



DOI: 10.31416/rsdv.v12i1.457

Uma abordagem experimental da Química Verde para o ensino médio a partir da biodegradação de corantes

Green Chemistry experimental approach to high school from the biodegradation of dye

SANTOS, Luis Carlos Silva. Técnico/Técnico em Segurança do Trabalho

Instituto Federal da Bahia - *Campus Juazeiro*. Rodovia BA 210, S/N, Bairro Nova Juazeiro - Juazeiro - BA - Brasil. CEP: 48.918-900 / Telefone: (74) 3621.8748 / E-mail: luic6539@gmail.com

LIMA, Maria Lair Sabóia de Oliveira. Doutorado/Doutora em Ciências - Química Orgânica

Instituto Federal do Sertão Pernambucano - *Campus Salgueiro*. BR-232, Km 508, s/n - Zona Rural - Salgueiro - PE - Brasil. CEP: 56.000-000 / Telefone: (87) 98119.2921 / E-mail: maria.lair@ifsertao-pe.edu.br

VIEIRA, Rômulo Batista. Doutorado/Doutor em Ciências - Química Inorgânica

Universidade do Estado da Bahia - *Campus Juazeiro*. Rua Edgar Chastinet, s/n - Jardim Universitário - Juazeiro - BA - Brasil. CEP: 48.904-163 / Telefone: (74) 3611.7248 / E-mail: rbvieira@uneb.br

RESUMO

Nos últimos anos, os Princípios da Química Verde têm estado cada vez mais presentes nos âmbitos científico e profissional. Para que isso se tornasse possível, ela também precisou ser inserida no contexto da educação nos diferentes níveis de ensino. Isto possibilitou que a Química Verde fosse vista como um ramo científico presente no cotidiano dos alunos assistidos e, consequentemente, que a temática se tornasse mais acessível à população. Uma forma prática de observá-la é através de experimentos que utilizam enzimas associadas à substratos coloridos. Assim, é possível visualizar a transformação química acontecendo através de uma dada mudança de coloração. É neste contexto que se destacam as enzimas peroxidases. Muito abundantes em vegetais que escurecem com facilidade quando expostos à atmosfera, elas são capazes de degradar compostos conjugados, como os corantes (presentes em muitos rejeitos), provocando mudança de coloração. Devido a característica de escurecimento e também por ser um vegetal abundante na região do Vale do São Francisco, a uva verde com semente foi selecionada para investigação da presença de peroxidases através do teste confirmativo do guaiacol. Amostras de polpa, cascas e talos apresentaram-se positivas no teste. De posse dos resultados, as três amostras foram avaliadas frente aos corantes azul de metileno e violeta genciana na presença de água mineral como solvente. Todos os experimentos mostraram a capacidade das peroxidases em degradar os corantes avaliados, com notáveis mudanças de coloração. De posse dos resultados obtidos, foi apresentada uma alternativa de baixo custo para se trabalhar um experimento envolvendo Química Verde, com informações visuais perceptíveis, conclusivas e relacionáveis aos seus Princípios. Além disso, é importante ressaltar que o referido artigo também apresenta discussões correlacionadas a outras áreas da química (como conceitos de oxidorredução) e também da biologia, bem como sugestões extras que podem ser aplicadas com os alunos. Por fim, aliado a este estudo, houve o papel formativo no auxílio à construção do pensamento crítico do bolsista envolvido no que tange ao seu entendimento sobre a Química Verde e, principalmente como ele, estudante do ensino médio, teve uma percepção positiva do conteúdo trabalhado.

palavras-chave: Química Verde, corantes, peroxidases, ensino de química, ensino de Química Verde.



ABSTRACT

In recent years, the Principles of Green Chemistry have been increasingly present in scientific and professional fields. For this to become possible, it also needed to be inserted in the context of education at different levels of education. This made it possible for Green Chemistry to be seen as a scientific branch present in the daily lives of the assisted students and, consequently, for the topic to become more accessible to the population. A practical way to observe it is through experiments that use enzymes associated with colored substrates. Thus, it is possible to visualize the chemical transformation taking place through a given color change. It is in this context that the peroxidase enzymes stand out. Very abundant in vegetables that darken easily when exposed to the atmosphere, they are capable of degrading conjugated compounds, such as dyes, causing a change in color. Due to the darkening characteristic and also because it is an abundant vegetable in the São Francisco Valley region, the green grape with seed was selected for investigation of the presence of peroxidases through the guaiacol confirmatory test. Pulp, peel and stem samples were positive in the test. With the results in hand, the three samples were evaluated against methylene blue and gentian violet dyes in the presence of mineral water as solvent. All experiments showed the ability of peroxidases to degrade the evaluated dyes, with notable color changes. With the results obtained, the work showed a low-cost alternative to work on an experiment involving Green Chemistry, with perceptible, conclusive and relatable visual information to its Principles. In addition, it is important to emphasize that the aforementioned article also presents discussions correlated to other areas of chemistry (such as redox concepts) and also biology, as well as extra suggestions that can be applied with students. Finally, allied to this study, there was a formative role in helping to build the critical thinking of the scholarship holder involved in terms of his understanding of Green Chemistry and, mainly, as a high school student, he had a positive perception of the content here worked.

keywords: Green Chemistry, dyes, peroxidases, teaching chemistry, teaching Green Chemistry

Introdução

O ano era 1991 e, pela primeira vez, através da EPA (*Environmental Protection Agency* - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América), o termo Química Verde era apresentado à comunidade científica. Isto aconteceu graças ao lançamento do programa *Alternative Synthetic Design for Pollution Prevention* (Rotas Sintéticas Alternativas para Prevenção de Poluição), que incluía uma linha de financiamento a projetos que visassem redução ou erradicação da poluição em seus processos químicos. Mais tarde, em 1998, Anastas e Warner, membros da EPA, consolidaram o conceito de Química Verde como uma vertente que surgia com foco principal na construção de uma ciência mais limpa e ambientalmente correta, com redução ou erradicação de prejuízos ao meio ambiente e, consequentemente, à sociedade como um todo (ANASTAS e WARNER, 1998; EPA, 2022; LENARDÃO et al., 2003).

Com a crescente visibilidade da temática, a Química Verde se tornou alvo de muitos grupos de pesquisa na época, o que contribuiu para uma ascensão em nível mundial. Uma prova disso é que, atualmente, há revistas de grande impacto (SOUSA-AGUIAR et al., 2014) (como a *Green Chemistry* - da editora britânica *Royal Society of Chemistry*) e eventos específicos (como o *Annual Green Chemistry & Engineering Conference*, promovido anualmente pela *American Chemical Society* e que contará com a sua 27ª edição em 2023) (GCAND, 2022) para a tratativa do tema, que reúnem pensamentos e trabalhos de cientistas de todo o planeta, com focos na redução de danos ocasionados a partir do desenvolvimento do saber científico mundial. Tal ascensão corrobora com o que fora inicialmente implementado pela EPA, que diz que a filosofia da Química Verde deve ser aplicada a



todas as áreas da Química, com uso de soluções científicas inovadoras e que previnam a poluição desde o nível molecular (EPA, 2022). Assim, é possível diminuir (ou até mesmo eliminar) o perigo que produtos ou processos químicos possam ocasionar ao meio ambiente. Posto isto, a Química Verde orienta que os trabalhos científicos sejam norteados por 12 princípios fundamentais (EPA, 2022; SILVA; LACERDA; JONES JUNIOR, 2005), apresentados na Figura 1:

Figura 1 - Os 12 princípios norteadores da Química Verde



Fonte: Elaborada pelos autores com informações de EPA (2022).

