

INIBIÇÃO ENZIMÁTICA: UMA PROPOSTA DE ATIVIDADE EXPERIMENTAL

Enzymatic Inhibition: A Proposal For Experimental Activity

Taciana Gonçalves da Silva [tacigsilva@hotmail.com]

Fernanda Coutinho Retondaro Barbosa [fretondaro@gmail.com]

Curso de Ciências Biológicas - Universidade Estácio de Sá – campus Petrópolis

Rua Bingen, 50 – Bingen, Petrópolis – RJ CEP: 25660-004

Recebido em: 04/12/2018

Aceito em: 02/07/2019

Resumo

As enzimas são catalisadores biológicos que favorecem as reações metabólicas e permitem a homeostase dos organismos e por isto compõem um conteúdo muito relevante no ensino de Ciências, pois estão relacionadas ao funcionamento do corpo, aproximando ainda mais o conteúdo teórico à realidade do aluno. Considerando que métodos diferenciados auxiliam neste processo de ensino/aprendizagem, o objetivo deste trabalho é propor uma experiência para demonstrar o mecanismo de inibição enzimática utilizando a faseolamina, proteína extraída do feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L.) e responsável pela inibição da enzima alfa-amilase. Deste modo, uma experiência simples, de baixo custo, que proporcione uma discussão sobre a ação da enzima amilase salivar no processo digestório e como ocorre o processo de inibição se torna muito relevante, considerando que os carboidratos são as maiores fontes de calorias das dietas alimentares e atualmente observa-se aumento no peso corporal da população brasileira e maior prevalência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT).

Palavras-chave: Ensino de Ciências; Experimentação; Faseolamina.

Abstract

Enzymes are biological catalysts that promote the metabolic reactions and allow the homeostasis of organisms and, therefore constitute a very important content in the science teaching, since they are related to the functioning of the body, bringing the theoretical content closer to the student's reality. Whereas differentiated methods can help in this process of teaching/learning methods, the objective of this study is to propose an experiment to demonstrate the mechanism of enzyme inhibition using the phaseolamine, which is a protein extracted from the white beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and responsible for the inhibition of the enzyme alpha-amylase. In this way, an experience simple, low cost, which will provide a discussion on the action of the enzyme salivar amylase in the digestive process and as the process of inhibition becomes very relevant, whereas carbohydrates are the major sources of calories of food diets and, currently there is an increase in body weight of the Brazilian population and a higher prevalence of Chronic Non Communicable Disease (NCDs).

Keywords: Science Education; Experimentation; Phaseolamine.

Introdução

As enzimas são moléculas polipeptídicas responsáveis pela catálise das reações químicas no metabolismo dos seres vivos e atuam sobre substratos que são modificados para dar origem aos produtos de reação. Porém, essa atividade das enzimas pode ser reduzida por diversos tipos de substâncias químicas que acarretam a inibição enzimática. Segundo Nelson e Cox (2014), o conceito biológico de inibidor enzimático diz respeito à molécula que é capaz de interferir de maneira específica, na taxa de uma reação de catálise enzimática, retardando ou reduzindo o processo ou a especificidade biológica da reação.

O conteúdo sobre enzimas na grade curricular do Ensino Médio na disciplina de Biologia aborda conceitos gerais em vários temas, como: Metabolismo e Respiração Celular, Fotossíntese, Digestão, Biologia Molecular, dentre outros. Porém, o ensino sobre enzimas tem sido discutido de forma abstrata para os alunos da rede escolar. Segundo Krasilchik (2004), a formação biológica nos ensinos fundamental e médio da rede escolar deve ser objeto de intenso debate, pois deve ser uma das disciplinas mais relevantes na formação de cidadãos, pelo fato de contribuir na compreensão de processos e conceitos biológicos, na importância da ciência e tecnologia na vida moderna e no interesse pelo mundo dos seres vivos.

