



PRÁTICA VIRTUAL DE BIOQUÍMICA: CROMATOGRAFIA ASCENDENTE EM PAPEL DE AMINOÁCIDOS

Geancarlo Zanatta: aluno de mestrado do PPGCB-Bioquímica-UFRGS; técnico de laboratório do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS; geancarlo.zanatta@gmail.com;
Cassia Garcia Moraes: aluna do curso de Farmácia-UFRGS; monitora da disciplina de Bioquímica I; cassia.moraes@ufrgs.br;
Eduardo Rigon Zimmer: aluno do curso de Farmácia-UFRGS; monitor da disciplina de Bioquímica I; duduzimmer@hotmail.com;
Lucas Ewald: aluno do curso de Farmácia-UFRGS; monitor da disciplina de Bioquímica I; lucas.ewald@hotmail.com;
Letícia Ferreira Pettenuzzo: bolsista do Programa Nacional de Pós-Doutorado/CNPq-PPGCB-Bioquímica; leticiapettenuzzo@yahoo.com.br;
Christianne Gazzana Salbego: professora do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS; Professora da disciplina de Bioquímica I, curso de Farmácia, UFRGS; salbego@terra.com.br;
Vera Maria Treis Trindade: professora do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS; Professora da disciplina de Bioquímica I, curso de Farmácia, UFRGS; vmtt@ufrgs.br.

Resumo

Cromatografia consiste num método de análise de componentes de uma mistura complexa baseada em diferentes critérios: adsorbilidade, solubilidade, massa molecular, carga iônica e afinidade. É um importante conteúdo da disciplina Bioquímica. Este trabalho relata o desenvolvimento e a validação de um *software* de simulação laboratorial denominado *Cromatografia Ascendente em Papel de Aminoácidos* usando a ferramenta o Adobe® Flash® CS3. A organização e a coleta do material multimídia ocorreram no semestre 2008/2. As imagens mais representativas foram inseridas no objeto de aprendizagem. A primeira aplicação deste objeto foi realizada em 2009/1, na Bioquímica I (Farmácia-UFRGS). Com base nesta experiência, uma nova versão foi desenvolvida a qual foi utilizada pelos alunos da mesma disciplina em 2009/2. Após uma aula expositiva de 50 minutos (teórico-prática), os alunos dos dois semestres foram divididos em dois grupos. O grupo I respondeu a um questionário sobre conceitos básicos de cromatografia e depois utilizou o *software*. O grupo II foi submetido ao protocolo inverso. Os grupos também avaliaram os aspectos técnicos da animação/simulação e a atividade realizada. Associando os resultados das duas aplicações (2009/1 e 2009/2), o objeto de aprendizagem em questão pode ser considerado válido como suporte para o ensino prático de Bioquímica básica.

Palavras chaves: cromatografia em papel, aminoácidos, objeto de aprendizagem



Virtual practice of biochemistry: *Ascendant Chromatography on Paper of Aminoacids.*

Abstract

Chromatography is a method used for analyses of mixture components based on different criteria: adsorbability, solubility, molecular mass, ionic charge and affinity. It is an important subject of Biochemistry. This work reports the development and the validation of a software that simulated a laboratory activity named *Ascendant Chromatography on Paper of Aminoacids*. The organization and the multimedia material collection were done during the 2008/2 semester. The most representative images were inserted into the learning object. The tool used for the software development was Adobe® Flash® CS3. The first application of this object was in Biochemistry I (Pharmacy-UFRGS) in 2009/1. Using this experience, a new version was developed which was tested by the students of the same subject in 2009/2. After a 50-minute class (theoretical-practical), the students of both semesters were divided in two groups. Group I answered a questionnaire about chromatography basic concepts and after used the software. Group II was submitted to an inverse protocol. The groups also evaluated the technical aspects of the software animation/simulation and the activity carried out. Associating both applications results (2009/1 and 2009/2), the present learning object can be valid as a support for practical teaching of basic biochemistry.

