

Atividade Proteolítica de Enzimas Presentes em Frutas como Proposta de Investigação para o Ensino de Química

Proteolytic Activity of Enzymes Present in Fruits as a Research Proposal for Chemistry Teaching

Paulo V. R. Brito, Bianca A. B. Tavares, Bianca G. Rodrigues & Jocélia P. C. Oliveira

A experimentação no ensino de química é usada como recurso pedagógico que auxilia no processo de produção de saberes. Enzimas são catalisadores biológicos que aumentam a velocidade das reações químicas, existe um grupo de enzimas que são capazes de quebrar ligações peptídicas em proteínas, são as enzimas proteolíticas. O presente trabalho apresenta uma proposta experimental investigativa da presença ou ausência dessas enzimas em três frutas: romã, abacaxi e kiwi. Para observação da gelificação foram usados canudos, onde através viscosidade foi possível verificar a presença de enzimas proteolíticas nas amostras de abacaxi e kiwi e a ausência na amostra de romã.

Palavras-chave: *experimentação; proteases; aprendizagem.*

Experimentation in the teaching of Chemistry is used as a pedagogical resource that assists in the process of knowledge production. Enzymes are biological catalysts that increase the speed of chemical reactions. There is a group of enzymes that are capable of breaking peptide bonds in proteins, they are proteolytic enzymes. The present work presents an experimental proposal to investigate the presence or absence of these enzymes in three fruits: pomegranate, pineapple and kiwi. To observe the gelation, straws were used, where through viscosity it was possible to verify the presence of proteolytic enzymes in the pineapple and kiwi samples and their absence in the pomegranate sample.

Keywords: *experimentation; proteases; learning.*

Introdução

A experimentação no ensino de química é usada como recurso pedagógico que auxilia no processo de conceitos, além de produzir saberes. Apontando para uma direção consolidada da formação nas ciências naturais, essa abordagem colabora para a participação ativa dos alunos em relação ao pensamento crítico e à aplicação dos conhecimentos no cotidiano.¹

O Ensino da Química também pode se beneficiar de metodologias práticas, sendo um suporte no processo de ensino-aprendizagem que pode, a partir de debates em sala de aula, ajudar na compreensão dos conteúdos e no trabalho em grupo.

Algumas experiências têm sido utilizadas para conciliar a teoria à prática, e vem ganhando espaço de forma que o entendimento seja facilitado sobre o mundo micro. A experiência no contexto escolar fortalece o interesse pela disciplina em quaisquer níveis de ensino. De acordo com Merçon (2012), “um ponto comum entre os professores de química é que a atividade experimental tem função motivadora no processo de ensino-aprendizagem”.²

A teoria da aprendizagem significativa é uma abordagem cognitivista da construção do conhecimento. Ao ensinar ciência, no âmbito escolar, deve-se levar em conta que a partir de uma explicação teórica, as observações serão mais eficientes para a consolidação do ensino.³

O uso de experimentos demonstrativos visa ilustrar aquilo que fora, anteriormente, visto apenas na teoria, enquanto o experimento investigativo busca despertar nos alunos situações problematizadoras, questionadoras e de diálogo conhecimento de modelos explicativos de fenômenos da natureza elaborados por várias culturas desenvolvidos ao longo da história.⁴

A química tem o seu surgimento marcado como uma ciência experimental, onde a partir da observação dos fenômenos naturais, os modelos e conceitos foram construídos. Quanto ao papel da experimentação na construção do conhecimento científico, Giordan (1999) constatou que a experimentação desperta interesse entre os alunos, que atribuem como um caráter motivador, essencialmente vinculado aos sentidos.⁵

A presença de aulas práticas ou laboratoriais é uma estratégia importante para o processo de construção do conhecimento científico de forma didática, estimulando o caráter investigativo, a tomada de decisões e a aprendizagem colaborativa.⁶ No cenário pedagógico atual, as abordagens que se destacam com o aluno no centro da atividade de aprendizagem buscam aproximar a teoria da prática.⁷

