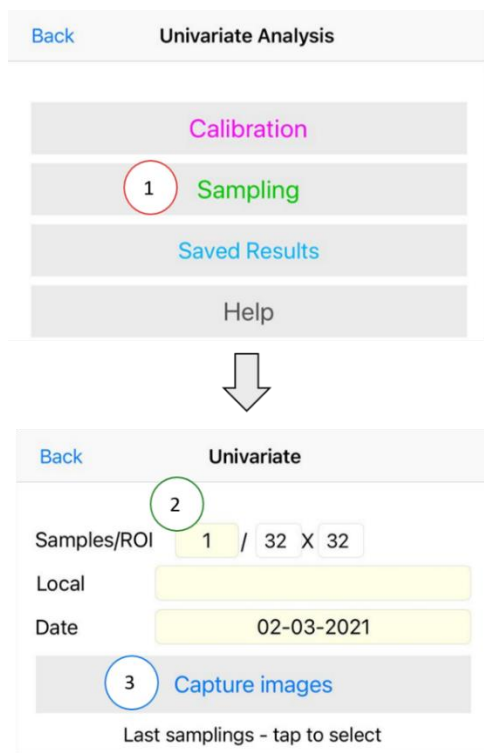


Figura 7. Painel de amostragem do PhotoMetrix.

Os passos para a captura da imagem da amostra estão indicados na Figura 8, onde no espaço (1) é possível renomear a amostra, em seguida (2) posicione a câmera do smartphone e clique em (3) **Capture** (capturar), e por fim selecione a opção (4) **Save** (salvar).



Figura 8. Captura da imagem da amostra.

Na Figura 9 são indicados os passos a serem percorridos após a amostragem para obtenção dos resultados.

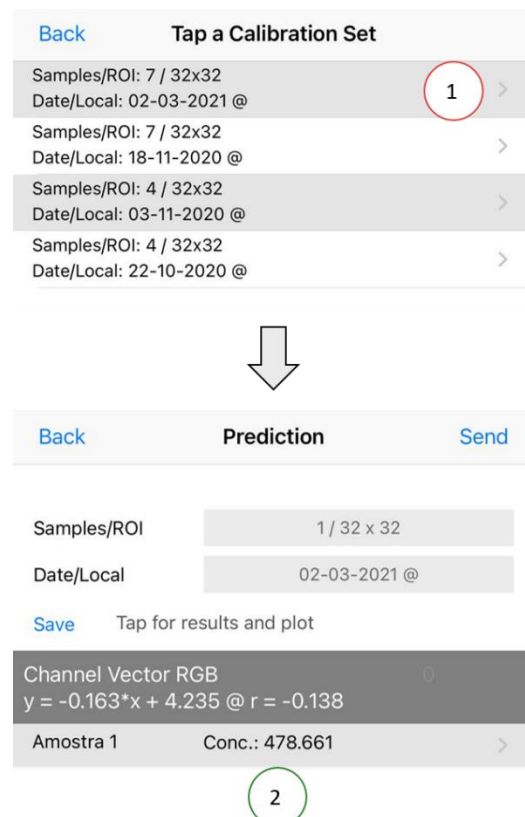
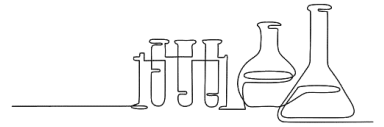


Figura 9. Resultado da amostragem e concentração da amostra.



Após a captura da imagem da amostra, o usuário deve selecionar a (1) curva de calibração previamente construída e, em seguida, é possível visualizar a concentração da amostra em (2) **Conc.:**

Envio dos resultados

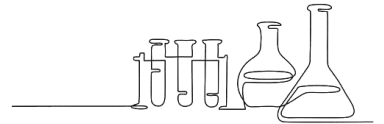
Os dados experimentais podem ser enviados via e-mail. Para isso o usuário deve inserir seu e-mail acessando **Configuração** no **Menu Principal** (Figura 1). Com os dados inseridos basta selecionar a opção **Send** (enviar) na curva de calibração ou na amostra.

Referências:

¹ HELFER, G. A.; MAGNUS, V. S.; Böck, F. C., TEICHMANN, M. F.; FERRÃO, A. B. C. PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 28, n. 2, p. 328-335, 2017.

