

## AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE MEDIANTE APLICAÇÃO DE LASER EM SOLUÇÃO ETANÓLICA

SOUSA, Gabrielly Barcelos<sup>1</sup>; LINS, Renata Ferreira<sup>2</sup>

### RESUMO

A terapia fotodinâmica (PDT) gera oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) usando luz visível e fotossensibilizadores. Este estudo avaliou o efeito da concentração de azul de metileno (AM) e do tempo de irradiação com laser de 660 nm na produção de  $^1O_2$  em meio etanólico, usando DPBF como indicador, além da reação redox entre AM e ácido ascórbico (AA). Concentrações baixas de AM favoreceram a produção de  $^1O_2$ , enquanto concentrações altas reduziram sua eficiência. A interação com AA resultou na redução do AM a leucometileno, inviabilizando a análise antioxidante. A cinética mostrou comportamento de primeira ordem em relação ao AM ( $k = 0,0194 \text{ s}^{-1}$ ), evidenciando o potencial do AM como gerador de  $^1O_2$  e a importância de otimizar métodos e compreender interações redox na PDT.

**Palavras-chave:** Terapia fotodinâmica. Azul de metileno. Oxigênio singlete. Cinética química.

### I. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

A terapia fotodinâmica (PDT) é uma técnica que combina luz e fotossensibilizadores para gerar oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), com efeitos antimicrobianos e citotóxicos seletivos, sem induzir resistência microbiana (Moura et al., 2018; Nunes

---

1 Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC/PIBITI). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de XXXX. e-mail.

2 Voluntário do Programa de Iniciação Científica (PIVIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de XXXX. e-mail.



et al., 2018; Elias, 2021; Dutra, 2013). No Brasil, a PDT tem sido estudada como alternativa promissora para o tratamento de feridas crônicas, comuns em pacientes com diabetes e insuficiência vascular, que podem gerar complicações graves e altos custos (Sem, 2021; Neri et al., 2021).

A eficácia da técnica depende de fatores como concentração do fotossensibilizador, tempo de irradiação, meia-vida das espécies reativas de oxigênio e disponibilidade de oxigênio no local (Gonçalves et al., 2019; Entradas et al., 2020; Elias, 2021). Este estudo investigou a influência da concentração de azul de metileno e do tempo de irradiação na produção de  $^1O_2$  em solução etanólica, utilizando DPBF como detector, ressaltando que ajustes desses parâmetros podem aumentar a eficiência da PDT e apoiar o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores e sistemas de liberação controlada (Silva et al., 2022; Rodrigues et al., 2023).

### **BASE TEÓRICA**

A fundamentação teórica desta pesquisa aborda a geração de oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) na terapia fotodinâmica (PDT) e os fatores que influenciam sua eficiência (Moura et al., 2018; Gonçalves et al., 2019). O azul de metileno (AM) foi escolhido como fotossensibilizador devido ao seu alto rendimento quântico e boa absorção de luz (Dutra, 2013; Elias, 2021). Considerou-se também a interação com antioxidantes, como o ácido ascórbico (AA), e a importância da cinética química para compreender e modelar as reações fotoinduzidas (Rodrigues et al., 2023; Silva et al., 2022), fundamentando a metodologia adotada.

## **II. OBJETIVOS**

**Objetivo geral:** Avaliar a produção de oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) em solução etanólica utilizando azul de metileno irradiado por laser de 660 nm.



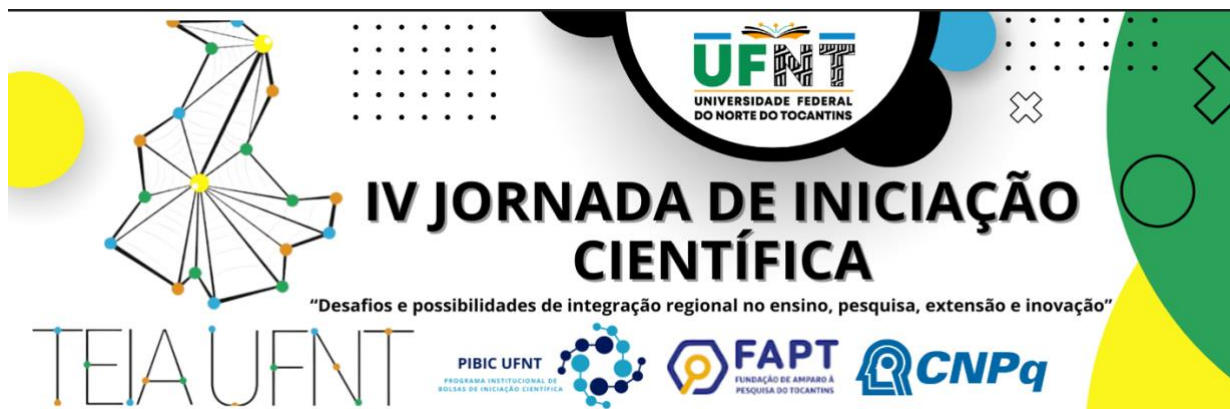
**Objetivos específicos:** analisar a influência da concentração do AM e do tempo de irradiação na formação de  $^1\text{O}_2$ ; investigar a interação entre AM e ácido ascórbico; e estudar a cinética da reação AM-AA em meio neutro, propondo a lei de velocidade em relação ao AM.