Em 2002, Anastas e Kirchhoff apresentaram a importância destes princípios serem introduzidos aos estudantes de diferentes níveis, de tal modo que se consolidasse a filosofia e a prática da Química Verde tanto no cotidiano quanto no âmbito profissional (ANASTAS; KIRCHHOFF, 2002). Por conseguinte, ao longo de mais de 30 anos desde o seu surgimento (MARQUES; MACHADO, 2021), outros autores, como Marques et al. (2013), Machado (2014) e Zuin et al. (2015) também corroboraram com esta linha de pensamento, enfatizando que a inclusão da Química Verde nos currículos de Química contribui para facetar a formação dos estudantes e especialistas da área, com o desenvolvimento de pensamentos críticos que contribuam, positivamente e sob um ponto de vista químico, para um bem estar socioambiental (SANDRI; SANTIN FILHO, 2019).

Uma forma interessante de se utilizar a Química Verde como ferramenta de ensino é através de abordagens experimentais que apresentem efeitos visuais expressivos. Neste contexto, o uso de ensaios que envolvem o uso de corantes apresenta merecido destaque, uma vez que, além de terem diferentes estruturas químicas, ricas em grupos funcionais e conjugações (Tabela 1), estão presentes em setores que vão desde a indústria alimentícia até as indústrias têxteis e farmacêuticas (VELOSO, 2021).

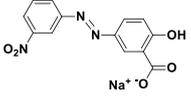
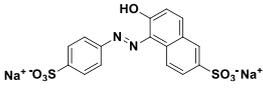
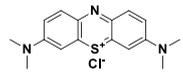
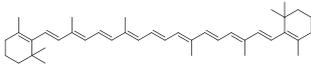
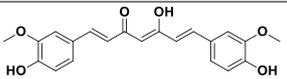
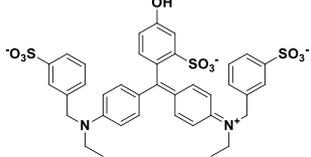
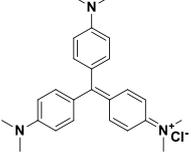
No entanto, atrelada a esta vasta gama de aplicações, há os resíduos orgânicos gerados durante as produções e aplicações destes corantes. Por exemplo, se analisarmos apenas as indústrias têxteis, estas são responsáveis por, aproximadamente, 15% do consumo de água empregado no setor industrial. Um valor bastante significativo, haja vista que este volume de água é empregado em processos de tingimento e lavagem de tecidos, o que gera resíduos orgânicos de elevada carga orgânica e de coloração intensa. Sob um ponto de vista ambiental, se não houver tratamento adequado, a fauna e a flora aquáticas poderão ser comprometidas (GUARATINI; ZANONI, 2000; LIMA;



ALCEU; GONÇALVES, 2020). Isto pode acontecer porque uma coloração intensa atenua a transparência da água e, conseqüentemente, a radiação responsável por iniciar a fotossíntese se torna escassa (GUARATINI; ZANONI, 2000; SILVA et al., 2012).

No âmbito científico, há muitos relatos que mostram a catálise enzimática como protagonista da degradação de corantes. Deste modo, por utilizarem, por exemplo, reações em meio aquoso, pouco ou nenhum uso de reagentes adicionais, catalisadores biológicos, reações químicas em temperatura próxima à ambiente e materiais renováveis, podemos enquadrar este tipo de catálise como pertencentes ao escopo da Química Verde. É nesse cenário que se destacam as enzimas do tipo peroxidases (E. C. 1.11.1.7) (FABER, 2018), amplamente presentes em plantas e conhecidas pela sua capacidade de degradar compostos aromáticos, como aqueles presentes em muitos rejeitos industriais e em estruturas de corantes (Tabela 1). Tal comportamento é esperado devido a estas enzimas serem capazes de mediar reações de oxidorredução e assistirem a clivagem de grupamentos conjugados (SILVA et al., 2012). Em nosso cotidiano, um indicador natural da presença destas enzimas nos vegetais é o escurecimento dos alimentos quando expostos à atmosfera, sendo estas as grandes responsáveis pelo escurecimento de vegetais e de seus derivados processados (FREITAS et al., 2008).

**Tabela 1** - Exemplos de estruturas de corantes com ênfase em seus principais grupos funcionais e aplicabilidades

| Estrutura química do corante | Nome comercial | Cor | Principais grupos funcionais | Onde pode ser aplicado? |
|---|----------------------|------------|--|--|
|  | amarelo de alizarina | amarelo | nitro, azo, fenol e sal de ácido carboxílico | Na indústria química (como indicador de cobre) e indústria civil (análise de ferrugem) |
|  | amarelo crepúsculo | amarelo | sulfato, azo, fenol | Como corante alimentício (cereais, balas, caramelos, bebidas) |
|  | azul de metileno | azul | amina aromática, fenotiazina ¹ | Como antisséptico |
|  | β-caroteno | alaranjado | hidrocarboneto conjugado | Como corante alimentício e é provitamina A (importante para a visão) |
|  | curcumina | amarelo | éter, fenol, cetona, enol | Em sorvetes, massas alimentícias |
|  | verde rápido | verde | sulfato, amina aromática e fenol | Em bebidas à base de chá verde, chicletes, balas |
|  | violeta genciana | violeta | amina aromática | Como antisséptico |

¹Fenotiazinas são compostos derivados da classe das tiazinas, caracterizadas por apresentarem um heterociclo aromático contendo quatro átomos de carbono, 1 e enxofre e 1 nitrogênio, conforme ordem apresentada no azul de metileno (Joule; Mills, 2010).

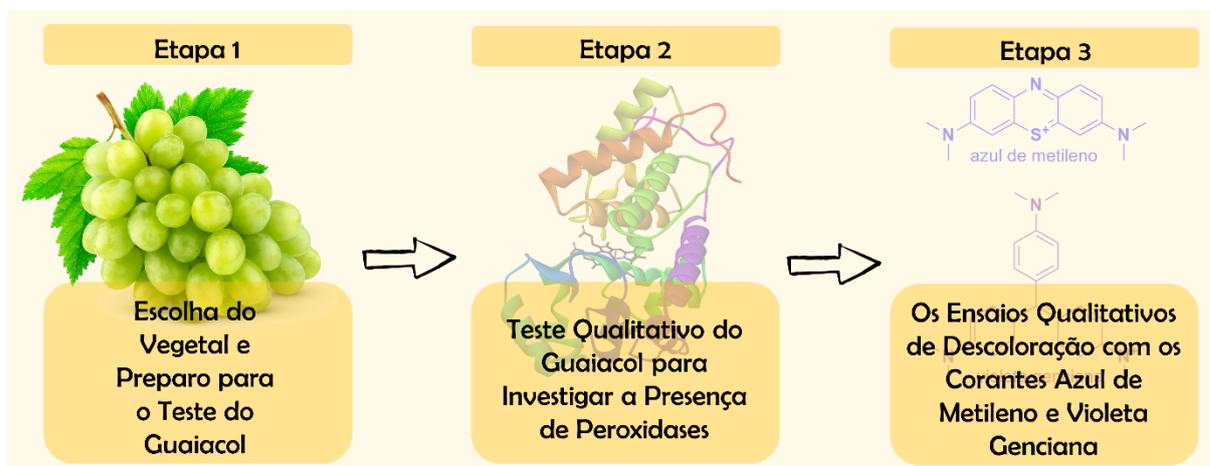
Fonte: Elaborada pelos autores com informações de Veloso (2021).