Para mais informações acesse o site do aplicativo: <https://www.photometrix.com.br/>

APÊNDICE 2



Roteiro do professor

Determinação de proteínas em amostras de alimentos

Introdução

Olá professor, nesse roteiro se encontra uma proposta didática para uma atividade experimental para a determinação de proteínas baseada no método de biureto, empregando imagens digitais obtidas com um *smartphone*. Essa atividade permite que os estudantes construam uma curva de calibração e através dela determinem a concentração de proteína em uma amostra de alimento. Tudo isso utilizando materiais e equipamentos alternativos e de fácil acesso.

Nesta proposta didática você encontrará os principais conteúdos que podem ser trabalhados e as habilidades que os estudantes podem desenvolver a partir do experimento. Essa proposta foi dividida em dois momentos pedagógicos e todos os passos serão detalhados para melhor aproveitamento da atividade. E por fim, apresentamos uma proposta de avaliação.

Toda a metodologia aqui descrita é apenas uma sugestão. Você pode aproveitar ideias e fazer alterações de acordo com as necessidades e perfil da turma. Boa aula!

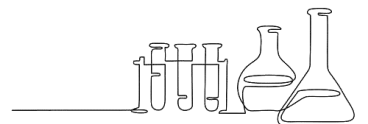
Proposta didática:

O uso de imagens digitais na química: um experimento didático para a determinação de proteínas em amostras de alimentos

Número de aulas: 2 aulas (aproximadamente 50 minutos cada). Neste tempo estão incluídas a fundamentação teórica e a execução da atividade prática pelos estudantes.

Problematização

Um dos principais problemas para o ensino de técnicas como a espectrofotometria de UV/Vis é o alto custo dos equipamentos e a necessidade de um ambiente específico para atividades experimentais, como um laboratório. Infelizmente, a realidade das escolas públicas brasileiras é bem diferente e a grande maioria não possui tais condições. Além disto, vivemos um momento de isolamento social, onde as aulas são remotas, em sua maioria, e mesmo que a escola possua tais condições não há acesso aos laboratórios.



Tendo em vista a importância da experimentação para o ensino de química, a presente aula tem como objetivo viabilizar que os estudantes se apropriem de conhecimentos, a partir de práticas laboratoriais alternativas, mesmo sem estar em um laboratório.

Então, será que é possível realizar a quantificação de proteínas em alimentos utilizando materiais e equipamentos alternativos? Até mesmo em casa?

OBJETIVO GERAL

Quantificar proteína em amostras de alimentos utilizando os princípios de absorção molecular e materiais alternativos.

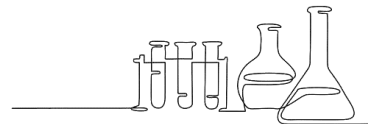
Objetivos específicos

- Compreender os principais fundamentos da técnica de espectrofotometria de UV/Vis;
- Conceituar os componentes das imagens digitais;
- Relacionar os fundamentos da espectrofotometria de UV/Vis com a utilização de imagens digitais para fins analíticos;
- Construir uma curva de calibração com valores experimentais obtidos a partir de reagentes químicos e equipamentos alternativos.

METODOLOGIA DE ENSINO

Quadro Sintético da Aula

Aula	Conteúdo	Objetivo de aprendizagem	Duração
Momento pedagógico 1: Fundamentação teórica de conceitos essenciais da espectrometria de absorção molecular e sobre imagens digitais.	Espectrofotometria de UV/Vis, construção de curva de calibração e determinação da concentração de analitos em amostras.	Que o estudante se aproprie de conceitos da espectrometria de UV/Vis e sobre o emprego de imagens digitais para análises químicas.	Aproximadamente 50 minutos



Momento pedagógico 2: Atividade prática para a determinação de proteínas em alimentos utilizando método alternativo.	Soluções, cálculo de concentração, construção da curva de calibração e determinação da concentração de analitos.	Construção de curvas de calibração a partir de dados experimentais.	Aproximadamente 50 minutos.
--	--	---	-----------------------------

MOMENTO PEDAGÓGICO 1: Fundamentação Teórica.

TEMPO: 50 minutos aproximadamente. Esse é um período estimado para a realização da fundamentação teórica dos conceitos essenciais para a realização da prática. Caso tais conceitos já tenham sido trabalhados em outro momento, esse tempo pode ser alterado de acordo com a preferência do professor.

ESTRATÉGIA DE ENSINO: Aula expositiva dialogada.

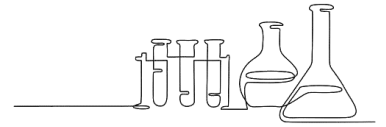
OBJETIVO: Que o estudante se aproprie de fundamentos da espectrofotometria de absorção molecular e da utilização de imagens digitais para a quantificação de analitos em amostras (análise química).