### III. METODOLOGIA

Este estudo experimental *in vitro*, realizado no laboratório de química da Universidade Federal do Norte do Tocantins, avaliou a produção de oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) por soluções de azul de metileno (AM) em etanol/água (50/50 v/v), investigou a ação antioxidante do ácido ascórbico (AA) e analisou a cinética da reação AM-AA. Foram preparadas soluções com AM em diferentes concentrações (0,0625, 0,125 e 0,250  $\mu\text{M}$ ) e DPBF (44  $\mu\text{M}$ ) como sequestrador de  $^1\text{O}_2$ , irradiadas com laser vermelho de 660 nm (100 mW) por tempos de 0 a 180 s, em triplicata. Para a etapa antioxidante, utilizaram-se proporções crescentes de AA (AM:AA até AM:100AA), enquanto no estudo cinético soluções de AM ( $6,3 \times 10^{-6}$ ,  $1,0 \times 10^{-6}$  e  $1,7 \times 10^{-5}$  mol/L) receberam 3 mL de AA (0,01 mol/L), totalizando 20 mL. As medições foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis (Varian Cary 500 SCAN) nos comprimentos de onda  $\lambda = 420$  nm (DPBF) e  $\lambda = 660$  nm (AM). A produção de  $^1\text{O}_2$  foi determinada pela diminuição da absorbância do DPBF, enquanto a ação antioxidante e a cinética de oxirredução foram analisadas a partir da variação da absorbância em função das concentrações de AM e AA.

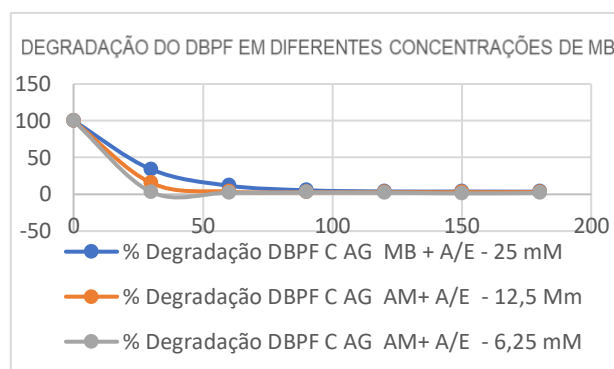
### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A degradação do DPBF foi completa após 50 s de irradiação, variando conforme a concentração de AM. A solução com 0,625 mM apresentou maior eficiência fotodinâmica, atribuída à melhor penetração do laser, enquanto



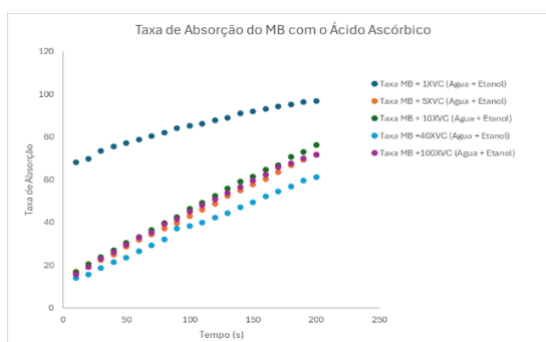
concentrações mais altas limitaram a reação à superfície, reduzindo a geração de oxigênio singlete.

Figura 1: Degradação do DBPF em diferentes concentrações de AM



Embora tenha sido confirmada a formação de  $^1O_2$ , a produção de radicais livres diminuiu com o aumento da concentração de AM, indicando a necessidade de otimização do método. A reação entre azul de metileno e ácido ascórbico mostrou-se redox, com redução do AM a leucometileno, impossibilitando a avaliação da eficiência antioxidante do AA na geração de  $^1O_2$ .