Neste contexto, o presente artigo visa demonstrar, através de um experimento simples e de baixo custo, como a Química Verde pode ser explorada no ensino médio, com uma demonstração de como extratos enzimáticos podem auxiliar da degradação de corantes conjugados, presentes em muitos rejeitos industriais. Para tanto, serão utilizados extratos contendo peroxidases vegetais obtidos a partir da uva verde (de sua casca, polpa e talos) produzida na região do Vale do São Francisco. Os experimentos serão conduzidos de acordo com princípios norteadores da Química Verde e serão utilizados dois corantes de baixo custo e fácil obtenção: o azul de metileno e o violeta genciana. Aqui, embora de modo qualitativo, queremos demonstrar como, através da Química Verde, um recurso natural renovável pode ser um forte aliado na degradação de corantes, além de contribuir como um alicerce educacional e com a construção do pensamento crítico dos alunos em formação.

Material e Métodos

Para uma melhor organização, a metodologia experimental utilizada neste trabalho foi dividida em 3 etapas e conduzida conforme sequência ilustrada a seguir (Figura 2).

Figura 2 - Sequência de etapas empregadas no experimental deste trabalho



Fonte: Elaborada pelos autores.

No Quadro 1, apresentamos os materiais e soluções utilizados nas 3 etapas experimentais propostas, seguido da metodologia adotada em cada etapa:

**Quadro 1 - Materiais utilizados em cada etapa**

| | |
|-----------------|--|
| Etapa 1: | água sanitária; recipiente para desinfecção das uvas (tigela de plástico ou vidro de volume aproximadamente igual a 2,0 L; 1 cacho de uvas verdes com sementes de aproximadamente 0,150 kg; 1 faca de cozinha; 1 colher (sopa); 3 copos de vidro de 0,05 L (copos de cachaça); água de torneira; papel toalha. |
| Etapa 2: | Amostras vegetais obtidas na Etapa 1; 0,500 L de água mineral (marca Indaiá) ^a obtida de uma garrafa devidamente lacrada; 0,012 L de solução de água oxigenada 10 volumes (marca Needs, 0,3 %, vendida em farmácias); 12 gotas de guaiacol comercial puríssimo (CAS 90-05-1, marca Dinâmica); 12 copos de vidro de 0,05 L; 1 seringa ^b de plástico de 0,010 L e 1 seringa ^b de plástico de 0,005L (vendidas em farmácia); 1 conta-gotas. |
| Etapa 3: | 1 cacho de uvas verdes com sementes de aproximadamente 0,350 kg; 0,250 L de água mineral (marca Indaiá) ^a ; 1 colher (sopa); copo medidor de uso geral para volumes maiores de líquidos (0,080 L); liquidificador (modelo Philips Walita RI7632); azul de metileno (marca Farmax, a 1% em etanol e água purificada); violeta genciana (marca Needs, a 2% em etanol e água purificada); copos descartáveis biodegradáveis (40 unidades); 4 seringas ^b de 0,010 L e 4 seringas ^b de 0,005 L; funil de transferência; algodão ^c . |

^aA mesma garrafa de água mineral pode ser utilizada nas **Etapas 2 e 3** desde que cuidadosamente manuseada; ^bAs seringas podem ser substituídas por copos dosadores que acompanham frascos de remédio; ^cO algodão pode ser substituído por gaze cirúrgica.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Etapa 1: Escolha do Vegetal e Preparo para o Teste do Guaiacol

Os vegetais (uvas verdes com sementes) escolhidas foram obtidos no Mercado do Produtor de Juazeiro/BA, localizado na região do Vale do São Francisco.

Para o teste do guaiacol, 1 cacho de uvas verdes com sementes, de aproximadamente 0,5 kg, foi cuidadosamente lavado em água corrente de torneira para que resíduos maiores, como partículas de areia, fossem removidos. Em seguida, o mesmo foi submergido em aproximadamente 1,0 L de uma solução de desinfecção (preparada com 1,0 L de água de torneira e 1 colher - de sopa - de água sanitária) durante 10 minutos (Conselho Federal de Química [CFQ], 2022). Após, as uvas foram novamente lavadas com água corrente de torneira para remoção dos resíduos clorados e deixadas sob papel toalha até que secassem.

Com o auxílio de uma faca de cozinha, foram separados a polpa, a casca e os talos, originando três amostras originadas das uvas. Estas foram cortadas em pequenos pedaços (de aproximadamente 0,5 cm) até que fossem obtidas quantidades suficientes para preencher 1 colher (sopa) de cada uma. As amostras foram armazenadas em copos de vidro de 0,050 L e imediatamente submetidas ao teste do guaiacol. Durante a obtenção das amostras das cascas, um resíduo da polpa permaneceu aderido.

Neste caso, este resíduo foi cuidadosamente raspado das cascas, com posterior lavagem das mesmas com um filete de água de torneira e secagem em papel toalha durante 5 minutos.

Etapa 2: Teste Qualitativo do Guaiacol para Investigar a Presença de Peroxidases

Para cada amostra vegetal preparada na Etapa 1 (polpa, casca e talos), foi adotado o seguinte protocolo:

A amostra vegetal foi separada em 4 partes aproximadamente iguais ($\frac{1}{4}$ de colher de sopa) e adicionada em 4 diferentes copos de vidro de 0,05 L (volume de copos de cachaça). Em seguida, em cada copo, foi realizada a adição dos componentes nas quantidades descritas no Quadro 2:

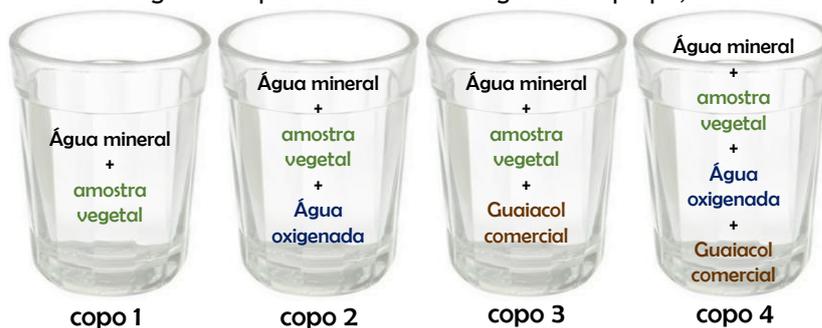
Quadro 2 - Quantidades empregadas de cada item no teste qualitativo do guaiacol

| Item empregado no experimento | copo 1 | copo 2 | copo 3 | copo 4 |
|--------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Amostra vegetal | presente | presente | presente | presente |
| Água mineral | 0,010 L | 0,008 L | 0,010 L | 0,008 L |
| Água oxigenada 10 volumes | 0,000 L | 0,002 L | 0,000 L | 0,002 L |
| Guaiacol comercial puríssimo | 0,000 L | 0,000 L | 2 gotas | 2 gotas |
| Volume final aproximado em cada copo | 0,010 L | 0,010 L | 0,010 L | 0,010 L |

Fonte: Elaborado pelos autores.

Após montagem, o experimento teve a seguinte apresentação (Figura 3):

Figura 3 - Teste do guaiacol para as amostras vegetais da polpa, da casca e dos talos



Fonte: Elaborada pelos autores.