O conteúdo de bioquímica, juntamente com a química orgânica é apresentado, normalmente, na terceira série do Ensino Médio, no qual a quantidade de horas aulas é inferior ao necessário para a formação básica do aluno. Entretanto, a bioquímica constitui-se de “um nicho temático muito rico e promissor para abordagens interdisciplinares, contextualizadas social e experimentalmente.”⁸

As proteínas são constituídas a partir de monômeros, aminoácidos ligados por ligações peptídicas. No organismo, destaca-se a principal função das proteínas como as atividades de enzimas ou catalisadores biológicos. Algumas enzimas são capazes de proporcionar a quebra das ligações peptídicas e, quando a reação é catalisada pela protease, é uma reação de hidrólise da cadeia polipeptídica (substrato), na qual aminoácidos e cadeias polipeptídicas menores podem ser gerados como produtos da reação, como mostra a Figura 1 abaixo.⁹

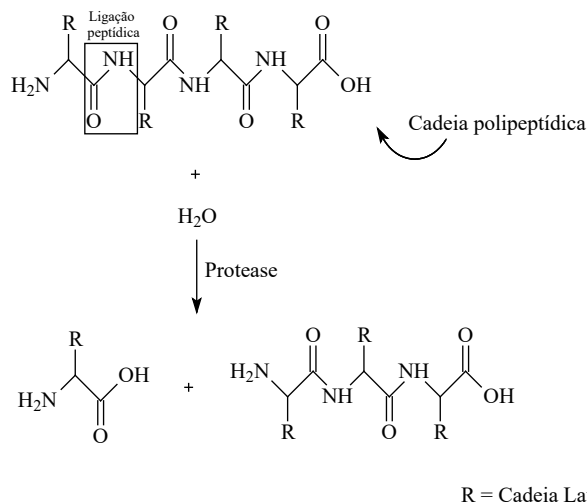


Figura 1. Representação de uma hidrólise proteica catalisada por uma protease.

A proteína servirá como modelo proteico de substrato, a partir da hidrólise parcial do colágeno que está presente na gelatina comercial. O colágeno é uma proteína importante para a estrutura elástica dos tecidos conjuntivos nos animais, incluindo a pele, tendões, os ligamentos e os ossos.¹⁰

Lima e coautores (2008) realizaram uma proposta de experimento de baixo custo com abordagem de conceitos fundamentais de química e bioquímica para identificação de enzimas proteolíticas em abacaxi, mamão e morango com uso de procedimentos experimentais de fácil execução e reprodutíveis.⁹

A proposta do presente experimento é de estudar a atividade de enzimas proteolíticas presentes no abacaxi, kiwi e romã, sendo a gelatina comercial o modelo proteico de substrato, seguindo metodologia proposta por Lima e coautores (2008), com adaptações.⁹ O princípio desse método consiste em monitorar a gelificação, processo que depende da integridade das cadeias poliméricas de proteínas presentes na gelatina.

Metodologia

Para fazer os testes neste trabalho, foi utilizada a metodologia desenvolvida por Lima e coautores (2008), com algumas modificações,⁹ onde a gelatina incolor comercial é o modelo de proteína utilizado, já as frutas utilizadas para determinação de qual tem enzimas capazes de realizar a atividade proteolítica nos testes realizados foram abacaxi, kiwi e romã. Para ter uma referência das possíveis reações foram utilizados os controles positivo e negativo.

O controle negativo, que se sabe que não terá uma interação com as enzimas, foi composto somente por gelatina e água, ocorrendo a gelificação da amostra, como esperado; já o controle positivo, onde haverá a interação de enzimas, que tem a função de quebrar as ligações entre as proteínas, foi o amaciante de carnes comercial e a gelatina. Para que fosse possível realizar essas observações, foram utilizados canudos plásticos para indicar a gelificação através da gravidade e viscosidade indicando se a reação ocorreu nos testes com os extratos das três frutas selecionadas.

Primeiramente, foi realizada a extração dos sucos puros das três frutas, separadamente, com a ajuda de uma peneira.

Em seguida a gelatina incolor foi preparada segundo as seguintes indicações: proporção de um pacote de 12g para 50mL de água. Após essa preparação, foram utilizadas as seguintes medidas no ensaio como apresentado no Quadro 1:

Quadro 1. Medidas das amostras utilizadas para o ensaio.