MATERIAIS DE APOIO: Slides e/ou quadro branco.

DESCRIÇÃO:

O primeiro momento pedagógico é destinado à fundamentação teórica, neste espaço deve ser abordado conceitos fundamentais para a realização da prática e também para futuras discussões. Deste modo, sugere-se que a aula seja expositiva utilizando slides e/ou quadro branco, ou também se o professor preferir outra abordagem para a apropriação desses conceitos pode ser feito da maneira julgada mais adequada para a turma em questão.

Entre os conceitos essenciais para o desenvolvimento da prática estão os relacionados à espectrofotometria de absorção molecular, tais como: a formação das cores; propriedades da radiação eletromagnética; o espectro eletromagnético; princípios e instrumentação básica do método espectrofotométrico; espectroscopia óptica e a espectroscopia de UV/Vis. A partir desses conceitos inicia-se a discussão sobre colorimetria e imagens digitais, abordando conceitos como o que é uma imagem digital, o modelo RGB, relação cor x concentração (métodos colorimétricos), e o método clássico de biureto para a determinação de proteínas.



Para a determinação de proteínas será utilizado o método de biureto modificado. Deve-se destacar aos estudantes que o método se baseia na reação do reagente de biureto (sulfato de cobre e hidróxido de sódio), na presença de um complexante para os íons Cu^{2+} (tartarato de sódio). O complexante foi alterado para antiácido efervescente “sal de frutas” (bicarbonato de sódio, carbonato de sódio e ácido cítrico). Em meio alcalino, os íons Cu^{2+} reagem com as proteínas, resultando em um complexo quadrado planar com as ligações peptídicas, que apresenta uma coloração azul intensa.

MOMENTO PEDAGÓGICO 2: Prática Experimental

TEMPO: 50 minutos. Esse tempo estimado inclui a preparação das soluções; a reação da proteína com o reativo de biureto; a construção da curva e a captura das imagens de cada ponto da mesma; construção da curva de calibração no próprio aplicativo; o preparo das amostras de alimento e sua reação com o reativo de biureto bem como a captura da imagem da solução final e a determinação da concentração de proteínas.

ESTRATÉGIA DE ENSINO: Atividade prática.

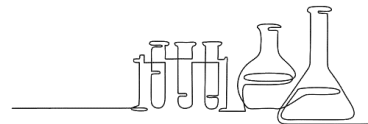
OBJETIVOS: Que os estudantes se apropriem da estratégia de construção de uma curva de calibração e obtenha informações analíticas a partir desta utilizando equipamentos alternativos e materiais de fácil aquisição.

MATERIAIS DE APOIO: videoaula, reagentes, smartphone (captura das imagens e aplicativo), slides

DESCRIÇÃO:

O segundo momento pedagógico é destinado à realização da prática pelos estudantes. Sugere-se que o aplicativo PhotoMetrix seja inicialmente apresentado aos estudantes, como realizar seu download e suas configurações iniciais. Para isso foi construído um Roteiro Técnico, lá está detalhado todos os passos que se deve seguir para utilizar o aplicativo. Além do Roteiro Técnico, foi desenvolvido um vídeo tutorial que além de exibir o manuseio do aplicativo também indica os parâmetros adequados para a captura da imagem.

Após a introdução ao aplicativo orienta-se que seja abordado a construção da curva de calibração e que os estudantes irão observar que a coloração da solução irá se tornar mais intensa



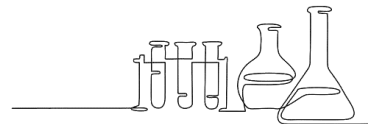
de acordo com a quantidade de proteínas. A prática experimental será dividida em duas partes sendo elas a construção da curva de calibração e a determinação da concentração de proteína em amostras de alimentos.

Antes da construção da curva é importante que todas as soluções necessárias sejam preparadas primordialmente para otimizar a realização da prática. A primeira solução preparada será a solução estoque da proteína padrão na qual será empregada albumina de clara de ovo (adquirida comercialmente) na concentração de $3,3 \text{ g L}^{-1}$. A segunda solução é o reativo de biureto preparada a partir da mistura de 5g de antiácido (sal de frutas sem sabor), após completa efervescência é adicionado 1,2 g de CuSO_4 e por fim 1,0 g de NaOH. É importante orientar os estudantes quanto ao manuseio do hidróxido de sódio por se tratar de uma substância corrosiva.