Os volumes de água mineral e de água oxigenada foram adicionados com seringas de plástico, com medições de 0,010 L e 0,005 L, respectivamente. O guaiacol comercial foi adicionado com conta gotas.

Etapa 3: Os Ensaios Qualitativos de Descoloração com os Corantes Azul de Metileno e Violeta Genciana

O preparo de suspensões das amostras de polpa, casca e talos e de soluções diluídas dos corantes azul de metileno e violeta genciana foram necessários para facilitar a visualização dos resultados experimentais. Deste modo, as suspensões e soluções foram preparadas como segue:

- **Preparo das suspensões**

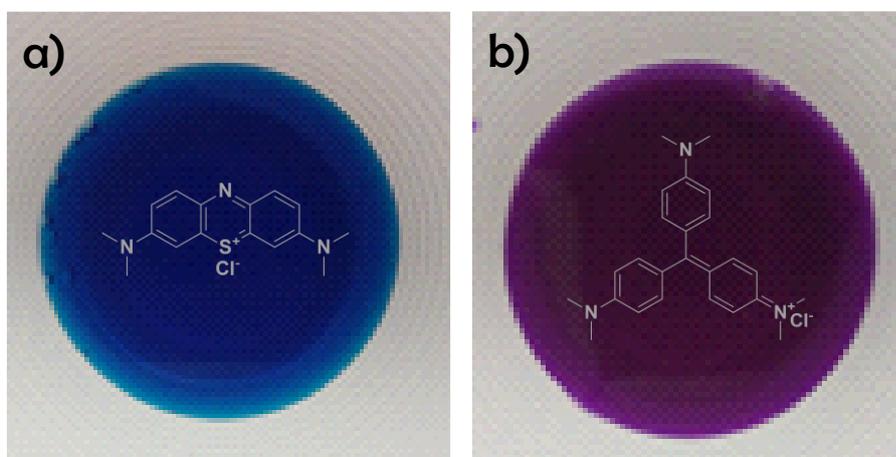
Após devidamente limpas e desinfetadas conforme descrito na **Etapa 1**, as polpas de outras 15 uvas foram removidas e, em seguida, transferidas para um liquidificador, onde foram acrescentados 0,080 L de água mineral com auxílio de um copo medidor de uso doméstico. A mistura foi submetida a processamento utilizando a velocidade mais baixa do liquidificador, durante 15 segundos, obtendo-se, por fim, a suspensão vegetal (suco) correspondente.

Procedimento análogo foi realizado com as cascas e talos, considerando, como quantidades para estes, 1 colher (sopa) para cada 0,080 L de água mineral. Todas as suspensões obtidas foram transferidas para copos descartáveis biodegradáveis e utilizadas logo após seus preparos.

- **Preparo das soluções diluídas dos corantes**

Em copos descartáveis biodegradáveis, foram adicionadas 2 gotas de uma solução comercial de azul de metileno em 0,020 L de água mineral e 8 gotas da solução comercial de violeta genciana em 0,020 L de água mineral, obtendo-se soluções de colorações representadas na Figura 4. Os volumes de água mineral foram adicionados com seringas de plástico, com medições de 0,010 L e as soluções dos corantes, com conta-gotas já acoplados aos frascos.

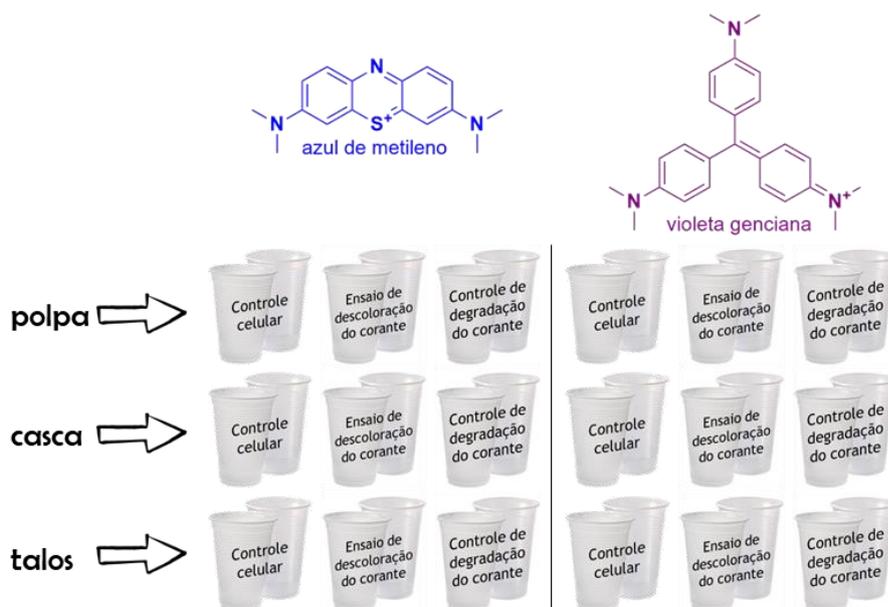
Figura 4 - Soluções diluídas de a) azul de metileno e b) violeta genciana



Fonte: Elaborada pelos autores.

De posse das soluções diluídas dos corantes e das suspensões vegetais preparadas na **Etapa 3**, foram iniciados os ensaios qualitativos de descoloração dos corantes azul de metileno e violeta genciana. Para tanto, foram realizados três monitoramentos: o **controle celular** (que indica mudanças de coloração referentes apenas à amostra vegetal), o **ensaio de descoloração do corante** (que mostra a capacidade que a amostra vegetal avaliada tem de degradar os corantes conjugados avaliados neste trabalho) e o **controle de degradação do corante** (que indica se os corantes perdem ou não suas colorações naturalmente, ou seja, na ausência das suspensões celulares avaliadas). Estes monitoramentos foram importantes por nos permitirem avaliar a influência de cada componente. Todas as suspensões vegetais foram avaliadas frente aos corantes azul de metileno e violeta genciana, com duplicatas dos controles e ensaios, conforme representado na Figura 5 e quantidades descritas no Quadro 3.

Figura 5 - Exemplo de montagem do experimento de degradação dos corantes azul de metileno e violeta genciana para todas as amostras vegetais



Fonte: Elaborada pelos autores.

Quadro 3 - Volumes utilizados nos experimentos de descoloração

| Item empregado no experimento | Controle celular | Ensaio de descoloração do corante | Controle de degradação do corante |
|---|------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Suspensão de células vegetais | 0,009 L | 0,009 L | 0,000 L |
| Volume de solução diluída do corante empregado no experimento | 0,000 L | 0,001 L | 0,001 L |
| Água mineral | 0,001 L | 0,000 L | 0,009 L |
| Volume final do ensaio | 0,010 L | 0,010 L | 0,010 L |

Fonte: Elaborada pelos autores.



Os experimentos foram deixados em repouso durante 24 h em temperatura ambiente e, ao término, o **controle celular** e o **ensaio de descoloração do corante** foram filtrados com funil e uma fina camada de algodão ou gaze cirúrgica para uma melhor visualização das colorações dos resultados experimentais.

Resultados e discussão

Os resultados e discussão das 3 etapas experimentais estão dispostos a seguir. Ademais, há, adicionalmente, tópicos que apresentam uma visão mais direcionada de como a Química Verde foi trabalhada, sugestões de como o professor pode incrementar a aplicação deste experimento em sala de aula e, por fim, é apresentada a percepção do bolsista no desenvolvimento deste projeto, mostrando a importância do desenvolvimento de pesquisas na formação de recursos humanos.

