

ISSN 2238-9113

ÁREA TEMÁTICA:

- COMUNICAÇÃO
- CULTURA
- DIREITOS HUMANOS E JUSTIÇA
- EDUCAÇÃO
- MEIO AMBIENTE
- SAÚDE
- TRABALHO
- TECNOLOGIA

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE DA SALIVA – UMA AULA PRÁTICA DE BIOQUÍMICA

Talita Lara Dos Santos (talitalaras@hotmail.com)

Juliana Inaba (jinaba@uepg.br)

Adriano Gonçalves Viana (adrianogviana@gmail.com)

RESUMO – Aulas práticas desenvolvidas na disciplina de Bioquímica, com intuito de reforçar matérias teóricas previamente estudadas, permitem que o aluno visualize de maneira dinâmica os assuntos abordados, além de desenvolver um raciocínio que facilita a aprendizagem e auxilia na fixação do conteúdo. O presente trabalho foi realizado com intuito de se adaptar uma metodologia para verificar em aula prática da disciplina de Bioquímica, conceitos relacionados ao tema pH e tampões, avaliando a capacidade tamponante da saliva, utilizando uma técnica de titulação com ácido láctico $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Para tanto a curva de titulação da solução de saliva foi comparada com a curva de titulação de uma solução tampão pH 7,0 e uma amostra branco (água pura). Essa metodologia pode evidenciar a ação de um sistema tampão biológico, permitindo que o aluno correlacione a importância desse sistema no controle das atividades celulares, do metabolismo e especialmente da prevenção da cárie dental.

PALAVRAS-CHAVE – Bioquímica. Aula prática. Tampão.

Introdução

O emprego de aulas práticas desenvolvidas na disciplina de Bioquímica, com intuito de reforçar as matérias teóricas previamente estudadas em sala de aula, permite que o aluno visualize de maneira dinâmica os assuntos abordados, além de desenvolver um raciocínio que facilita a aprendizagem e auxilia na fixação do conteúdo. Desta forma, é importante o desenvolvimento de aulas práticas que correlacionem os assuntos e sejam de fácil execução com materiais disponíveis no laboratório.

Para a elaboração deste roteiro de aula prática, inicialmente é necessário fornecer uma fundamentação teórica sobre o tema central da aula: A saliva é um líquido presente na cavidade bucal secretada por glândulas salivares, representadas principalmente pelas glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais, em um volume que varia entre 800 a

1500 mililitros por dia. É uma secreção biológica composta de água, eletrólitos e proteínas estruturais, enzimáticas e imunológicas, dentre as quais em maior quantidade encontra-se a ptialina (enzima α -amilase responsável pela digestão inicial do amido) e a mucina (responsável por lubrificar e proteger as superfícies).

Essa secreção desempenha funções de umificação e lubrificação da mucosa oral, auxilia na formação e deglutição do bolo alimentar, promove uma limpeza mecânica na mucosa, atua na defesa contra microrganismos e ainda é responsável pela regulação do pH bucal, evitando lesões pelo excesso de ácidos ou bases. Apresenta essa característica devido a presença de tampões salivares, mucinato/mucina, fosfato ($\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}$) e bicarbonato ($\text{H}_2\text{CO}_3 / \text{HCO}_3^-$), que neutralizam o excesso de íons H^+ ou OH^- , mantendo o pH da saliva em torno de 6,9. O mecanismo de ação do tampão bicarbonato está representado na figura 1, é semelhante aos outros tampões.