Muitos conceitos da disciplina de Biologia tem obedecido a uma formulação puramente tradicional, no qual os alunos recebem uma grande base teórica e um aprendizado mecânico. O aprofundamento do ensino prático aproxima o aluno de sua realidade provocando assim, um aprendizado mais significativo. Nesse contexto, a realização de atividades práticas no ensino de Ciências e Biologia tem sido um grande desafio para os professores destas disciplinas (Pinheiro & Pompilho, 2011).

De acordo com Sabino e colaboradores (2008), a simples apuração da existência da dificuldade de não ter laboratórios e/ou recursos tecnológicos necessários para desenvolver aulas mais dinâmicas, não condiz com a resolução do problema. Mas sim, com a iniciativa de implementar alternativas adaptáveis, como sugerida neste trabalho.

A metodologia proposta têm como enfoque a faseolamina que é uma proteína extraída do feijão branco (*Phaseolus vulgaris L.*) responsável pelo efeito de inibição da enzima alfa-amilase, enzima glicoprotéica que acelera e facilita a digestão do amido, carboidrato de reserva dos vegetais. A inibição da alfa-amilase reduz a assimilação de carboidratos, com especial redução de picos de glicose, interferindo assim, no funcionamento metabólico do organismo (Murra, M.S.; Pessato, T. B. & Tavano, O. L., 2013).

Considerando que métodos diferenciados auxiliam no processo de ensino/aprendizagem, o principal objetivo deste trabalho é propor uma experiência para o ensino do mecanismo de Inibição Enzimática, apresentando condições adaptáveis e materiais de baixo custo financeiro. Uma vez que o alto custo de materiais e equipamentos específicos, bem como a disponibilidade de um laboratório, tem sido a principal justificativa dos professores para a não realização de aulas práticas de Biologia (Novaes et al., 2013).

Considerações sobre as Enzimas

As enzimas foram descobertas no século XVIII, por diversos estudiosos que ao longo do tempo desempenharam teorias favoráveis à sua existência. Porém, apenas quando se iniciaram os

estudos sobre a digestão dos alimentos, é que foi possível examinar e compreender a funcionalidade das enzimas. Elas são moléculas orgânicas em sua maioria de origem protéica, produzidas por células vivas e atuam em quase todas as reações metabólicas dos organismos vivos e, portanto, também estão presentes em uma variedade de alimentos, atuando na hidrólise de compostos complexos em compostos mais simples (Nelson & Cox, 2014).

As enzimas convertem uma substância denominada substrato, em outra denominada produto, e se encaixam para serem modificadas. A superfície onde é realizada as reações catalisadoras é denominada de sítio ativo, que nada mais é do que uma cavidade contendo resíduos de aminoácidos onde o substrato se liga e sofre sua transformação química. Também apresentam um enorme poder catalítico, frequentemente maior que os catalisadores inorgânicos ou sintéticos e possuem um alto grau de especificidade para seus substratos (Marzocco & Torres, 2015).

Além disso, as enzimas possuem características específicas, ou seja, a enzima encontrada em uma célula determina o tipo de metabolismo que a célula efetua. Como são catalisadoras (catalisam reações químicas), elas não são consumidas em seu processo e não sofrem alterações moleculares. Outra característica essencial das enzimas é a capacidade de diminuição do tempo de uma reação catalisadora sem o consumo excessivo de energia química produzida pelo organismo. As enzimas diminuem a energia de ativação e, portanto, aceleram as reações químicas (Nelson & Cox, 2014).

Os macronutrientes carboidratos, lipídeos e proteínas devem ser hidrolisados por enzimas específicas em nutrientes mais simples, como monossacarídeos, ácidos graxos e aminoácidos, para serem absorvidos pela mucosa intestinal e fornecer energia para os processos celulares. Por exemplo, os principais carboidratos ingeridos na alimentação são o amido e a sacarose, o amido é um polissacarídeo que começa a ser digerido na cavidade oral, a partir da enzima α amilase, produzida nas glândulas salivares (Marzocco & Torres, 2015).