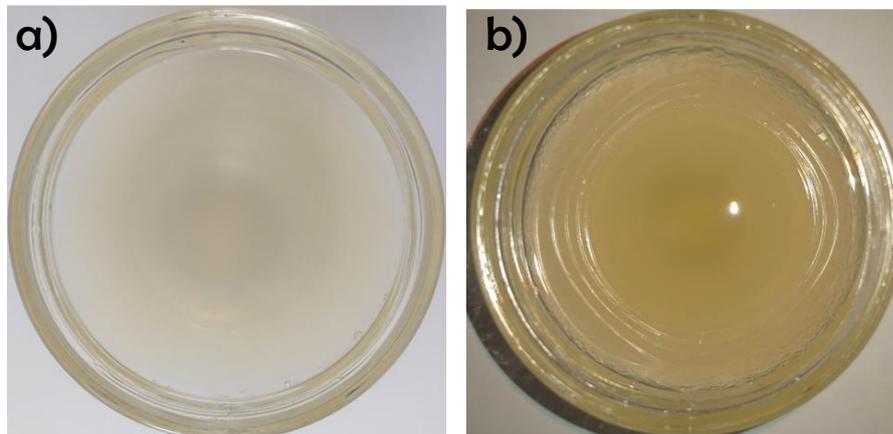
Das Etapas Experimentais

- **Etapa 1: Escolha do Vegetal e Preparo para o Teste do Guaiacol**

Com uma produção anual de mais de 1,5 milhão de toneladas, a uva tem sua visibilidade no mercado nacional, com merecido destaque para os estados do Rio Grande do Sul e de Pernambuco, seus maiores produtores. Os dois estados, juntos, são os responsáveis por mais de 70% da produção nacional (IBGE, 2022). Sendo assim, não é incomum encontrarmos este recurso natural renovável nas prateleiras dos supermercados como geleias, sucos e vinhos, além de ser facilmente encontrada na sua forma *in natura*.

Sob o ponto de vista da Química Verde, a uva *in natura* deslumbra pela abundância e capacidade de escurecer rapidamente quando exposta à atmosfera (Figura 6). Esta característica mostra um forte indicativo da presença de peroxidases vegetais, enzimas promissoras na degradação de compostos conjugados (como as apresentadas nos corantes - Tabela 1) (FREITAS et al., 2008).

Figura 6 - Notável escurecimento natural do suco da polpa de uva verde preparado apenas com água mineral e polpa. Em **a)** o suco imediatamente preparado e em **b)** suco 30 min após o preparo e exposição à atmosfera.



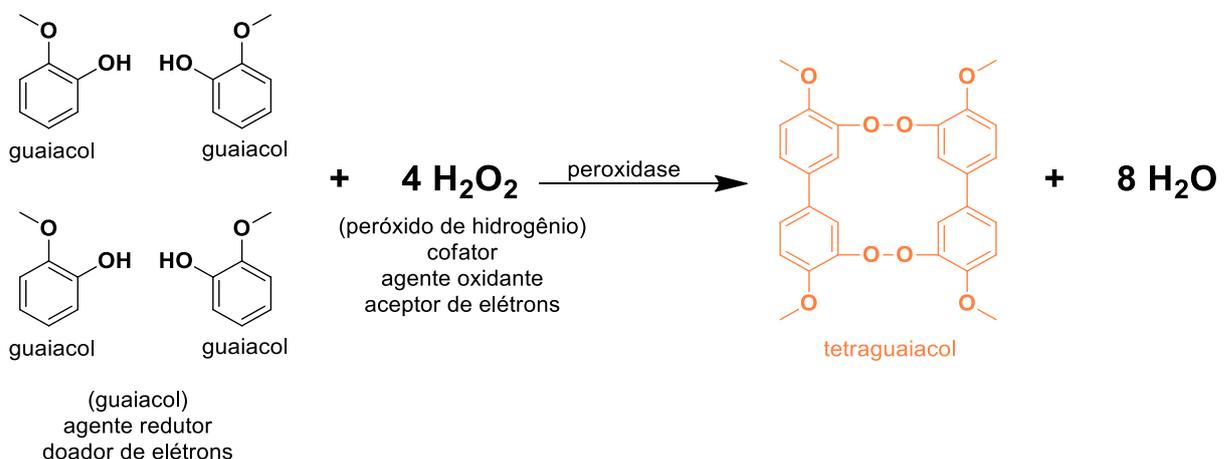
Fonte: Imagem experimental obtida pelos autores.

Comparativamente, tal característica é mais perceptível na uva verde do que na uva roxa e, por este motivo, a uva verde foi a variedade escolhida para realização deste trabalho.

- **Etapa 2: Teste Qualitativo do Guaiacol para Investigar a Presença de Peroxidases**

Embora o escurecimento vegetal seja um forte indicativo da presença de peroxidases (FREITAS et al., 2008), o teste do guaiacol funciona como uma etapa confirmativa de que de fato as peroxidases estão presentes na amostra avaliada. Para compreender como o teste funciona, é preciso relacionar a Química e a Biologia, entendendo que uma transformação química acontecerá por intermédio de um sistema biológico (neste caso, a enzima peroxidase presente no vegetal) (Figura 7).

Figura 7 - Transformação do guaiacol em tetraguaiacol mediada por uma peroxidase com auxílio de um cofator.



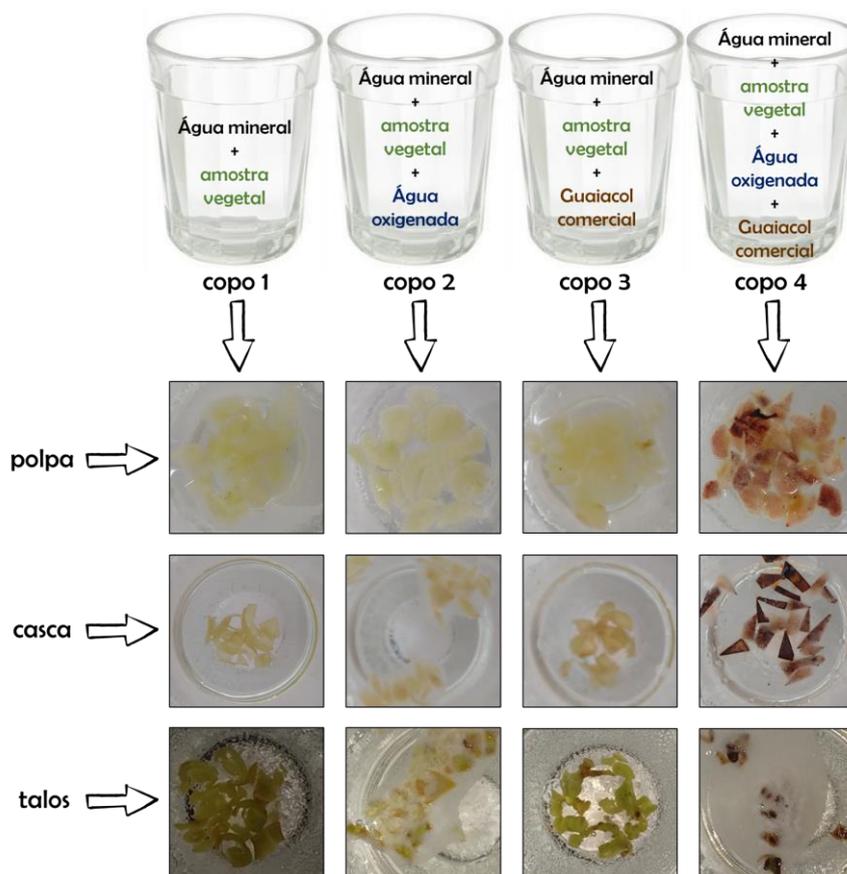
Fonte: Adaptado de Lima et al. (2020).

