protVirt: simulação da dosagem de proteínas por espectrometria auxiliando as aulas práticas de Bioquímica

protVirt: protein dosage simulation by spectrometry assisting Biochemistry practical class

Gabriel Gerber Hornink ^{1*}

¹ Universidade Federal de Alfenas – Unifal-MG

*e-mail: gabrielbio@gmail.com

Abstract

The practical classes in the teaching of biochemistry could provide great contributions to the process of teaching and learning, and the understanding of these by students depend, generally, of previous concepts about the experiment and procedures performed. It is presented in this paper the educational software protVirt, which could be used as a pedagogical innovation in the method of practical classes involving dosage of proteins, focusing on the development of skills for understanding the activities. The software was developed in Adobe Flash, with the possibility of online or offline use. Despite the possibilities of using protVirt in various modalities of education, highlights the use in online courses, in which students develop, commonly, the practical class without the teacher centers, accompanied by monitors and tutors.

Keywords: classroom practice; protein measure; educational software.

Resumo

As aulas práticas no ensino de Bioquímica podem trazer grandes contribuições para o processo de ensino-aprendizagem, sendo que a compreensão destas pelos estudantes dependem, geralmente, de conceitos prévios sobre o experimento e procedimentos realizados. Apresenta-se neste trabalho o *software* educacional protVirt, o qual pode ser utilizado como uma inovação pedagógica no método de aulas práticas envolvendo dosagem de proteínas, com foco no desenvolvimento de habilidades para compreensão das atividades. Desenvolveu-se o *software* no *Adobe Flash*, com possibilidade de uso *online* ou *offline*. Apesar das possibilidades de uso do protVirt em diversas modalidades de ensino, destaca-se o uso em cursos a distância, nos quais os estudantes desenvolvem, comumente, as atividades nos polos sem o professor, acompanhados de monitores e tutores.

Palavras-chave: Aula prática; dosagem de proteínas; *software* educacional.

Ficha da atividade

Título	protVirt – dosagem virtual de proteína
Público-alvo	Estudantes de disciplinas de bioquímica ou área que utilizem a metodologia de quantificação de proteínas por meio de espectrofotômetro.
Disciplinas relacionadas	Bioquímica, Química.
Objetivos educacionais	Compreender os princípios das reações e métodos envolvidos na dosagem colorimétrica de proteínas, a partir da reação de biureto e dosagem em espectrofotômetro.
Justificativa de uso	Dificuldade dos estudantes durante a execução das aulas práticas envolvendo o uso do espectrofotômetro, tanto no uso do equipamento, quanto nos conteúdos relacionados e análise dos dados obtidos.
Conteúdos trabalhados	Reação de biureto, dosagem de proteínas, espectrofotômetro.
Duração estimada	20 minutos.
Materiais utilizados	Computador.
Link	http://www.bdc.ib.unicamp.br/bdc/visualizarMaterial.php?idMaterial=1342

1 Introdução

Aulas práticas são recursos extremamente úteis para um ensino de Ciências de qualidade. No ensino superior, principalmente nos cursos de bacharelado das carreiras científicas, como o caso da Biologia, é fundamental proporcionar aos estudantes a oportunidade de planejar, realizar e interpretar experimentos, bem como redigir textos científicos, na forma de relatórios e artigos, que apresentem e discutam os dados obtidos, com embasamento na literatura científica.

O processo de planejar experimentos a partir de problemas propostos, definição de experimentos a realizar, execução de experimentos planejados, apresentação de dados, discussão de resultados envolve processos cognitivos altamente complexos e difíceis de serem explorados em aulas expositivas tradicionais.

Mesmo com o alto potencial para o exercício de atividades em processos cognitivos mais elevados, incluindo as inter-relações entre diferentes conteúdos e técnicas e construção e produção de conhecimento

Muitas vezes as aulas práticas são reduzidas ao desenvolvimento de habilidades motoras, onde se dá uma grande importância na instrumentação, onde o objetivo passa a ser obter resultados precisos e repetitivos a partir de protocolos pré-estabelecidos, sem a participação dos estudantes. Muitas vezes nem as razões pelas quais um determinado experimento é proposto em uma aula prática é explicitado. Além disso, geralmente, foca-se no momento presencial na instrumentação e não na resolução do problema.

A problemática no desenvolvimento das aulas práticas se complexifica com os cursos a distância, nos quais as práticas são acompanhadas pelos tutores e posteriormente discutidas com os professores e o aluno necessita de maior suporte para compreensão das atividades desenvolvidas.