Amostras testadas
Controle negativo: 10 mL de gelatina + 3mL de água
Controle positivo: 10 mL de gelatina + uma ponta de espátula de amaciante de carne diluído em 3 mL de água
10 mL de gelatina + 3 mL de extrato de Kiwi
10 mL de gelatina + 3 mL de extrato de romã
10 mL de gelatina+ 3 mL de extrato de abacaxi

Em todos os testes os cinco tubos foram devidamente preparados em temperatura ambiente juntamente com as amostras. Em seguida, foram cronometrados 10 minutos e foi introduzido um canudo plástico em cada tubo de ensaio para analisar a viscosidade e logo foi feita a marcação no tubo com caneta até onde o canudo chegou.

Em seguida, os canudos foram retirados e os tubos levados à geladeira por 20 minutos, após esse tempo foram introduzidos os canudos novamente para verificar a viscosidade.

Todos os testes foram realizados em triplicata, para verificar a reprodutibilidade como demonstrado na Figura 2.



Figura 2. Fluxograma da realização do experimento.

Resultados e Discussões

O conteúdo sobre as enzimas é um tema que está presente no dia a dia com diversas fontes de informação, a explicação teórica é uma maneira de se trabalhar com esse conteúdo, no entanto a experimentação se apresenta como uma boa ferramenta para contextualizar e consolidar o conteúdo.

Dessa forma, uma proposta pedagógica para uma melhor consolidação do conhecimento pode ser realizada no estudo de enzimas com a utilização de três frutas e com materiais alternativos com possibilidade de ser realizado tanto em salas de aulas de escolas ou laboratórios, caso a escola tenha laboratório de ciências. As frutas utilizadas nesse trabalho, diferentemente do procedimento proposto na literatura⁹ pesquisada, foram romã e kiwi, sendo que a literatura cita o kiwi com a presença de proteases ou enzimas proteolíticas na sua composição, e o abacaxi, que já constava no procedimento adotado. A presença da romã nesse trabalho foi exatamente para instigar os alunos a investigar sobre presença e ausência de enzimas proteolíticas, baseado nos resultados observados.

No ensaio para analisar a viscosidade após as marcações nos tubos com caneta para verificar até onde o canudo chegou, foi possível observar que o mergulho do canudo ocorreu de forma natural nas amostras pela ação da gravidade, conforme está representada pela Figura 3.

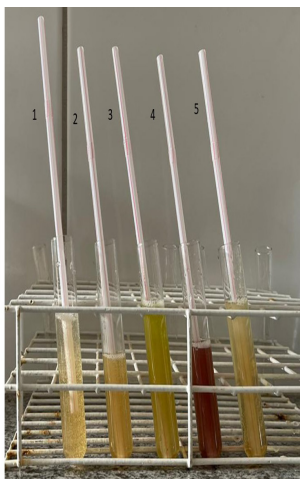


Figura 3. Amostras em Temperatura Ambiente, 1: controle negativo - gelatina e água, 2: controle positivo - amaciante de carne e gelatina, 3: kiwi e gelatina, 4: romã e gelatina, 5: abacaxi e gelatina.

Após o período na geladeira, observou-se que não ocorreu o processo de gelificação nas amostras de kiwi e abacaxi, pois os canudos introduzidos novamente tocaram no fundo dos tubos dessas amostras, ou seja, nessas frutas, a presença de enzimas proteolíticas impediu a gelificação, atuando na quebra das ligações das proteínas presentes na gelatina, assim como no controle positivo composto pelo amaciante de carnes. Ao passo que na terceira amostra, ocorreu mudança na viscosidade e o canudo reintroduzido não chegou ao fundo do tubo, o que significa que o processo de gelificação ocorreu, ou seja, não houve a atividade proteolítica nessa amostra. Portanto, o tubo contendo a amostra de romã e o controle negativo composto por gelatina e água tiveram o mesmo resultado, conforme observado na Figura 4.