Esta enzima, com auxílio de um cofator (o peróxido de hidrogênio - H_2O_2), será capaz de converter o guaiacol (que é incolor) em tetraguaiacol (que possui uma coloração marrom-avermelhada). Segundo Lima et al. (2020), neste experimento, temos um exemplo de uma reação redox, onde o guaiacol é oxidado a tetraguaiacol (agente redutor) e o peróxido de hidrogênio é reduzido a água, sendo estes, doador eceptor de elétrons, respectivamente (Figura 7).

O cofator é definido como a parte não proteica da enzima necessária para o funcionamento do seu sítio catalítico (porção da enzima responsável pela transformação química). Caso este cofator seja orgânico e não proteico, este é denominado coenzima (BETTELHEIM et al., 2012). Deste modo a mudança de coloração é o indicativo de que a transformação química de fato aconteceu e que a enzima em questão se encontra presente na amostra analisada.

Como apresentado na Figura 8, a polpa, a casca e os talos da uva verde apresentaram resultados positivos no teste do guaiacol, com todos apresentando coloração marrom-avermelhada nos ensaios correspondentes ao copo 4. Isto foi possível de ser visualizado no copo 4 porque, apenas neste, há a presença das enzimas (obtidas à partir das suspensões vegetais), do cofator H_2O_2 e do guaiacol. Deste modo, todas as amostras vegetais avaliadas se mostraram promissoras quanto às suas capacidades de degradarem corantes conjugados.

Figura 8 - Resultados experimentais obtidos no teste do guaiacol para as amostras da polpa, casca e talos da uva verde



Fonte: Imagem experimental obtida pelos autores.



Ainda com nossa análise voltada à Figura 8, observamos que nos ensaios correspondentes ao copo 3, não houve formação da cor marrom-avermelhada. Tal fato se deve pela ausência do cofator, necessário ao funcionamento do sítio ativo da peroxidase. Ou seja, sem ele, a reação não acontecerá. Já no copo 2, onde há a presença do H_2O_2 e ausência do guaiacol, notamos uma conhecida atividade enzimática: a presença de enzima catalase, responsável esta pela degradação do H_2O_2 em água e oxigênio molecular e, por isto, percebemos a formação das bolhas (SOARES et al., 2016). Deste modo, o experimento traz consigo não apenas um vislumbre de uma mudança de coloração, que indica uma determinada atividade enzimática, mas apresenta importantes conceitos bioquímicos fundamentais para realização e entendimento do processo.

- **Etapas 3: Os Ensaios Qualitativos de Descoloração: Polpa, Cascas e Talos frente aos Corantes Azul de Metileno e Violeta Genciana**

De posse dos resultados positivos obtidos no teste do guaiacol (Figura 8), realizado da Etapa 2, mais um objetivo foi alcançado: o de avaliar a capacidade que estas amostras vegetais têm de degradar corantes. Para tanto, escolhemos os corantes azul de metileno e violeta genciana por serem quimicamente distintos (vide estruturas e grupos funcionais apresentados na Tabela 1), facilmente encontrados no comércio e por serem de preço acessível.

De modo bastante simples e objetivo, o resultado desta etapa experimental foi facilmente visualizado. Transcorrido o período de 24 h, os experimentos elaborados conforme quantidades descritas no Quadro 3, puderam ser interpretados.

Os **ensaios de descoloração dos corantes** (que consistem apenas na presença da suspensão vegetal + corante) apresentaram perdas visualmente perceptíveis de suas colorações tanto nos experimentos realizados com azul de metileno quanto os realizados com violeta genciana. Isto demonstra que tanto as polpas quanto as cascas e talos apresentam peroxidases capazes de degradar os corantes avaliados (Figura 9). Quanto aos controles, têm-se as seguintes observações: os **controles celulares** serviram para mostrar como eram esperadas encontrar as colorações dos **ensaios de descoloração dos corantes** após as 24 h de experimento. Ou seja, havendo total descoloramento do corante nos **ensaios de descoloração dos corantes**, deveria ser possível observar apenas as colorações das suspensões vegetais, representadas pelos **controles celulares**, fato que foi constatado para todas as amostras. Já os **controles de degradação dos corantes** mostram que após transcorridas 24 h, o mesmos mantiveram suas estruturas estáveis, sem perda de coloração evidente.

Segundo (SILVA et al., 2012), este descoloramento acontece porque, inicialmente, (I) o H_2O_2 (que é o cofator) reage com o sítio ativo da peroxidase, o que resulta na formação de H_2O e da substância I (que é um composto mais reativo que a enzima na sua forma original). Em seguida, (II) esta substância provoca a oxidação do corante, transformando-o num radical e na substância II. Finalmente, (III) esta substância II é reduzida por uma outra molécula de corante, que restaura a enzima à sua forma inicial. Os autores também ressaltam que, embora existam diversos estudos a respeito, o mecanismo e os produtos deste metabolismo nem sempre são conhecidos. De modo simplificado, ocorrem as seguintes etapas:

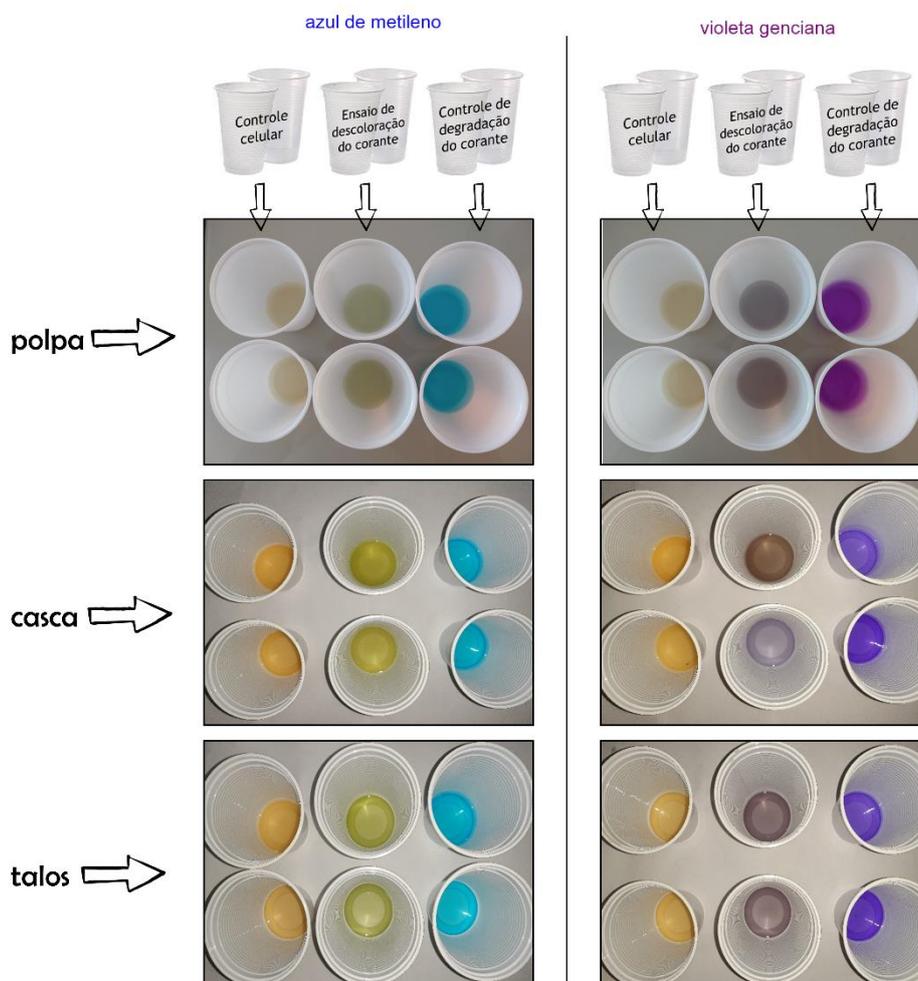
(I) Peroxidase + H₂O₂ → Substância I + H₂O