Contudo, tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, é possível observar um aumento relevante no peso corporal da população com decorrente aumento na incidência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), devido à mudanças no padrão alimentar, com a prevalência do consumo de alimentos não saudáveis (Claro et al., 2015).

Faseolamina

A faseolamina é uma proteína extraída de grãos, que possui propriedades de efeito inibidor da digestão e também na absorção de amido (carboidrato) e afeta diretamente a catálise da enzima alfa-amilase. Visto que os carboidratos são considerados como as maiores fontes de calorias das dietas alimentares, a faseolamina é comercializada como “bloqueador de carboidratos” na forma de cápsulas ou farinhas trituradas cruas que são processadas do feijão branco (*Phaseolus vulgaris L.*) principal leguminosa rica em faseolamina (Colaço & Degáspari, 2014).

A inibição da atividade enzimática pode ser causada por certos tipos de substâncias químicas ou até mesmo por algum constituinte da célula que é capaz de interferir na taxa de catálise enzimática, retardando ou reduzindo o processo biológico da reação. A inibição pode ser inespecífica, onde o inibidor (como um agente desnaturante) diminui a atividade de todas as enzimas, ou específica, onde o inibidor diminui a atividade de uma única enzima ou de um grupo restrito de enzimas. Este tipo de inibição enzimática possui diferença na formação do complexo enzima-inibidor (quando uma molécula de inibidor se liga ao sítio ativo da enzima) classificando-a em inibição reversível ou inibição irreversível (Marques & Yamanaka, 2008).

Murra e colaboradores (2013) destacam a busca e o consumo desenfreado da sociedade por diferentes inibidores de amilase, dentre eles a faseolamina comercializada, como recurso emergencial

em pacientes diabéticos e no tratamento da obesidade. Inibidores dessa enzima, promovem uma estratégia promissora para o controle da hiperglicemia associada ao diabetes tipo 2, obesidade e hipertensão através da redução da quebra do amido e da absorção da glicose no intestino (Pereira et al., 2011).

Segundo Colaço e Degáspari (2014), foram identificados problemas no comportamento alimentar da população em geral e especialmente o brasileiro, tem consumido menos feijão ao longo do tempo por se tratar de um alimento que requer um preparo mais demorado. Visto que o *Phaseolus vulgaris L.* possui propriedades de efeito inibidor da digestão do amido, acredita-se que haja uma correlação para o aumento considerável da obesidade e todas as outras patologias oportunistas ligadas a ela.

Importância das aulas práticas de Ciências

Segundo Pinheiro & Pompilho (2011), o aluno de Ciências precisa vivenciar o método científico através de experimentos práticos para desenvolver o raciocínio e a capacidade investigativa de formular conceitos, sendo exigência básica proposta pela LDB (Lei de Diretrizes e Bases da Educação) de 1996, artigo 35, inciso IV, onde no ensino de Biologia deverá ser feito o relacionamento da teoria com a prática para toda a disciplina. Ressaltando a importância do professor preparar e redigir atividades práticas para o ensino/aprendizagem de seus alunos.

Visto que o conceito de atividades práticas é de alta relevância para a aprendizagem, Orlando e colaboradores (2009) enfatizam que as disciplinas de Ciências e Biologia são constituídas por conceitos bastante abstratos e estruturas microscópicas. Para estes autores, uma abordagem ideal dos assuntos trabalhados pelas disciplinas requer um ambiente escolar bem estruturado, com laboratórios equipados de aparelhagem adequada e materiais disponíveis para a realização de práticas. Porém, a existência desses laboratórios é restrita aos colégios particulares de alto nível.