Keywords: chromatography on paper, aminoacids, learning object

Introdução

A cromatografia é um processo de separação de componentes de uma mistura complexa baseada em diferentes critérios: adsorbilidade, solubilidade, massa molecular, carga iônica e afinidade. Os mais variados compostos de uma mistura podem ser separados, desde íons complexos, até aminoácidos, peptídeos, proteínas, glicídios, lipídios, nucleotídeos, entre outros. A técnica pode ser utilizada isoladamente ou em conjunto a outros métodos instrumentais, com a finalidade de isolar, identificar e quantificar substâncias químicas (Clark and Switzer, 1977).

Devido à simplicidade, à versatilidade e à grande utilidade da técnica, ela é aplicada em diversos campos da ciência, dentre eles o da Farmácia, onde a disciplina de Bioquímica I aplica a técnica em uma aula de *Cromatografia Ascendente em papel de Aminoácidos* (Dick, 1971), conteúdo este, que não é contemplado por softwares educacionais disponíveis até o momento.

O recurso de ensino normalmente utilizado corresponde a aulas teórico-práticas expositivas e prática laboratorial. Em função disto, surgiu a proposta de se utilizar *softwares* educacionais para revisão destes conceitos como um novo recurso. Um *software* que dê suporte ao ensino teórico-prático, permitindo que a aula real possa ser recordada-visualizada facilmente de forma virtual (Figura 1).

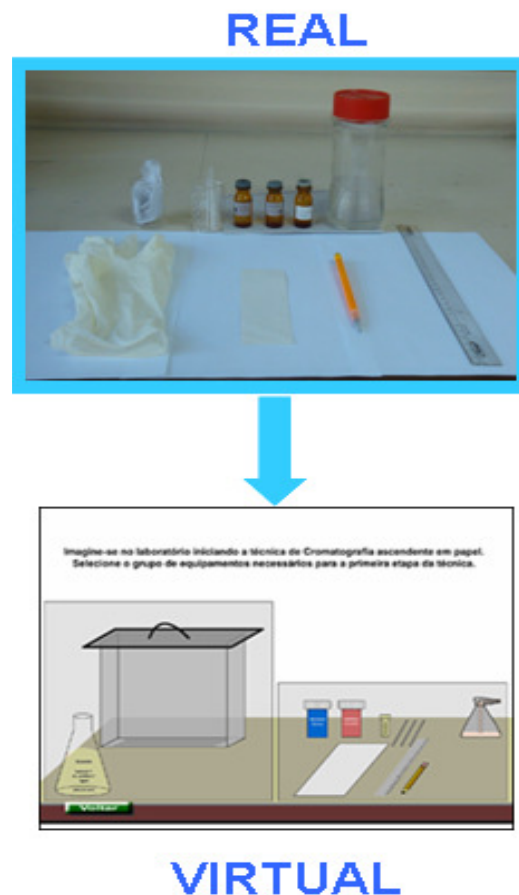


Figura 1. Comparação entre o material real e o virtual utilizado no *software*.

Com esse intuito, foi desenvolvido e validado o objeto de aprendizagem mediado por computador denominado *Cromatografia Ascendente em papel de Aminoácidos*. Este



software educacional foi concebido visando às ações de: a) estimular a construção de uma idéia geral sobre cromatografia, b) reforçar os princípios básicos que regem uma cromatografia e c) colaborar na sedimentação cognitiva do processo prático de preparação e execução de uma cromatografia ascendente em papel de aminoácidos.

Objetivos

O objetivo deste trabalho é o de relatar o desenvolvimento do objeto de aprendizagem denominado *Cromatografia Ascendente em Papel de Aminoácidos*, assim como, o seu processo de validação como recurso adicional de ensino, simulando uma atividade prática associada a desafios virtuais.