Para a construção da curva de calibração serão realizadas as leituras de 7 pontos de concentração sendo elas 0; 0,2; 0,4; 0,9; 1,3; 1,8 e $2,2 \text{ g L}^{-1}$. Para isso a solução estoque do padrão de proteína deve ser diluída a fim de se chegar às outras 7 soluções como indica a Tabela 1. Após preparadas, são adicionados 2,5 mL do reativo de biureto em todas os tubos. O preparo das soluções tá indicado na Tabela 1. Nesta parte da prática é possível que seja revisão conceitos como soluções e concentração, você pode estimular seus estudantes a realizarem esses cálculos sozinhos. Após todas as soluções de proteínas terem reagido com o reativo de biureto deve-se realizar a captura das imagens conforme descrito no roteiro técnico. Ao fim das 7 capturas o aplicativo irá montar automaticamente a curva de calibração, o passo seguinte é realizar a leitura da amostra de alimento. Se atente para seguir os passos descritos no roteiro técnico, pois a construção da curva de calibração realiza-se a leitura das amostras.

Tabela 1. Composição das soluções padrão preparadas para construção da curva de calibração.

Tubo	Solução padrão de proteína (mL)	Água (mL)	Reativo de biureto (mL)	Concentração de proteína (g L^{-1})
1	0	5,0	2,5	0
2	0,5	4,5	2,5	0,2
3	1,0	4,0	2,5	0,4
4	2,0	3,0	2,5	0,9
5	3,0	2,0	2,5	1,3
6	4,0	1,0	2,5	1,8
7	5,0	0	2,5	2,2



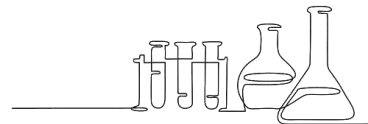
A segunda parte da prática é destinada a determinação da concentração de proteína em amostras de alimentos. Amostras de alimentos como leite desnatado e clara de ovo podem ser analisadas sem a necessidade de um preparo prévio. Todavia, em amostras de alimentos como caldo de frango e suplementos alimentares (*whey protein*) se faz necessário a solubilização de 0,3 g do pó em 100 mL de água. Para a análise são transferidos 5 mL da amostra para um tubo e adiciona-se 2,5 mL do reativo de biureto aguardando em seguida a reação por aproximadamente 15 minutos. Após este período é realizada a captura da imagem como descrito no roteiro técnico. Após captura a concentração da amostra será indicada na curva de calibração.

Nesta segunda parte da prática experimental onde se determina a concentração de proteína em amostras de alimentos é possível o desenvolvimento de atividades interdisciplinares com disciplinas como a biologia e/ou educação física, sendo desta forma possível trabalhar as atividades biológicas e importância das proteínas.

AVALIAÇÃO

Como método de avaliação das competências desenvolvidas propõe-se que os estudantes desenvolvam um *podcast*, em substituição ao tradicional relatório escrito. Essa atividade pode ser realizada em grupo. O tema do *podcast* é a determinação de proteína em alimentos pelo método de biureto e os estudantes devem abordar o método de biureto e apresentar os resultados encontrados na prática do modo que considerarem adequado. O tempo sugerido de duração do *podcast* é de 3 a 5 minutos.

O *podcast* enquanto recurso didático é uma ferramenta motivadora de discussões a respeito do conteúdo, enfatizando os conceitos abordados em sala de aula (LEITE, 2015). As características de um *podcast* educacional são: a interação, o conteúdo, a linguagem e a temporalidade (Guia do Podcast, 2019). A interação reflete o envolvimento dos estudantes que irão desenvolver o material e os que irão consumi-lo, sendo que essa troca de materiais pode acontecer por redes sociais e e-mail dentro e fora da escola. O conteúdo refere-se aos conhecimentos trabalhados em sala de aula e que serão modificados do modelo tradicional para uma linguagem apropriada a esse tipo de ferramenta. A linguagem pode ser formal ou informal, tendo em vista que a comunicação referente ao tema e aos conceitos deve ocorrer de modo leve e atrativo. E por fim, a temporalidade, que está relacionada com a facilidade de acesso, ou seja,



o estudante pode acessar o material no tempo e local que desejar. Para mais informações sobre essa ferramenta, acesse o Guia Podcast (vide referências).

LEITURAS DE APOIO (Sugestões para estudo dos conceitos envolvidos neste experimento):

- Fundamentos da colorimetria:

http://www2.dbd.puc-rio.br/pergamum/tesesabertas/0621484_09_cap_02.pdf

- Colorimetria e Espectrofotometria:

<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc03/historia.pdf>

- Preparo de soluções:

http://www.quimica.ufpr.br/fmatsumo/antigo/2011_CQ092_PreparacaoDeSolucoes_Pratica2.pdf

- MELO, C. C.; OLIVEIRA, R. C. B.; SOUZA, A. N. A utilização da experimentação como aporte de atividades problematizados para a significação de conceitos químicos no ensino médio. Debates em Educação, v. 11, n.24, 2019.