(II) Substância I + Corante → Substância II + Radical•

(III) Substância II + Corante → Peroxidase + Corante• + H₂O

Os radicais produzidos durante a cascata reacional seguem para outras etapas de degradação de corantes, por exemplo a de precipitação. Outro ponto interessante a ser observado é que, ao final do mecanismo proposto por M. C. Silva et al. (2012), tem-se a regeneração da peroxidase. Isto é esperado porque ela atua como catalisador da reação.

Figura 9 - Resultado dos ensaios de descoloração com a polpa, casca e talos frente aos corantes azul de metileno e violeta genciana após 24 h. Note que o controle do corante permaneceu inalterado e que houve perceptível mudança de coloração nos ensaios de descoloração



Fonte: Imagem experimental obtida pelos autores.

Vale ressaltar que o fato de a uva apresentar peroxidases (detectadas no teste do guaiacol) não significa dizer que ela terá este comportamento frente a todos os corantes conjugados. Um artigo escrito por Lima, Alceu e Gonçalves (2020) apresenta justamente esta tratativa, quando peroxidases



da batata doce são avaliadas frente a compostos azo-conjugados e àqueles que apresentam o grupo funcional sulfato em sua estrutura não são degradados.

E a Química Verde, como ela foi trabalhada?

Por se tratar de um experimento qualitativo, princípios como Prevenção, Economia de átomos, Design de produtos seguros, Evitar a formação de derivados, Produtos degradáveis e Análise em tempo real não tiveram como ser avaliados. Os outros 6 princípios, de modo simplificado ou não, puderam ser trabalhados e, portanto, direcionados ao ensino da Química Verde, como segue.

Quando se trata de Síntese segura, este princípio fala que as sínteses químicas devem ser projetadas para usar e gerar substâncias com pouca ou nenhuma toxicidade para os seres humanos e para o meio ambiente (EPA, 2022). Todos os experimentos foram realizados em meio aquoso e com pouquíssimas quantidades de reagentes (em todo o experimento, apenas 12 gotas de guaiacol, 8 gotas de solução de violeta genciana e 2 gotas de solução do azul de metileno foram utilizadas). Ainda, quanto a reação ocorrer em meio aquoso, temos respeitado mais um princípio, que trata do uso de Solventes e auxiliares mais seguros. Quando se trata da Eficiência energética, temos um experimento que ocorreu integralmente em temperatura ambiente, não havendo necessidade de fontes adicionais de energia. Com respeito à Fonte renovável de matéria prima e à Catálise, utilizamos um recurso natural renovável e abundante (a uva) como agente da transformação química que, através de suas enzimas peroxidases, realizaram a catálise enzimática responsável pelo descoramento dos corantes avaliados.

Deste modo, a proposta experimental apresentada mostra uma metodologia simples e eficiente sob o ponto de vista educativo e elucidativo da Química Verde no ensino médio através de uma Química segura para àqueles que a realizam. Deste modo, temos aqui trabalhados 6 dos 12 princípios norteadores da Química Verde.

Algumas Sugestões que Podem Ser Aplicadas com os Alunos

- **Sobre associar o escurecimento de vegetais à presença de peroxidases**

É possível o professor propor aos alunos uma atividade onde eles busquem por vegetais presentes em seus cotidianos onde eles observem escurecimento quando expostos à atmosfera. Artigos com batata doce (LIMA; ALCEU; GONÇALVES, 2020), nabo (SILVA et al., 2012) e maçã (VALDERRAMA; MARANGONI; CLEMENTE, 2001), por exemplo, trazem algumas opções de peroxidases já detectadas nestas matrizes. Estes vegetais podem ser submetidos ao teste do guaiacol e constatar (ou não) a presença de peroxidases. Em caso negativo para o teste do guaiacol, pode ser levantada a discussão de que o fato de um vegetal escurecer com facilidade não significa que ele necessariamente terá peroxidases. Isto enfatiza a importância do teste do guaiacol, que é um teste que, embora qualitativo, é confirmativo.



- **Todo vegetal que tem peroxidase consegue degradar corantes?**

Aqui, uma sugestão é avaliar as peroxidases da uva frente a outros corantes que estejam disponíveis em laboratório e, a partir dos resultados obtidos, gerar discussões em sala de aula com o conhecimento trabalhado (que pode englobar temas como seletividade enzimática e cinética química, por exemplo). Os trabalhos desenvolvidos por Lima, Alceu e Gonçalves (2020) e por Silva et al. (2012) apresentam situações onde ocorre a degradação de alguns corantes em detrimento de outros.

- **Trabalhar sempre os Princípios da Química Verde**

É importante que nos experimentos tente-se enxergar os 12 Princípios da Química Verde (Figura 1). Mesmo quando não são perceptíveis no experimento, é importante que o docente explique suas definições e apresente exemplos de como estes princípios podem ser encontrados.

Uma forma de abordar é como está descrito no item **E a Química Verde, como ela foi trabalhada?**

A percepção do bolsista

Além da construção de uma proposta experimental apta a trabalhar a Química Verde no ensino médio, este trabalho também teve seu papel formativo no auxílio à construção do pensamento crítico do bolsista envolvido no que tange ao seu entendimento sobre a Química Verde. Deste modo, apresentamos a percepção do bolsista Santos, L. C. S (na época, estudante do curso Técnico em Segurança do Trabalho do Instituto Federal da Bahia), com suas impressões sobre o trabalho desenvolvido:

A gente sabe que o nosso projeto sofreu alterações por conta da pandemia. Confesso que, no início, fiquei muito preocupado. Mas depois, com o decorrer das coisas acontecendo, com as adaptações que fizemos (de ser possível adaptar pra fazer quase 100% do experimento em casa e, ainda, me orientando à distância), achei incrível. Nunca tinha imaginado que a uva produzida na região do Vale do São Francisco teria essa capacidade de degradar os corantes. A polpa, a casca, os talos! Esses talos que a gente joga no lixo! Nunca poderia imaginar. E vi isso acontecer com meus próprios olhos. O experimento foi tão leve, tão fácil de fazer, que eu acho que foi o que deixou o trabalho mais interessante ainda, porque assim, tenho certeza, que ele pode ser passado para os alunos do ensino médio e ser compreendido por eles. Quando a gente fala sobre essa questão de biodegradabilidade, enfim, dos insumos né? É algo muito bom, *cara!* Entender como isso se aplica na Química Verde, entender que existem princípios norteadores que guiam os trabalhos das pessoas para fazer um trabalho mais limpo e ambientalmente mais correto. Este se tornou um dos melhores projetos que já fiz porque realmente percebi que aprendi com ele e percebi também



que a questão da Química Verde é algo muito maior. Enfim, a gente conseguiu fazer esses experimentos, conseguimos ver os resultados, que foram ótimos: que sim, a uva tem essa capacidade de degradar! Também podemos observar que temos um grande polo de produtos agrícolas na nossa região e temos muito o que explorar! Com certeza este trabalho continuará com outros alunos e com certeza pode ser aplicado no ensino médio, no superior e no ensino fundamental também, com as crianças, né? Um experimento que eles podem utilizar ali, na sala de aula e observar a química acontecer. Mas enfim: tudo isso foi incrível!