Metodologia

A metodologia de trabalho consistiu em dois estágios compostos por duas etapas. A etapa-1 do primeiro estágio teve início no segundo semestre de 2008, através do desenvolvimento, da organização e da coleta do material multimídia. Esta coleta ocorreu durante a realização da atividade prática *Cromatografia em Papel de Aminoácidos*, no laboratório de ensino de graduação do Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS. Posteriormente, houve uma seleção e edição das imagens obtidas, as quais foram inseridas no objeto de aprendizagem, que se fundamentou no binômio “imagem-cartoon” associada a desafios virtuais de procedimentos corretos/incorretos. A ferramenta utilizada para construção do objeto foi o Adobe® Flash® CS3, programa que permite a criação de simulações animadas e a inserção de imagens. A etapa-2 do primeiro estágio correspondeu às diferentes avaliações realizadas pela turma do semestre de 2009/1, da disciplina de Bioquímica I (Farmácia/UFRS), ou seja, conteúdos básicos sobre cromatografia (questionário 1), considerações técnicas sobre o objeto de aprendizagem (questionário 2) e sobre a pertinência da atividade (questionário 3).

Questionário 1:

Questionário sobre o conteúdo básico de cromatografia Grupo: ____

Responda as perguntas abaixo:

- A) Defina Cromatografia. Dê exemplos.
- B) As soluções padrão são utilizadas com que propósito em uma análise cromatográfica?
- C) O que é a fase móvel? E a fase estacionária? Qual é a importância do solvente ou mistura de solventes utilizados?
- D) Por que a ninhidrina se mostra um revelador adequado para a cromatografia em papel de aminoácidos? Explique a reação química envolvida no processo.
- E) O que significa Rf. Qual é a sua importância?

**Questionário 2:****Questionário de avaliação do software "Cromatografia em Papel de Aminoácidos"**

Avalie os tópicos descritos abaixo em relação ao *software* de apoio utilizado (Cromatografia Ascendente em Papel de Aminoácidos). Utilize os valores de 1 a 5 para responder, sendo que 1 representa o menor grau e 5 o maior grau.

	1	2	3	4	5
1. O formato de exibição na tela é adequado.					
2 - As opções na tela de apresentação são intuitivas.					
3 - A disposição dos objetos na tela foi adequada e representativa.					
4 - O volume de informação por tela é adequado.					
5 - O esquema de cores é agradável.					
6 - A navegação no programa está adequada e acessível.					
7 - O programa pode ser operado sem conhecimento prévio de sistemas de computação exceto ambiente Windows e Internet Explorer.					
8 - As mensagens do programa apresentam vocabulário adequado aos usuários.					
9 - As mensagens estão escritas segundo normas ortográficas da língua portuguesa.					
10 - As orientações ao usuário são abrangentes e acessíveis, dando suporte suficiente para a utilização do programa.					
11 - Na sua opinião, o programa auxilia o aprendizado do usuário.					
Pontuação total:					

Questionário 3:**Questionário da avaliação da atividade**

Avalie seu aprendizado, segundo os objetivos destacados abaixo, através da atividade proposta. Utilize os valores de 1 a 5 para responder, sendo que 1 representa o menor grau de aprendizado e 5 o maior grau.

	1	2	3	4	5
Visão geral da cromatografia					
Compreensão dos princípios básicos da cromatografia					
Compreensão do procedimento prático de preparação e execução de cromatografia ascendente em papel de aminoácidos					

A partir dos dados obtidos nestas primeiras avaliações foi iniciada a etapa-1 do segundo estágio. Nesta etapa foram discutidas as sugestões para o aprimoramento do objeto e traçadas as estratégias para a inclusão das mesmas numa segunda versão deste objeto de aprendizagem. A etapa-2 do segundo estágio correspondeu às diferentes avaliações mencionadas acima, as quais foram realizadas pela turma do semestre 2009/2, da mesma disciplina.