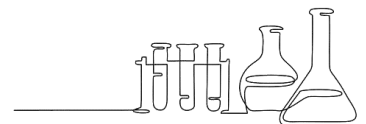
- FERNANDES, F. P.; MENDES, A. N. D.; ROSA, D. L. Desenvolvimento e aplicação do jogo “concentração” para trabalhar o conteúdo de soluções no ensino médio. In: Encontro Nacional de Ensino de Química, XVII ENEQ, 2016, Florianópolis.

Referências:

LEITE, B. S. Elaboração de podcasts para o ensino de química.

Guia Podcast. Disponível em: https://www.fps.edu.br/ead/images/GUIA_pODCAST03.pdf.

APÊNDICE 3



Roteiro dos Estudantes

Determinação de proteínas em alimentos baseada no método de biureto

Para tornar possível realizar a determinação de proteínas em amostras de alimentos empregaremos nesta prática o método de biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949; GEE; et al. 2017). O método se fundamenta na mudança de coloração da solução em virtude da reação entre o reativo de biureto e a proteína, resultando em um produto (complexo) de coloração azul. A coloração da solução é dependente da concentração de proteína, desta forma quanto maior for a concentração de proteína maior será a intensidade da coloração azul. Por se tratar de uma solução colorida, a análise será baseada nos fundamentos da espectrofotometria de absorção molecular, mas ao invés de empregar equipamentos clássicos, usaremos um celular!

Materiais e reagentes

❖ Reagentes

- ✓ 1 envelope de antiácido “sal de frutas” sem sabor
- ✓ Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- ✓ Hidróxido de sódio (NaOH)
- ✓ Albumina de clara de ovo (80%)
- ✓ Amostras de alimento (exemplos: clara de ovo, leite, caldo de carne, etc.)

❖ Materiais

- ✓ Balança digital de cozinha
- ✓ 7 Copinhos plásticos transparentes (50 mL)
- ✓ 1 Copo graduado (medidor de cozinha)
- ✓ 4 Copos plásticos transparentes (200 mL)
- ✓ 3 Colheres de plástico
- ✓ 2 Seringas plásticas de 10 mL

Preparo das soluções

❖ Reativo de biureto

Para o preparo de reativo de biureto, em um copo plástico de 200 mL, dissolva o conteúdo de 1 envelope (5 g) de sal de frutas sem sabor em 100

mL de água (meça com auxílio do copo medidor). Após o término da efervescência, adicione 1,2 g de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 1,0 g de hidróxido de sódio (NaOH), agitando a solução com o auxílio de uma colher de plástico até a completa dissolução dos sais. Reserve a solução.

ATENÇÃO! Cuidado ao manusear o reagente hidróxido de sódio, pois trata-se de uma substância corrosiva. Recomenda-se o uso de luvas e óculos de proteção.

❖ Padrão de proteína

A proteína utilizada na construção da curva de calibração será a albumina de clara de ovo (80%) em uma concentração de $3,3 \text{ g L}^{-1}$. Para isso deve-se dissolver 0,3 g de proteína em 80 mL de água.

Obs.: Em um primeiro momento, tente realizar os cálculos de concentração sozinho(a) ou em grupo!

Metodologia experimental

❖ Curva de calibração

Para a construção da curva de calibração iremos preparar 7 soluções com diferentes concentrações de proteína (albumina) e na sequência colocaremos em contato com o reativo de biureto.

Primeiramente enumere os copinhos plásticos de 1 a 7, em seguida com o auxílio de uma seringa, adicione em cada um desses copinhos os volumes de proteína e água indicados na Tabela 1.

Tabela 1. Preparo das soluções padrão de proteína (albumina) para construção da curva de calibração.

Tubo	Solução padrão de proteína (mL)	Água (mL)	Reativo de biureto (mL)	Concentração de proteína (g L^{-1})
1	0	5,0	2,5	0
2	0,5	4,5	2,5	0,2
3	1,0	4,0	2,5	0,4
4	2,0	3,0	2,5	0,9
5	3,0	2,0	2,5	1,3
6	4,0	1,0	2,5	1,8
7	5,0	0	2,5	2,2

Após finalizar o preparo das soluções padrões de proteína, adicione 2,5 mL da solução do reativo de