Nesse âmbito, o uso de *softwares* educacionais relacionados às aulas práticas, previamente ou posteriormente ao seu desenvolvimento, poderia potencializar o desenvolvimento desta, possibilitando ao professor explorar de modo mais aprofundando os conhecimentos abordados, ou mesmo simular novos problemas usando de simulações que possibilitam experimentos que necessitariam de grande tempo para sua execução.

Para este trabalho se optou pela temática de dosagem de proteínas, para construção do *software* dada a importância destas para a Bioquímica, assim como do método de espectrometria, que possui ampla utilização em diversos procedimentos.

1.1 Software no ensino de bioquímica

A Biologia, área de atuação deste projeto, e os conteúdos que ela envolve, como estruturas e processos, são complexos por natureza e difíceis de serem ensinados e aprendidos [1, 2]. A exploração de recursos visuais no ensino de Biologia é muito usado, e portanto é comum encontrar modelos, tanto macro como microscópicos, para facilitar a compreensão desses conteúdos [3, 4, 5, 6].

Neste contexto, torna-se cada vez mais proeminente o número de professores utilizando uma grande diversidade de *softwares* para o ensino de Bioquímica, devido principalmente essas necessidades de visualização de eventos complexos [7]. Estes *softwares* estão sendo utilizados como suplemento na graduação nos currículos de Bioquímica.

A utilização do computador pode ser parte integrante do processo de ensino aprendizagem, permitindo a “manipulação” de conceitos e estratégias de usos destes conceitos na resolução de problemas ou projetos.

Existem diversos tipos de recursos computacionais sendo utilizados no ensino de Bioquímica, entre eles *softwares* de visualização de moléculas (Rasmol¹) bi ou tridimensionalmente, animações de reações, apresentações de slides, laboratórios virtuais, *softwares* educacionais, sites, simulações e ferramentas de Bioinformática. Estes *softwares* não possuem apenas o intuito de facilitar o desenvolvimento das aulas pelos professores, mas de ajudar os estudantes na compreensão dos mecanismos Bioquímicos, muito mais que meramente memorizá-los [7].

O s *softwares* educacionais possuem um grande potencial, podendo substituir diversos métodos convencionais de ensino, mas isto dependerá de como esta tecnologia será utilizada [8], ou seja, da proposta didática desenvolvida pelo professor.

Alguns tipos de materiais, como laboratórios virtuais com simulações permitem que o aluno desenvolva um grande número de experimentações em um curto período de tempo, entretanto, não há muitos *softwares* de simulações na área da Bioquímica [8]. Estas simulações devem atentar para não se criar uma realidade paralela que exista apenas nas telas dos computadores e jamais poderá ser extrapolada à vivência dos alunos. Além disto, são ferramentas auxiliares para entendimento e relacionados aos conteúdos apresentados nas aulas expositivas e livros-textos.

A utilização de simulações tem grande vantagem sobre figuras convencionais, ou mesmo animações, quando se trata de promover a compreensão de fenômenos

1 Rasmol – <http://www.openrasmol.org>

essencialmente dinâmicos.

Aparentemente, os recursos computacionais permitem a exploração de novas estratégias de ensino, quando observadas as estratégias utilizadas na implementação efetiva de simulações na prática pedagógica, observando-se diferentes formas de uso (ênfase na escrita, ensaio e erro, sessão teórica com exercícios, projetos de pesquisa etc).

Observa-se que há uma tendência a incorporação do uso de simulações dentro de um contexto mais amplo, como complementação de aulas ou mesmo integrado a diversos projetos e pesquisa [9].

Um dos contextos em que os recursos computacionais podem ser implementados é em aulas práticas de Bioquímica, podendo contribuir para a compreensão dos experimentos (conceitos teóricos e técnicas).

2 protVirt

O *software* protVirt – Dosagem de proteínas [10] (Figura 1) foi desenvolvido a partir da demanda dos estudantes da disciplina de Bioquímica, do curso a distância de licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alfenas (Unifal-MG), utilizando-se o *software* Adobe Flash®.

Além dessa demanda, os cursos presenciais também fazem uso do protVirt, integrando atividades virtuais com as aulas práticas.

Figura 1. Tela de abertura do *softwares* Educacional protVirt.

O aplicativo está disponível para *download* na Biblioteca Digital de Ciências², o que possibilita a inclusão de seu link em qualquer Ambiente Virtual de Aprendizagem, assim com ser incorporado em páginas, fóruns e atividades, pelo fato de ser um arquivo do Flash (SWF).