Para a realização das avaliações, as turmas dos dois semestres foram divididas em dois grupos de 28 alunos (2009/1) e de 23 alunos (2009/2). Os grupos I responderam ao questionário sobre o conteúdo de cromatografia (questionário 1) antes da exposição ao objeto de aprendizagem, enquanto os grupos II, responderam ao mesmo questionário depois de ter contato com o *software* educacional. Ambos os grupos tiveram antes das avaliações uma aula expositiva de 50 min

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância de uma via através do programa SPSS versão 11, considerando o nível de significância $p < 0,05$.

Resultados

Desenvolvimento do objeto de aprendizagem

A tela inicial corresponde à identificação do objeto e do grupo de trabalho e a de sua origem institucional (Figura 2).



Figura 2. Identificação do Objeto de Aprendizagem.

O desenvolvimento objeto de aprendizagem, que se fundamentou no binômio “imagem-cartoon” considerando que o real possa ser recordado-visualizado facilmente de forma virtual (Figura 1, 3).

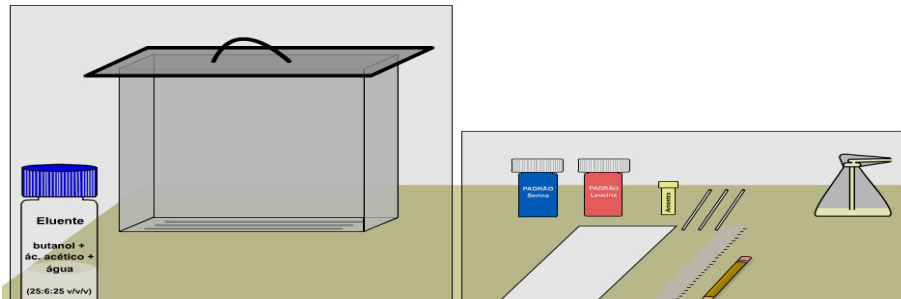


Figura 3. Comparação da marcação dos pontos de aplicação dos padrões e da amostra na imagem real (A) e no *cartoon* (B).

Outro item importante associado ao Objeto de Aprendizagem foi a inclusão de desafios virtuais de procedimentos corretos/incorretos (Figura 4).

A

Imagine-se no laboratório iniciando a técnica de Cromatografia ascendente em papel. Selecione o grupo de equipamentos necessários para a primeira etapa da técnica.



B

Resposta errada!

Para iniciar, deve-se primeiro preparar a cuba cromatográfica colocando-se a mistura de solventes com 24 horas de antecedência para a saturação.

[Voltar](#)

Figura 4. Exemplo de desafio inserido no Objeto de Aprendizagem (A) e comentário sobre uma escolha incorreta (B).

Analisando as figuras 3B e 4 que são representativas da versão-1 do *software* verificou-se que era importante caracterizar melhor a régua, acrescentar telas com respostas corretas comentadas etc. Baseado nisto, assim como, nas sugestões e avaliações dos alunos de Bioquímica I de 2009/1 decidiu-se aperfeiçoar todo material adicionando informações extras, melhorando os recursos de navegação, explicando os procedimentos acertados, melhorando o visual na íntegra configurando a versão 2.0 (Figura 5).

PRINCÍPIO DA TÉCNICA DE REVELAÇÃO

A cromatografia (derivado do grego *chroma* = cor e *grafia* = escrita) é um método de separação de substâncias que se baseia na diferença de afinidade das mesmas por uma fase estacionária e uma fase móvel. A fase estacionária é geralmente um sólido suportado por um material inerte, enquanto a fase móvel é um líquido ou gás que se move através da fase estacionária.

A reação de copolímero com aminoácidos livres, apresenta umidade e é sempre com o mesmo resultado. A reação é também comum para aminoácidos primários e secundários, mas não para os aminoácidos terciários e quaternários.

Com o papel e o indicador apropriados, obtém-se uma mancha única e bem definida.