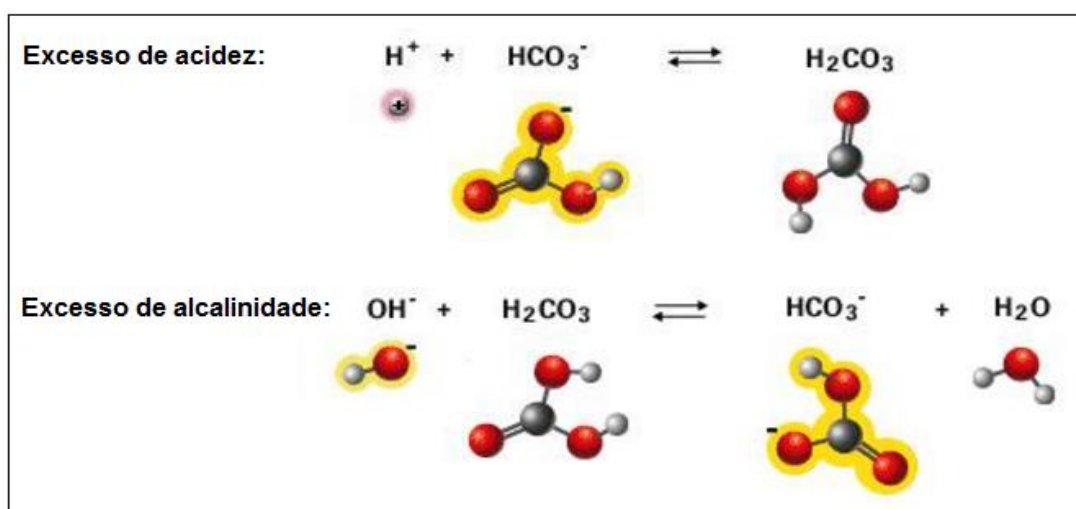


Figura 1 – Mecanismo de ação do tampão bicarbonato. Representação do mecanismo de ação do tampão bicarbonato quando exposto ao excesso de acidez ou alcalinidade. Fonte: UFF – equilíbrio ácido base.

Um sistema tampão é uma solução composta por um ácido fraco (o doador de prótons) e sua base conjugada (o receptor de prótons) que resiste a mudanças de pH quando se adicionam pequenas quantidades de ácido ou base ao meio. A capacidade tamponante máxima ocorre quando o pH for igual ao pK_a da solução (constante de dissociação ácida), servindo como tampão efetivo quando o pH estiver ± 1 unidade afastado do pK_a da solução (região de tamponamento).

O controle biológico do pH nas células e fluidos corporais através do sistema tampão é essencial para garantir as atividades celulares e do metabolismo. No meio bucal quando o

sistema tampão presente na saliva não é suficiente para neutralizar o excesso de ácidos locais, juntamente com outros fatores como dieta consumida e número de microrganismos cariogênicos presentes na mucosa bucal, podem ocasionar o desenvolvimento de cárie dental.

O processo de formação da cárie dental exige o contato entre microrganismos e um substrato glicídico na superfície do dente, que desencadeia a formação de uma placa dental bacteriana, onde ocorre os processos de fermentação (ex: fermentação láctica) por ação de enzimas glicolíticas destes microrganismo resultando em ácidos (ex: ácido láctico) que iniciam o processo de descalcificação do esmalte. Nesse caso, a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \cdot (\text{OH})_2$) estrutura responsável pela dureza do esmalte dentário, quando exposta em meio ácido fragmenta-se em unidades de ortofosfato de cálcio insolúvel e, posteriormente, em ortofosfato monoácido de cálcio solúvel (Figura 2), que sai do esmalte, enfraquecendo sua estrutura.