Os alunos desse curso desenvolvem práticas utilizando espectrometria para dosagem de proteínas, nos Polos de apoio presencial, acompanhados pelos tutores presenciais e/ ou a distância.

Os tutores atendem os alunos em diversas disciplinas (podendo ser de áreas distintas) e nem todos possuem a familiarização com as práticas de Bioquímica, assim, torna-se importante uma boa preparação prévia dos alunos e uma posterior discussão.

Buscando-se uma ferramenta complementar para as aulas práticas, desenvolveu-se o *software* protVirt, apresentando cinco seções: Ligação peptídica (1); Reação do Biureto (2); Espectrofotômetro (3); Dosagem de proteínas (4); Bibliografia (5).

As seções do *software* possuem distintos tipos de interação (leitura, reações animadas, itens destacados com o mouse, vídeo e animação interativa).

A primeira seção apresenta uma síntese sobre a ligação peptídica (Figura 2), possibilitando a visualização esquemática desta ligação e detalhes sobre um aminoácido.

Figura 2. Tela da seção Ligação peptídica.

Apresenta-se na segunda seção (Figura 3) a reação de Biureto, presente em um dos métodos de análise colorimétrica para quantificação de proteínas utilizando-se o

2 <http://www.bdc.ib.unicamp.br/bdc/visualizarMaterial.php?idMaterial=1342>

espectrofotômetro.

Exibem-se informações adicionais ao passar o mouse sobre os textos em vermelhos e sobre o tubo de ensaio.

Reação do Biureto

Existem diversos métodos para quantificar proteínas, sendo o **método do Biureto**, **método de Lowry** e o **método de Bradford** as técnicas comumente utilizadas.

Riegler (1914) propôs o método baseando-se na observação de que moléculas com duas ou mais **ligações peptídicas** formavam um complexo de coloração roxa/ lilás (com sal de cobre em solução alcalina).

Sabendo que a intensidade da cor está diretamente relacionada com a concentração dessas substâncias que interagem com o cobre, pode-se utilizar o espectrofotômetro para quantificar essa diferença!

Lembre-se que para utilizar esse método será necessário a construção de uma **curva padrão** com concentrações conhecidas.

Gradiente de coloração dada pela reação de Biureto para distintas concentrações de peptídios (mais de 2 ligações peptídicas) ou proteínas.

As cores poderão apresentar-se ligeiramente diferentes, de acordo com os alimentos e aplicação do experimento.

Figura 2. Tela da seção Reação do Biureto.

Na seção 4 – Espectrofotômetro (Figura 4), apresentam-se as informações básicas sobre o espectrofotômetro e os princípios físicos envolvidos. Nessa seção, pode-se interagir com o espectrofotômetro por meio do mouse.

Espectrofotômetro

A espectrofotometria é um dos principais métodos de análise, por meio do qual é possível quantificar a absorção ou transmissão da luz (ultravioleta, visível ou infravermelho), sendo utilizado para determinar a concentração de uma substância.

Comumente se utilizam substâncias coradas (cromóforas). Quanto maior a concentração de uma solução, maior o valor de absorbância medido, o que resulta na maior intensidade da cor da solução (relação diretamente proporcional à concentração de proteínas contida na amostra).

Para a quantificação de proteínas, pode-se utilizar

Passe o mouse

Abra o compartimento de amostras!

Comprimento de onda aproximado das cores (nm) - "Luz absorvida"							
Ultravioleta	Violeta	Azul	Verde	Amarelo	Alaranjado	Vermelho	Infravermelho
<380	380-435	435-480	500-560	580-595	595-650	650-780	>780

Figura 4. Tela da seção Espectrofotômetro.

A seção Dosagem de proteína (Figura 5) é a mais interativa, sendo importante o estudante ter acessado as demais seções anteriormente ou ter compreendido os conhecimentos abordados nelas.

Figura 5. Tela da seção Dosagem de proteína.

O experimento para dosar a proteína é realizado passo a passo com o estudante, iniciando com a preparação dos tubos (10 tubos, sendo 8 com amostras com quantidades de proteínas conhecidas e dois desconhecidos) e com as reações, seguido da quantificação no espectrofotômetro (inserção de uma cubeta por vez no aparelho e mensuração).

Por último, solicita-se que o estudante faça a regressão linear a partir dos dados das amostras conhecidas, para se calcular a quantidade de proteína presente nos tubos 9 e 10 (amostras desconhecidas). A regressão deverá ser feita em software específico (ex. *Calc – Libreoffice; MS Excell*, etc), similarmente ao que ele faria com os dados de um experimento real.