Devido a sua versatilidade, a reação em questão é usada para determinar qualitativamente aminoácidos em amostras biológicas, bem como é muito utilizada para a identificação quantitativa de aminoácidos em frações eluídas de colunas cromatográficas.

Para secar, coloque o papel cromatográfico na estufa (60°C) até que a cor se desenvolva.

Resposta Correta!

Para iniciar, deve-se primeiro preparar a cuba cromatográfica colocando-se a mistura de solventes com 24 horas de antecedência para a saturação. O eluente é composto pela mistura de solventes butanol:ácido acético:água (25:6:25 v/v/v). Esta é a fase móvel da cromatografia, a qual migrará sobre o papel cromatográfico.

A **B**

Figura 5. Alterações na interface gráfica da versão 2.0. Acréscimo do princípio da reação ninhidrina (A). Acréscimo da resposta correta com a justificativa (B)

Avaliação do Conteúdo básico sobre cromatografia

A avaliação do conteúdo sobre cromatografia foi realizada através de cinco questões de níveis fácil, médio e difícil, cuja pontuação máxima era de cinco pontos. O primeiro resultado apresentado, sobre a avaliação do conteúdo, é uma comparação entre as duas versões do software avaliadas nos semestres de 2009/1 e 2009/2. Analisando o gráfico (Figura 6), podemos observar que não houve diferença de desempenho estatisticamente significativa (para um $p < 0,05$) entre os semestres. À exceção da primeira questão, que pedia ao aluno uma definição sobre cromatografia e exemplos de outros tipos da técnica, nessa questão os alunos do segundo semestre obtiveram um menor desempenho. Em função disto, de não haver diferença entre os semestres na maioria das questões optou-se por utilizar as médias dos dois semestres para a comparação entre os grupos I e II.

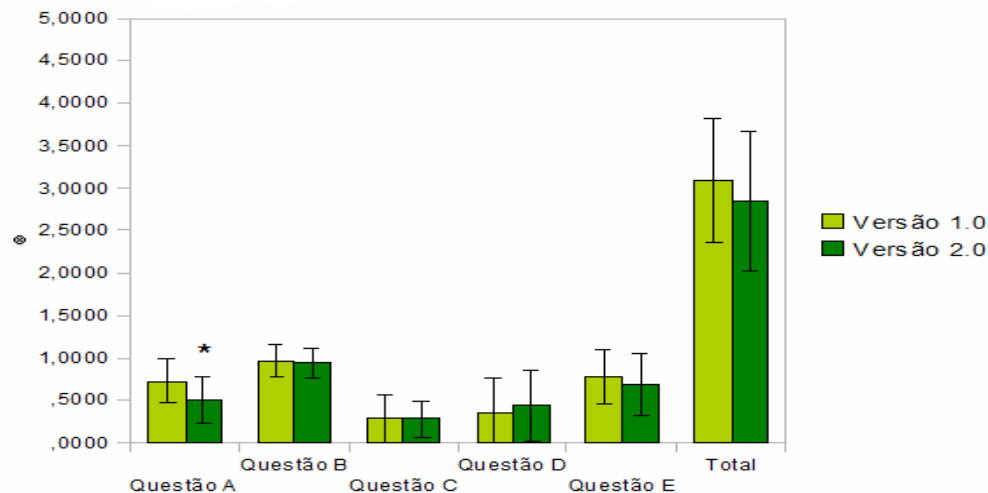


Figura 6. Comparação do desempenho segundo pontuação do questionário de conteúdo sobre cromatografia respondido em 2009/1 e 2009/2 (Questionário 1). À exceção da questão A, não se observou diferença significativa entre o desempenho dos alunos submetidos às diferentes versões. (* $p < 0,05$)

Por outro lado, comparando os grupos (antes e depois da exposição ao *software*), observa-se que a população que utilizou o *software* antes de responder às perguntas sobre o conteúdo (grupo II) apresentou um melhor desempenho na questão B (o propósito da utilização de soluções padrão na técnica), na questão E (a importância e definição da constante específica R_f), e uma tendência de melhor desempenho na questão D, (a adequação da ninhidrina como revelador na técnica) (Figura 7).