Figura 5: Taxa de absorção do AM em contato com AA



O estudo cinético da reação de oxirredução entre AM e AA em meio neutro mostrou decaimento da absorbância do AM em função do tempo, sendo a velocidade da reação influenciada pela concentração inicial do AM. Soluções mais concentradas



apresentaram reação mais rápida, enquanto soluções menos concentradas apresentaram tempo maior de decaimento.

Figura 2: Decaimento da absorvância

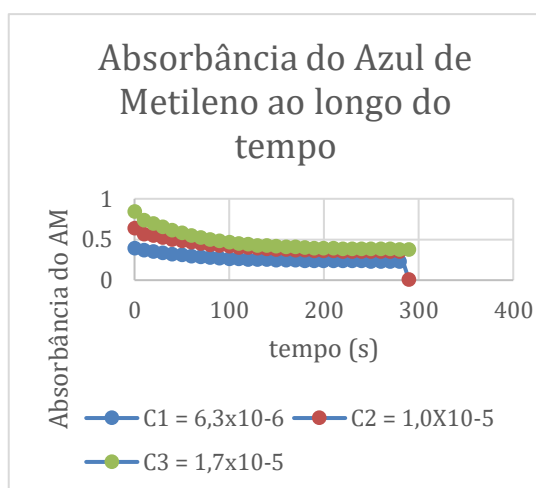


Figura 3: Decaimento da concentração

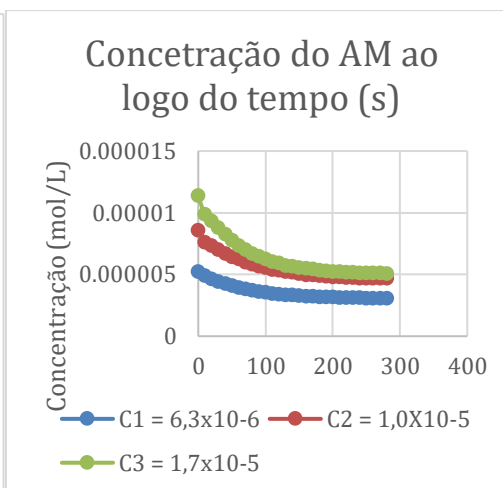
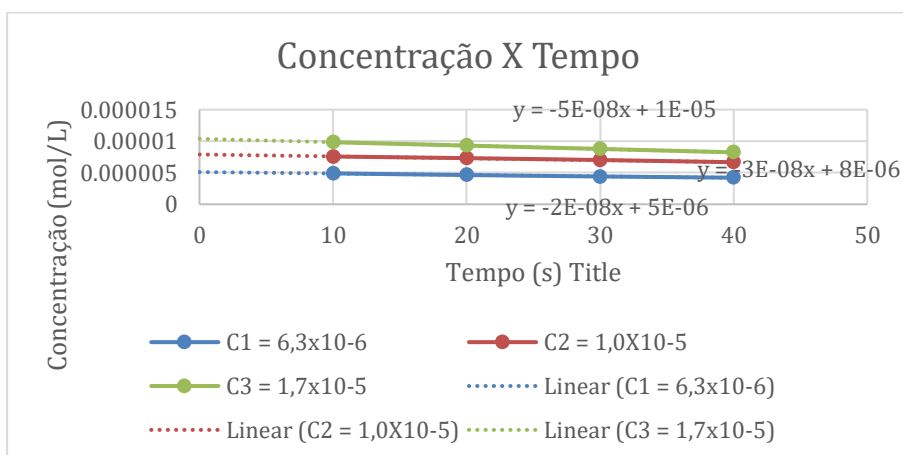
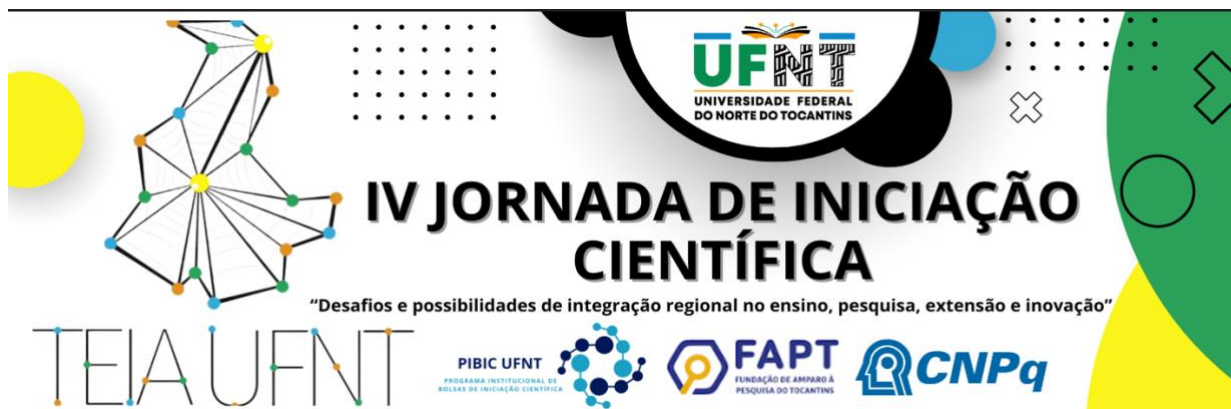