Ressalta-se que a imagem do aparelho utilizado é baseada em um aparelho real, similar ao encontrado em muitos laboratórios de aulas práticas de Bioquímica, com necessidade do estudante ligar o aparelho, inserir o comprimento de onda de leitura e depois realizar as leituras de absorbância. Para tanto, o estudante clica no teclado para se ampliar o mesmo (Figura 6) e poder operar o equipamento.

Figura 5. Tela do teclado do espectrofotômetro visualizada pelo usuário quando clicado no aparelho.

Destaca-se que, na animação interativa, cada cubeta é identificada dentro do aparelho, correlacionando a cor com a absorbância. Além disso, o aparelho indica alguns possíveis erros, como quando tenta-se fazer a leitura com o compartimento de cubetas aberto ou mesmo vazio.

Outro ponto de destaque na animação interativa corresponde as setas de avançar e retornar. Com isso o estudante executa a atividade no tempo dele, podendo avançar para a próxima etapa ou refazer a anterior, de acordo com as necessidades próprias.

2.1 Avaliação do software

Para garantir a aplicabilidade educacional do software, o mesmo foi testado por cinco avaliadores, usando o método de avaliação de usabilidade por método de inspeção (avaliação de eurística), conforme descrito por Nielsen [11], sendo que, para tal aplicação, um pequeno número de avaliadores (4 a 5) resulta em resultados significativos.

Destaca-se que o aplicativo possui tamanho reduzido, com cerca de 4,5mb, e formato flash (swf), o que resulta na rapidez do *download* e na possibilidade de seu uso em multiplataformas (Windows, IOS e Linux), apenas com a necessidade do plugin Flash e demandando baixo processamento para sua execução.

Apresenta-se na Tabela 1 os principais resultados da avaliação, sendo que cada item possuía uma escala de concordância, baseada na escala de Likert [12], entretanto, como uma escala numérica (1 a 5) para posterior quantificação.

Observou-se uma média relativamente alta (4,72), o que garante, de certa forma, sua inserção em propostas educacionais, sem que estas sejam prejudicadas por

problemas de usabilidade que resultariam no mal aproveitamento do software e na desmotivação de seu uso pelos professores e estudantes.

Tabela 1. Principais resultados da avaliação de usabilidade do protVirt (n=5).

Qualidade técnica da mídia	Média	Desvio padrão
Facilidade de instalação/inicialização	4,80	0,37
Facilidade de uso	4,51	0,54
Facilidade de navegação	4,63	0,38
Confiabilidade (apresenta falhas com frequência)	4,94	0,13
Recuperação no caso de falhas	4,69	0,28
Qualidade das imagens estáticas	4,42	0,49
Qualidade visual	4,61	0,50
Organização da tela	4,94	0,32
Uso individualizado (sem professor)	4,94	0,57
Total	4,72	0,40

Os dados acima corroboram com os comentários dos usuários na própria postagem do material na Biblioteca Digital de Ciências, assim como pelo número de downloads realizados até junho de 2016 (4.219), além dos usuários que usaram o software *online*.

3 Estratégias de utilização

O protVirt pode ser caracterizado, segundo Valente [13], no âmbito dos *softwares* educacionais, como uma simulação, uma vez que envolve um modelo dinâmico e simplificado de uma prática laboratorial, permitindo ao estudante testar e analisar os resultados obtidos.

O fato de ser uma simulação educacional não restringe sua forma ou proposta de utilização, podendo ser incluso em uma proposta motivadora, indutiva, instrumental ou investigativa, relacionado ou não com atividades presenciais no laboratório.

Dessa forma, pensando em uma proposta motivadora e/ou indutiva, entendendo este último como a determinação de um caminho específico para a aprendizagem de um conhecimento específico, pode-se propor seu uso integrado à disciplina de Bioquímica, durante a abordagem dos métodos de quantificação de proteínas. Neste caso, após abordar rapidamente esta prática em sala de aula, sugere-se seu uso em sala de informática ou em casa, solicitando aos estudantes o relatório da prática virtual (relatório opcional) e a indicação dos valores das massas de proteínas nas amostras desconhecidas 9 e 10.