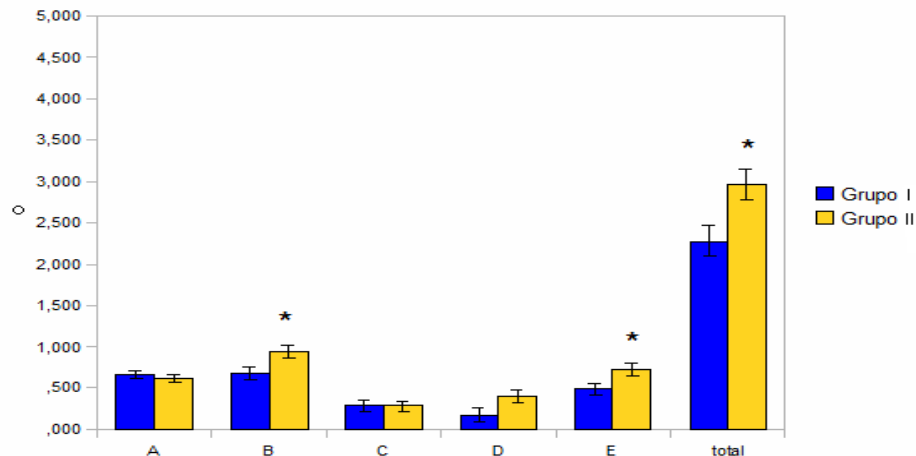


Figura 7. Pontuação obtida pelos grupos I e II em relação às questões sobre o conteúdo da atividade realizada (Questionário 1). Grupo I representa os alunos que responderam ao questionário sem utilizar o software. O grupo II utilizou o software antes de responder o questionário (* $p < 0,05$).

Avaliação do Software

Para avaliação do software utilizamos onze perguntas relacionadas ao *layout* e funcionalidades do objeto, listadas no Questionário 2, onde os alunos atribuíram uma pontuação de um a cinco para onze questões, sendo 1 considerado insuficiente e 5 excelente. De maneira geral, os alunos avaliaram de forma positiva o desenho gráfico e as funcionalidades do *software*, pois a maioria dos alunos avaliou como excelente os aspectos questionados, representado pela cor azul no gráfico (Figura 8).

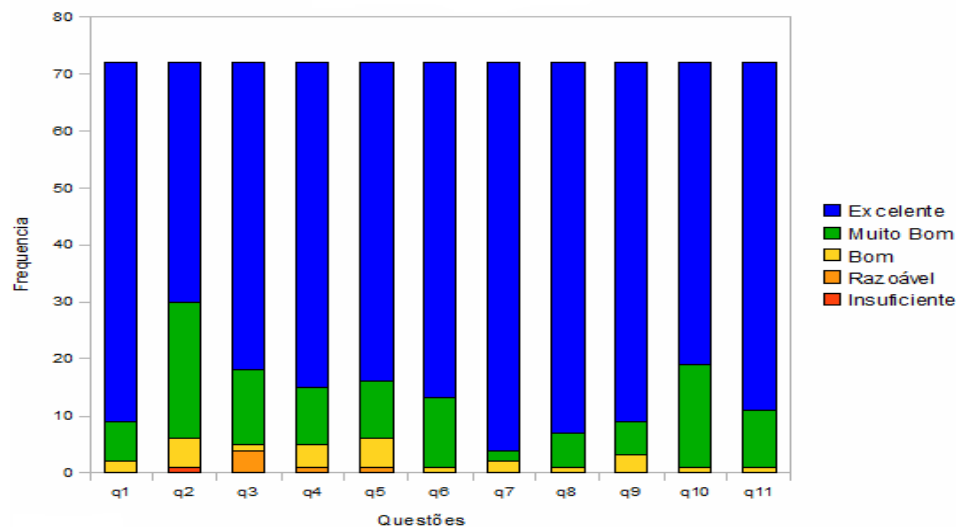


Figura 8. Avaliação do Objeto de Aprendizagem pelos alunos, através de questões relacionadas ao *layout* e funcionalidades do *software*.