Figura 4: Concentração do AM nos primeiros 60 segundos de reação





A análise da ordem de reação pelo gráfico de  $\log [AM]$  inicial versus  $\log V_0$  indicou uma reação de primeira ordem (aproximadamente 1,2), sendo a lei de velocidade ajustada considerando AA em excesso:  $V = k[AM]$ .

Figura 5: Log da concentração

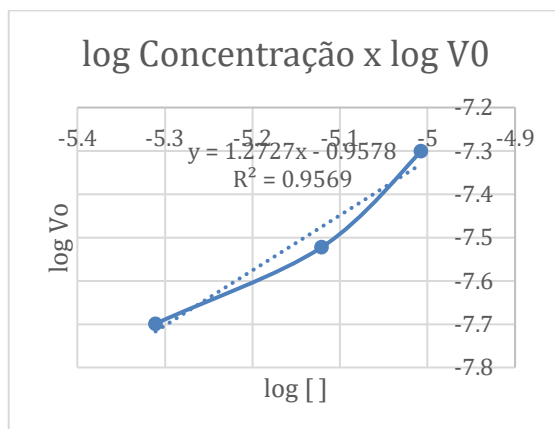
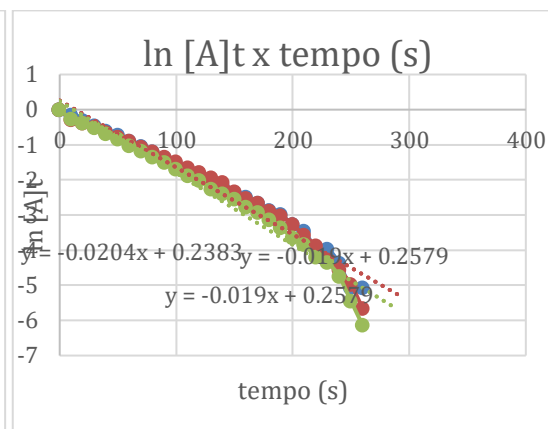


Figura 6: Gráfico  $\ln [AM]$  versus tempo

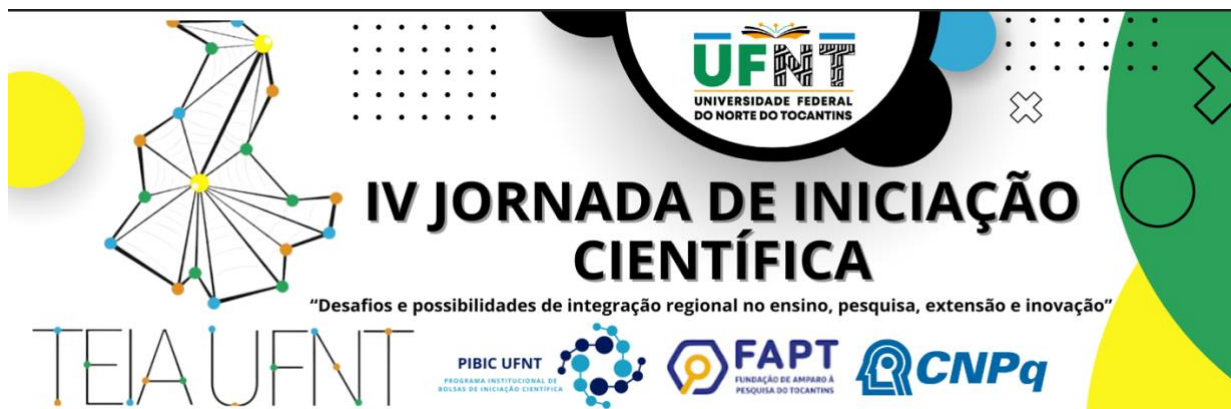


A reação AM–AA em meio neutro apresentou constante de velocidade média de  $0,0194 \text{ s}^{-1}$ , permitindo propor a lei  $V = 0,019 [AM]$  e compreender o comportamento da oxirredução do azul de metileno, servindo de base para futuras análises em outros meios.

## CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo mostrou que o azul de metileno gera oxigênio singlete em meio etanólico de forma mais eficiente em baixas concentrações. A interação com ácido ascórbico revelou um processo redox que inviabiliza a avaliação antioxidante, enquanto a cinética da reação AM–AA apresentou comportamento de primeira ordem ( $k = 0,0194 \text{ s}^{-1}$ ). Esses resultados reforçam a importância de ajustes metodológicos e ampliam a compreensão dos mecanismos redox na PDT.

## REFERÊNCIAS



DUTRA, G. A. M. *Avaliação do fotossensibilizador azul de metileno em diferentes formulações para uso em terapia fotodinâmica*. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

ELIAS, G. M. *Avaliação da liberação de oxigênio singlete e radicais superóxidos em função de diferentes concentrações dos fotossensibilizadores azul de metileno, eosina Y e fluoresceína: análise físico-química*. 2021. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina.

GONÇALVES, R. S. et al. Photodynamic therapy: An overview of the role of oxygen and reactive oxygen species in cancer treatment. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 26, p. 156-167, 2019.

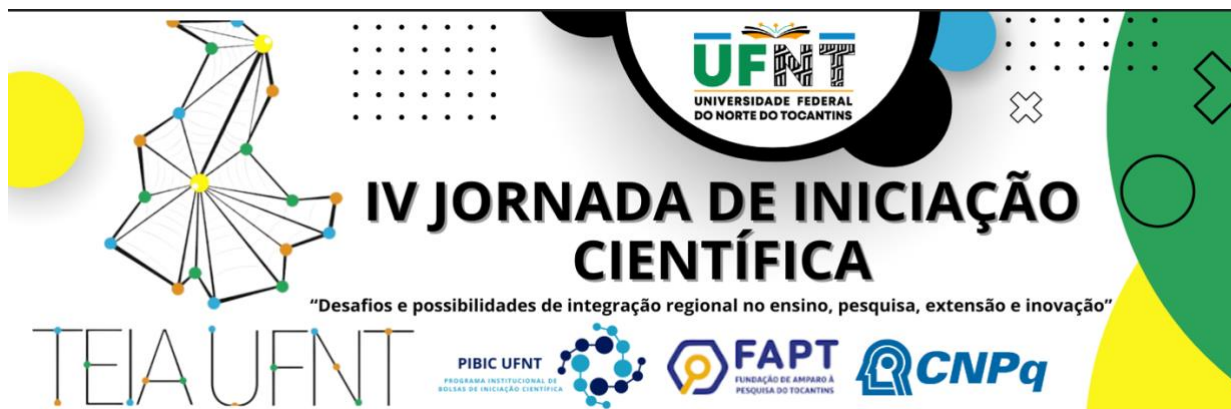
MOURA, A. et al. Mechanisms of antimicrobial photodynamic therapy: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 10, p. 1-21, 2018.

RODRIGUES, A. et al. Emerging strategies in photodynamic therapy for cancer treatment. *Journal of Biomedical Research*, v. 37, n. 2, p. 85-102, 2023.

SEM, C. K. Human wound and its burden: updated 2020 compendium of estimates. *Advances in Wound Care*, v. 10, n. 5, p. 281-292, 2021.

SILVA, P. et al. Photodynamic therapy: New insights into the role of singlet oxygen in biological applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 429, p. 113892, 2022.

VERITASIVM. *Why No One Has Measured The Speed Of Light*. 2023. Disponível em: <https://youtu.be/LolfUk1aFns>. Acesso em: 18 mar. 2025.



#### **IV. AGRADECIMENTOS**

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos à minha orientadora, Dr.<sup>a</sup> Prof.<sup>a</sup> Renata Ferreira Lins da Silva, pelo apoio constante, pela orientação dedicada e pelos valiosos ensinamentos ao longo de toda a execução desta pesquisa. Sua paciência, incentivo e conhecimento foram fundamentais para o desenvolvimento do trabalho e para meu crescimento acadêmico e científico.

Agradeço também à Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) por fornecer a infraestrutura necessária para a realização dos experimentos, assim como ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil, pelo apoio financeiro que tornou este estudo possível.

Por fim, registro meu reconhecimento a todos os colegas e amigos que contribuíram direta ou indiretamente, seja com discussões, apoio técnico ou incentivo durante todo o percurso desta pesquisa. Cada contribuição foi essencial para a concretização deste trabalho.