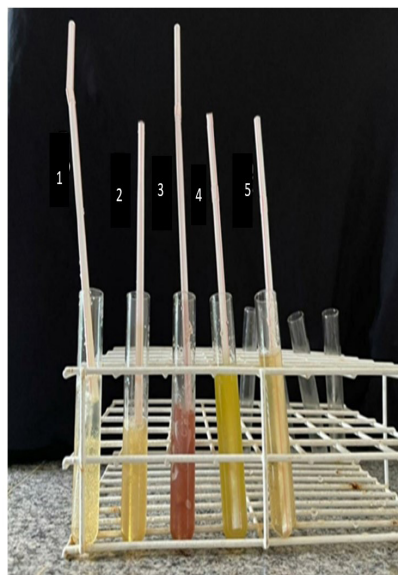


Figura 4. Amostras após o Resfriamento, 1: controle negativo - gelatina e água, 2: controle positivo - amaciante de carne e gelatina, 3: romã e gelatina, 4: kiwi e gelatina, 5: abacaxi e gelatina.

Através desses resultados, a proposta é que após a abordagem do conteúdo, de enzimas, de forma teórica nas aulas a aplicação de um experimento investigativo com o teste de diversas frutas, que inclusive, os alunos podem escolher e trazer de casa, incentivando ainda mais a participação. Além das frutas que já se tem conhecimento

de possuírem enzimas proteolíticas, para assim, testar durante a aula prática a presença ou ausência dessas enzimas nas frutas disponíveis e anotação em formulário padrão que pode ser preenchido por cada grupo de alunos, e fechar com uma discussão em roda de conversa sobre os resultados observados. Essa proposta se torna uma forma diferenciada e ativa de abordagem do conteúdo de enzimas, podendo ser utilizada tanto por professores de química como de biologia.

Conclusão

O procedimento experimental apresenta características que podem ser conectadas ao dia a dia dos estudantes, numa perspectiva científica de como a ciência explica esses fenômenos que ocorrem com as enzimas proteolíticas presentes ou não em diversas frutas. Sendo assim, o presente trabalho demonstra que é possível aos alunos do Ensino Médio, chegarem a uma melhor compreensão do conteúdo sobre enzimas dentro do tópico de bioquímica, e interligar ao seu cotidiano através da experimentação e garantir um melhor entendimento no processo de ensino-aprendizagem.

Agradecimentos

Ao Programa de Iniciação Científica das Licenciaturas – PROLICEN-UFCAT pelas bolsas concedidas.

Referências

1. MANFREDI, S. M. Campinas: FE, UNICAMP, Mimeo, **1993**.
2. MERÇON, F. et al. E-Mosaico: Revista Multidisciplinar de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura do Instituto de Aplicação Fernando Rodrigues da Silveira – CAp – UFRJ, **2012**, 1, nº. 1, 79.
3. GUIMARÃES, C. C. *Quim. Nova Esc.* **2009**, 31, n. 3, 198.
4. SOUZA, N. S. et al. *Revista Virtual de Química*. **2015**, 7, nº. 3, 992.
5. GIORDAN, M. *Quim. Nova Esc.*, **1999**, 10, 43.
6. MERÇON, F. *IV ENPEC*, **2003**.
7. SILVEIRA, J. T.; DA ROCHA, J. B. T. *Revista de Ensino de Bioquímica*, **2016**, 14, n. 3, 7.
8. FRANCISCO J, W. E. XVI Encontro Nacional de Ensino de Química (XVI ENEQ) e X Encontro de Educação Química da Bahia (X Eduqui), **2012**.
9. LIMA, S. L. T.; Jesus, M. B.; Sousa, R. R. R.; Okamoto, A. K.; Lima, R.; Fraceto, L. F. *Quim. Nova Esc.*, **2008**, 28.
10. SILVA, T. F.; Penna, A. L. B. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **2012**, 530.

Paulo V. R. Brito, Bianca A. B. Tavares, Bianca G. Rodrigues & Jocélia P. C. Oliveira*

Universidade Federal de Catalão, Instituto de Química. Avenida Dr. Lamartine P. Avelar, Vila Chaud, Catalão-GO, 75704-020, Brasil.

*E-mail: joceliapereira@ufcat.edu.br