Avaliação da atividade

O terceiro questionário avalia a utilização do objeto de aprendizagem abordando a avaliação do aprendizado do aluno quanto aos objetivos proporcionados através do uso do

objeto. Caso o aluno atribuísse uma pontuação máxima (5 pontos) para determinado objetivo, seu entendimento sobre este seria considerado excelente. Avaliando a atividade de prática virtual quanto aos objetivos, 85% dos alunos consideraram excelente sua percepção quanto à visão geral da cromatografia, representado pelas cores azul e vermelho. Aproximadamente 53% dos alunos avaliaram como excelente a sua compreensão dos princípios básicos da técnica, em azul. Além disso, o entendimento dos princípios do procedimento prático da cromatografia também foi considerado excelente por mais de 61% dos alunos (Figura 9).

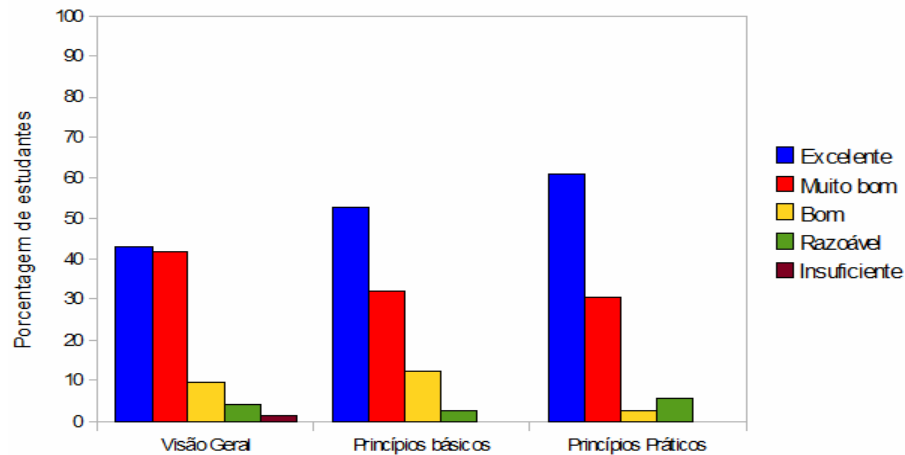


Figura 9. Avaliação dos alunos quanto aos objetivos da atividade de cromatografia através da utilização do software educacional.

Conclusão

Associando os resultados das duas aplicações do *software*, em 2009/1 e 2009/2, o objeto de aprendizagem denominado *Cromatografia em papel de Aminoácidos* atinge os seus objetivos, permitindo aos estudantes a sua utilização como ferramenta de suporte ao ensino prático de bioquímica básica.

Referências

- CLARK, John M.; SWITZER, Robert L. *Experimental Biochemistry*. W.H. Freeman and Company, San Francisco – 2. ed., 1977.
- DICK, Tuiskon. *Introdução à Bioquímica-Práticas I*. Editora Meridional “EMMA”, 2. ed, 1971.

Agradecimentos

Técnicos de laboratório: Lucia Martini Norma Silva, Luiz Paulo Silva Braga, Lia Regina Blazina, Fernanda Timm Souza.

Monitores-Prograd/UFRGS: Thaline da Silva, Rônan Carvalho, Mariana Colombo e André B. Meneghetti.

Alunos de Bioquímica I do curso de Farmácia-UFRGS: Turmas 2008/2, 2009/1, 2009/2.

Suporte Técnico:

CESUP/UFRGS: Jornalista Maria Isabel Timm

Educação em Química-IQ/UFRGS: Prof. José Claudio Del Pino