O relato acima transcrito demonstra a importância do desenvolvimento de atividades de pesquisa com os estudantes. Além de contribuir com a construção de uma visão crítica sobre a temática trabalhada, o bolsista foi oportunizado a vivenciar a Química Verde de tal maneira que ela pôde contribuir em sua formação como recursos humanos, haja visto que, na atualidade, compreender diferentes narrativas no contexto ambiental é um diferencial formativo.

Conclusões

O presente trabalho mostrou a construção de um experimento simples e de baixo custo capaz de trabalhar a Química Verde no ensino médio, com discussões valiosas e correlacionadas com diferentes áreas da química e da biologia. Para tanto, foram utilizadas peroxidases vegetais como agentes da transformação química. Presente em muitos vegetais onde, visualmente, consegue-se observar escurecimento quando expostos à atmosfera, estas enzimas são promissoras quanto a degradação de corantes, presentes em muitos rejeitos industriais. Com base nesta informação (aliada ao apelo de sua abundância na região), uvas verdes com sementes tiveram suas polpas, cascas e talos avaliados frente ao teste do guaiacol, confirmativo para a presença de peroxidases. Com todos os resultados positivos, experimentos realizados com os corantes azul de metileno e violeta genciana mostraram a potencialidade das peroxidases presentes em degradar os corantes. Os experimentos realizados respeitam pelo menos 6 dos 12 princípios da Química Verde, corroborando com uma discussão teórica sobre esta temática para dentro das salas de aula, o que contribui para a formação crítica dos estudantes que ali participam e para a disseminação da temática. Além disso, as sugestões acrescidas com diferentes formas de incrementar e possibilitar discussões dentro e fora da sala de aula concatenadas com os Princípios da Química Verde são ferramentas didáticas importantes para o professor. Por fim, o trabalho mostrou contribuir na formação crítica do bolsista sobre a temática aqui abordada, contribuindo, desta maneira, para a formação de recursos humanos via bolsas de iniciação científica.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - Ensino Médio do Instituto Federal da Bahia (através do Edital 02/2020/PRPGI - PIBIC-EM / IFBA/CNPq -



2020/2021) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica de Luis Carlos Silva Santos (Processo SEI nº 23845.001065/2020-98) e, em especial, aos Professores MSc. Priscila M. O. Santana e MSc. Fernando S. Paixão, do Instituto Federal da Bahia, pelo apoio e empenho na tramitação da bolsa.

Referências

ANASTAS, P. T.; KIRCHHOFF, M. M. Origins, Current Status, and Future Challenges of Green Chemistry. *Accounts of Chemical Research*, v. 35, n. 9, p. 686-694, 1 set. 2002.

ANASTAS, P. T.; WARNER, J. C. **Green Chemistry: Theory and Practice**. New York: Oxford University Press, 1998.

BETTELHEIM, F. A. et al. **Introdução à bioquímica**. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

CAMPOS, Â. D.; SILVEIRA, E. M. L. Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Comunicado Técnico**, n. 87, p. 1-3, 2003.

CFQ. **Perguntas e respostas água sanitária**. Disponível em: <https://cfq.org.br/wp-content/uploads/2020/05/2020-05-04_cartilha-perguntas-e-respostas-CFQ-V2-baixa-2.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2022.

EPA. **Basics of Green Chemistry**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/greenchemistry/basics-green-chemistry#definition>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry: A Textbook**. 7. th. Berlim: Springer, 2018.

FREITAS, A. A. et al. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008.

GCAND. **Twenty-Seventh Annual Green Chemistry & Engineering Conference**. Disponível em: <<https://www.gcande.org/>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, fev. 2000.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 16 nov. 2022.

JOULE, J. A.; MILLS, K. **Heterocyclic Chemistry**. 5. th. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2010.

LENARDÃO, E. J. et al. "Green chemistry" - os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.

LIMA, M. L. S. O.; ALCEU, P. S.; GONÇALVES, C. S. S. Investigação qualitativa da biodegradação de corantes têxteis do tipo azo utilizando células de batata doce (*Ipomoea batatas*) como fonte de biocatalisador. **Revista Sítio Novo**, v. 4, n. 2, p. 30-39, 2020.

MACHADO, A. **Introdução às métricas da química verde: uma visão sistêmica**. Florianópolis: EDITORA DA UFSC, 2014.

MARQUES, C. A. et al. A abordagem de questões ambientais: contribuições de formadores de professores de componentes curriculares da área de ensino de química. **Química Nova**, v. 36, n. 4, p. 600-606, 2013.



SANTOS, L. C. S.; LIMA, M. L. S. O.; VIEIRA, R. B. Uma abordagem experimental da Química Verde para o ensino médio a partir da biodegradação de corantes. *Revista Semiárido De Visu*, v. 12, n. 1, p. 462-481, mar. 2024. ISSN 2237-1966.

MARQUES, C. A.; MACHADO, A. A. S. C. An integrated vision of the green chemistry evolution along 25 years. *Foundations of Chemistry*, v. 23, n. 3, p. 299-328, 18 out. 2021.

SANDRI, M. C. M.; SANTIN FILHO, O. Os modelos de abordagem da química verde no ensino de química. *Educación Química*, v. 30, n. 4, p. 34-46, 11 out. 2019.

SILVA, F. M.; LACERDA, P. S. B.; JONES JUNIOR, J. Desenvolvimento sustentável e química verde. *Química Nova*, v. 28, n. 1, p. 103-110, fev. 2005.

SILVA, M. C. et al. Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*). *Química Nova*, v. 35, n. 5, p. 889-894, 2012.

SOARES, V. F. et al. Ação da catalase nos vegetais: aula prática de bioquímica para alunos do Programa Mais Educação. *Diversitas Journal*, v. 1, n. 1, p. 79-82, 1 jan. 2016.

SOUSA-AGUIAR, E. F. et al. Química verde: A evolução de um conceito. *Química Nova*, v. 37, n. 7, p. 1257-1261, 2014.

VALDERRAMA, P.; MARANGONI, F.; CLEMENTE, E. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus comunis*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 21, n. 3, p. 321-325, dez. 2001.

VELOSO, L. A. **Dossie Técnico - Corantes e Pigmentos**. Curitiba: Instituto de Tecnologia do Paraná - TECPAR, 2021.

ZUIN, V. G. et al. Desenvolvimento sustentável, química verde e educação ambiental: o que revelam as publicações da SBQ. *Revista Brasileira do Ensino de Química*, v. 10, n. 1, p. 79-90, 2015.