Também o elevado custo de materiais e equipamentos específicos, tem sido a justificativa para a falta de interesse do professor na execução das aulas práticas, o que desfavorece o ensino/aprendizado dos alunos na disciplina, não compreendendo de forma plausível que a ciência faz parte do seu dia-a-dia (Novaes et al., 2013).

Em contrapartida, é possível ministrar um bom ensino de Ciências utilizando práticas de baixo custo que requerem a criatividade para adaptar os materiais alternativos necessários às experiências. Pois as atividades práticas não necessitam especialmente de um laboratório, podendo ser realizadas na própria sala de aula, demonstrando que a capacidade criativa do professor é a principal ferramenta para implementar inovadoras estratégias didáticas ao seu ensino biológico (Pinheiro & Pompilho, 2011).

Proposta de Atividade experimental em sala de aula

No Ensino Médio, os alunos discutem sobre a importância das enzimas em vários temas, porém esta abordagem no dia-a-dia escolar não tem sido suficiente para a consolidação de conceitos importantes sobre enzimas, como o mecanismo de inibição enzimática. Segundo Pinheiro & Pompilho (2011), alguns temas de Ciências Biológicas, ministrados no Ensino Médio, tem sido alvo de discussões por alguns autores, pois tais temas requerem uma capacidade de abstração dos alunos e por esse motivo, às vezes não são compreendidos.

Sendo assim, o objetivo principal deste trabalho é relatar uma proposta de atividade prática sobre o processo de inibição enzimática da enzima alfa amilase secretada pelas glândulas salivares, utilizando a substância faseolamina. Esta experiência utiliza materiais de baixo custo com uma

metodologia simples, de modo a ser reproduzido e utilizado por professores da educação básica de escolas da rede pública e privada.

Para a proposta de aula prática apresentada neste trabalho foram utilizados os seguintes materiais: água mineral; farinha de feijão branco; (comercializada em lojas de produtos naturais); copos descartáveis de 50 e 200 ml; colheres descartáveis; papel alumínio; caneta marcador permanente; biscoitos de maisena; tintura de iodo. A Figura 1, a seguir, retrata os materiais.



Figura 1 – Materiais da aula prática.

A presença de amido contido na farinha de trigo, ingrediente do biscoito de maisena, pode ser demonstrada através de sua complexação com o reagente de iodo. Pois a tintura de iodo reage positivamente em presença de polissacarídeos, como o amido vegetal, através da presença de coloração azul/arroxeadada. Ao contrário, o iodo não reage com carboidratos mais simples, como monossacarídeos (glicose, frutose, galactose) ou dissacarídeos (sacarose, maltose e lactose), mantendo sua coloração amarelo/alaranjada.

Sendo assim, espera-se que a adição da enzima amilase salivar degrade o amido contido no biscoito de maisena, fazendo sua hidrólise e transformando-o em carboidratos mais simples, como maltose e glicose, que não reagirão com a tintura de iodo. Ao contrário, em presença do inibidor faseolamina, a enzima perde sua atividade e o amido pode ser detectado positivamente reagindo com o iodo.

Esta experiência pode ser aplicada em turmas do Ensino Médio ao final do conteúdo sobre enzimas, onde o professor pode aproveitar para discutir com a turma sobre o aumento de sobrepeso na população brasileira devido à alta ingestão de carboidratos refinados e as doenças decorrentes deste excesso de ingestão, tais como hipertensão arterial, diabetes e obesidade.

A seguir, o professor faz uma introdução sobre o mecanismo de inibição enzimática e divide a turma em pequenos grupos, explicando o procedimento da aula prática, como segue.

Fazer o preparo da solução contendo a farinha de feijão branco: Colocar uma colher cheia de farinha de feijão branco comercial em um copo plástico de 200 mL e acrescentar água mineral. Misturar até a dissolução completa. Em seguida, numerar quatro copos plásticos de 50 ml e adicionar: três colheres de água mineral (copo I); três colheres de água mineral e acrescentar uma pequena

porção de biscoito de maisena (copo II); três colheres de água mineral e acrescentar uma pequena porção de biscoito de maisena que foi previamente digerido na boca (copo III); três colheres da solução contendo a farinha de feijão branco e acrescentar uma pequena porção de biscoito de maisena que foi previamente digerido na boca (copo IV).