A proposta acima pode ganhar também um caráter instrumental, quando se relaciona seu uso (posterior) com uma atividade prática em laboratório. Dessa forma, ao chegar no laboratório, o estudante desenvolveu conhecimentos sobre o método e sobre o uso do equipamento (espectrofotômetro) em si, permitindo um aprofundamento em sala de aula e um melhor desempenho durante a atividade, que poderá iniciar com uma investigação proposta pelos estudantes, uma vez que conhecem previamente o método relacionado.

4 Impacto no ensino-aprendizagem

Tendo em vista as diversas possibilidades de uso do protVirt, tem-se a potencialização dos impactos no processo de ensino-aprendizagem, principalmente quando relaciona-se o uso do *software* com a atividade prática presencial.

Mesmo sem a prática presencial, tem-se diversos cursos que não desenvolvem a prática de dosagem de proteínas e possuem a oportunidade de simular esta em ambiente virtual, possibilitando a aprendizagem deste método.

A avaliação da importância do protVirt para a aprendizagem de Bioquímica, segundo a experiência de estudantes de Ciências Biológicas, modalidade EAD(n=26), que usaram o *software* anteriormente à atividade no Polo, indicou que 70% dos estudantes consideraram muito importante e 30 % importante seu uso, principalmente pelo fato de ter preparado eles para a prática que desenvolveram no polo e poderem chegar com dúvidas mais profundas sobre os conteúdos durante a realização da prática.

O mesmo pode ser observado quando de sua utilização com alunos de cursos presenciais de Biomedicina (n=32). Estes também indicaram que o aplicativo auxiliou muito (92%) na compreensão da prática e dos conhecimentos envolvidos, facilitando a realização da atividade prática em laboratório (94%), até mesmo pelo fato do aparelho da simulação ser o mesmo usado durante as atividades.

5 Considerações finais

O uso de simulações tem grande potencial no ensino-aprendizagem de Bioquímica, principalmente quando permite que os alunos interajam com o modelo e possibilite conexões com as atividades presenciais.

No caso das atividades práticas, uma das dificuldades é instrumental (saber usar os equipamentos) e outra inclui os conhecimentos envolvidos no uso do equipamento em

um protocolo experimental. Nesse sentido, o protVirt traz elementos para ambas questões, podendo ser usado como método de ensino prévio as atividades presenciais, possibilitando uma maior exploração das aulas práticas, tendo em vista os conhecimentos prévios construídos pelos estudantes a partir do uso do *software*.

Referências

- [1] Barack J, Sheva B, Gorodetsky M. As “process” as it can get: students' understanding of biological processes. *International journal of Science Education* 1999; 21:1281-1292
- [2] Buckley BC. Interactive Multimedia and model-based learning in biology. *International Journal of Science Education* 2000; 22:895-935.
- [3] Mikropoulos TA, Katsikis A, Nikolou E, Tsakalis P. Virtual Environments in Biology teaching. *J Biol Educ* 2003; 37(4):176-181.
- [4] Shim KC, Park JC, Kim HS, Kim JH, Park YC, Ryu H (2003) Application of virtual reality technology in biology education. *J BIOL EDUC* 2003; 37(2):71-74
- [5] Baggot LM, Wright B. PhotoCD in biology education. *Am Bio Teacher* 1999; 58(7):390-395.
- [6] Leonard WH. Biology education with interactive videodiscs 2. Development of laboratory simulations. *Am Bio Teacher* 1985; 47(1):38-40.
- [7] Whitehead JP, Pence, HR. Using computers to teach biochemistry. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30(3): 206-207.
- [8] Galembeck E, Kubo RT, Maedo, DV, Torres, BB. Oxygen consumption by isolated Mitochondria: Software for planning and interpretind experiments. *Biochemical Education* 1998; 26:41-43.
- [9] Ribeiro AA, Greca IM. Simulações computacionais e ferramentas de modernização em educação Química: Uma revisão de literatura publicada. *Química Nova* 2003; 26(4):542-549.
- [10] Hornink GG. protVirt – Dosagem de proteínas (software educacional). *Bib Dig Ciências*; 2011 [acesso em 22 jun 2016]. Disponível em: <http://www.ib.unicamp.br/lte/bdc/visualizarMaterial.php?idMaterial=1342>.
- [11] Nielsen J, Mack RL. *Usability Inspection Methods Computer*. New York: John Wiley & Sons; 1994.
- [12] Likert R. A technique for the measure of attitudes. *Archives of Psychology*. *Archives of Psycology* 1932; 140:1-55.
- [13] Valente JA. Diferentes usos do computador na educação. Em Aberto, Brasília 1993; 12(57):3-16.