Logo após, homogeneizar manualmente os copos e envolvê-los em papel alumínio e aguardar cerca de quarenta minutos. Durante este tempo, o professor pode discutir com os alunos conceitos básicos sobre enzimas, bem como sua importância para os seres vivos e como funciona o processo de inibição enzimática através da proteína faseolamina. Para isto, pode ser utilizado um modelo didático que demonstra o complexo enzima-substrato para ilustração (Figura 2).



Figura 2 – Modelo didático representando (I) complexo enzima – substrato; (II) enzima, substrato e inibidor; (III) complexo enzima – inibidor.

Para a confecção do modelo didático ilustrado acima, foram utilizados os seguintes materiais: prato de papelão laminado; duas bolinhas de isopor; caneta marcador permanente.

Decorrido o tempo de quarenta minutos, deve ser adicionado uma gota de tintura de iodo em cada copo plástico e homogeneizar manualmente. A seguir, observar as diferentes colorações obtidas (Figuras 3 e 4).

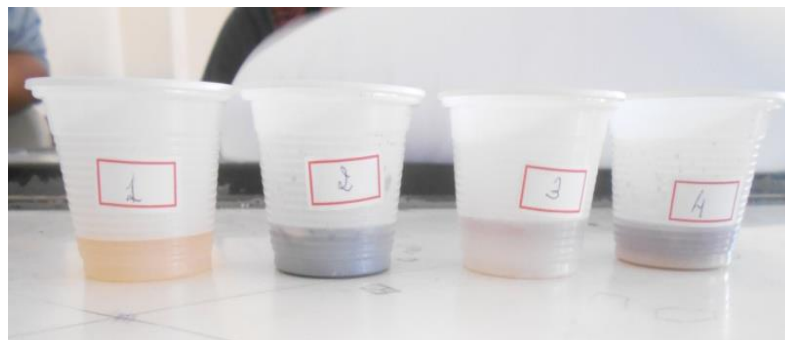


Figura 3 – Colorações obtidas ao final da experiência - da esquerda para a direita: copos I, II, III e IV.



Figura 4 – Colorações obtidas ao final da experiência - da direita para a esquerda: copos I, II, III e IV.

Em relação à experiência, pode-se observar nas figuras 3 e 4 as colorações obtidas em cada copo após a adição da tintura de iodo, onde se observam os seguintes resultados: no copo I, apresentou a cor alaranjada servindo apenas de controle para o experimento, uma vez que continha somente água mineral e tintura de iodo; No copo II, apresentou a cor arroxeada, pois a tintura de iodo reagiu com o amido, que estava presente no biscoito maisena; Já no copo III, apresentou a cor alaranjada, pois a enzima (α -amilase) presente na saliva, degradou o amido presente no biscoito maisena, convertendo-o em carboidratos mais simples, como a maltose, que por ser um dissacarídeo, não reage com o iodo; E no copo IV, foi possível observar a ação do inibidor faseolamina sobre a amilase salivar, pois uma vez inibida não degradou o amido, que reagiu com a tintura de iodo obtendo também cor arroxeada.

Considerações Finais

Para a construção do aprendizado, é necessário que os alunos sejam capazes de interpretar as situações de forma autônoma e crítica e que sejam estimulados a raciocinar sobre temas por vezes abstratos. Grande parte dos conceitos das disciplinas de Ciências e Biologia nas escolas são abordados através de uma boa base teórica, contudo um aprofundamento do ensino prático aproxima o aluno de sua realidade, desenvolvendo neste um aprendizado mais significativo. Deste modo, a realização de atividades práticas no ensino de Ciências e Biologia torna-se um desafio para os professores, que nem sempre dispõem de laboratórios e materiais adequados nas escolas em que trabalham.

Por isso, propostas de atividades experimentais que utilizem materiais simples e de baixo custo são boas alternativas para que o professor aprofunde alguns temas importantes em sala de aula, podendo-se obter um resultado bastante satisfatório. A proposta de uma aula prática sobre o mecanismo de inibição enzimática demonstra a simplicidade com que o experimento pode ser reproduzido nas escolas e também proporciona uma abordagem mais ampla do conteúdo sobre enzimas, tal como sua importância para as reações químicas que ocorrem nos seres vivos e particularmente para um processo digestório adequado.

Referências

- Claro, R.M.; Santos, M.A.S.; Oliveira, T.P.; Pereira, C.A.; Szwarcwald, C.L. & Malta, D.C. (2015). Consumo de alimentos não saudáveis relacionados a doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, Brasília, 24 (2), 257-265.
- Colaço, P.C. & Degáspari, C.H. (2014). Benefícios da Faseolamina (*Phaseolus vulgaris* L.) – Uma Revisão. *Visão Acadêmica*, 15 (1), 107-118.

- Krasilchik, M. (2004). *Prática de Ensino de Biologia*. 4ª Edição. Editora da Universidade de São Paulo: São Paulo.
- Marques, P.R.B.O. & Yamanaka, H. (2008). Biossensores Baseados no Processo de Inibição Enzimática. Departamento de Química Analítica; Universidade Estadual Paulista, Araraquara – SP. *Revista Química Nova*, 31 (7), 1791-1799.
- Marzzoco, A. & Torres, B.B. (2015). *Bioquímica Básica*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Murra, M.S.; Pessato, T. B. & Tavano, O. L. (2013). Presença de inibidores de proteases em amostras comerciais de “faseolaminas” utilizadas como bloqueadores de carboidratos e os riscos à saúde. Departamento de Nutrição, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 72 (3), 198-205.
- Nelson, D.L. & Cox, M.M. (2014). *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6. ed. Rio Grande do Sul: Artmed Editora.
- Novaes, F.J.M.; Aguiar, D.L.M.; Barreto, M.B. & Afonso, J.C. (2013). Atividades Experimentais Simples para o Entendimento de Conceitos de Cinética Enzimática: *Solanum tuberosum* – Uma Alternativa Versátil. *Química Nova na Escola*, 35(1), 27-33.
- Orlando, T.C.; Lima, A.R.; Silva, A.M.; Fuzissaki, C.N.; Ramos, C.L.; Machado, D.; Fernandes, F.F.; Lorenzi, J.C.C.; Lima, M.A.; Gardim, S.; Barbosa, V.C. & Tréz, T.A. (2009). Planejamento, montagem e aplicação de modelos didáticos para abordagem de Biologia Celular e Molecular no Ensino Médio por graduados de Ciências Biológicas. Departamento de Ciências Biológicas – UNIFAL-MG. *Revista Brasileira de ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, 1, 1-17.
- Pereira, L.L.S.; Santos, C.D.; Sátiro, L.C.; Marcussi, S.; Pereira, C.A. & Souza, S.P. (2011). Ação inibitória e estabilidade do extrato de farinha de feijão branco sobre enzimas digestivas na presença de fluido gástrico simulado. *Revista Brasileira de Farmácia*, 92 (4), 367-372.
- Pinheiro, W.A. & Pompilho, W.M. (2011). O ensino de Enzimas: uma abordagem de baixo custo. Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro, Pólo CEDERJ, Itaperuma – RJ; *Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, 1, 1-8.
- Sabino, G.; Amaral, F.C.; Sabino, C. D.V.S. & Kattah, L.R. (2008). Proposta De Uma Metodologia Para O Ensino Da Estrutura E Função Das Proteínas Na Disciplina Bioquímica. Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq); *Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, (1), 1-19.