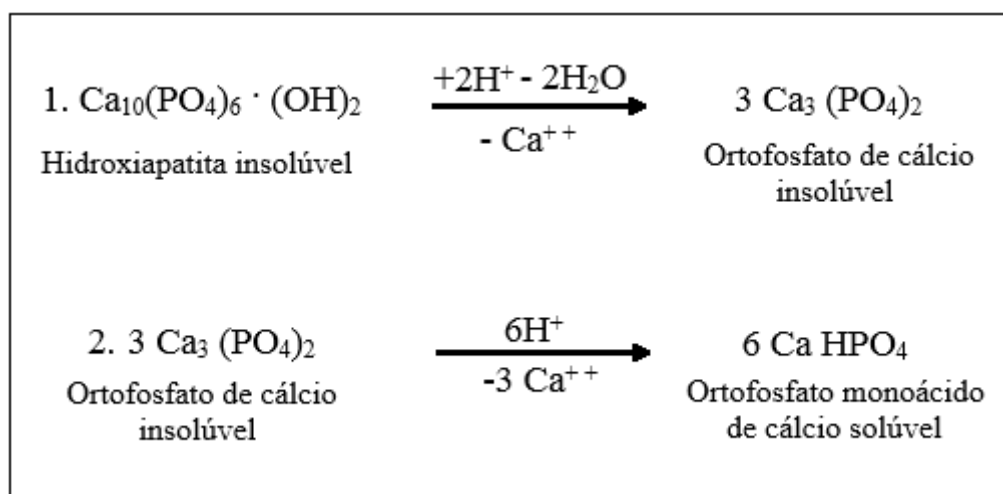


Figura 2: Reações da hidroxiapatita em meio ácido. Dissolução do esmalte dentário através das reações da hidroxiapatita em meio ácido formando composto solúvel. Fonte: ARANHA - pág 58.

Quando o processo de descalcificação ocorre, a estrutura do esmalte fica suscetível a invasão e instalação de microrganismos do meio bucal, que por sua vez originam vários outros ácidos que permitem a progressão da destruição da estrutura dentária, produzindo o processo da cárie. Desta forma, a capacidade tamponante da saliva é um importante fator de resistência à cárie dental, pois neutraliza os ácidos provenientes do metabolismo da placa bacteriana, um dos principais fatores que levam ao desenvolvimento da patologia.

Objetivos

O presente estudo teve como objetivo adaptar um roteiro classicamente utilizado em aulas práticas da disciplina de Bioquímica, com o intuito de desenvolver uma metodologia que permitisse aos alunos evidenciar a propriedade tamponante da saliva humana, com o intuito de relacionar o entendimento de pH e tampões ao processo de cariogênese dental.

Referencial teórico-metodológico

O roteiro elaborado e apresentado aqui foi inicialmente baseado em atividades clássicas disponíveis na literatura bioquímica, porém modificados de forma muito simples, visando avaliar a capacidade tamponante da saliva utilizando técnicas de titulação potenciométrica (acompanhamento da variação do pH da solução). Desta forma espera-se que os alunos ao desenvolverem os experimentos sejam capazes de relacionar o tema discutido em aula teórica com os processos observados no laboratório.

Como mencionado, a capacidade tampão da saliva foi avaliada por meio de titulação potenciométrica. O procedimento foi realizado utilizando 3 amostras distintas, com intuito de avaliar a variação de pH em um sistema tampão biológico (saliva humana) e em uma solução tampão produzida em laboratório, além da avaliação de um sistema não tamponado (água pura):

- *Solução de saliva*: constituída de 10 mL de saliva, diluída em 20 mL de água destilada e 5 gotas de indicador universal de pH.
- *Solução tampão pH 7,0*: constituída de 1,0 mL de solução tampão fosfato pH 7,0 diluída em 29,0 mL de água destilada e 5 gotas de indicador universal de pH.
- *Solução branco*: constituída de 30 mL de água destilada e 5 gotas de indicador universal de pH.

Estas soluções foram tituladas com uma solução de ácido láctico $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, o qual foi adicionado em alíquotas de 0,2 mL. Inicialmente e a cada adição de ácido láctico o pH da solução foi avaliado com auxílio de um medidor de pH de bancada, devidamente calibrado, sendo a titulação realizada até que o pH da solução em análise ficasse próximo de 3,0 (isto porque, neste valor dá-se início ao processo de dissolução da hidroxiapatita). Os resultados obtidos foram então utilizados para construção de um gráfico, que auxilia na visualização da região tamponante.

Para evidenciar o processo de mudança do pH aos alunos de forma mais ilustrativa, além da utilização do medidor de pH, empregou-se o indicador universal, que apresenta

diferentes colorações conforme ocorre a mudança de pH da solução, (verde em pH 7,0, amarelo em pH 5,0, vermelho em pH 3,0).

Resultados

Os resultados obtidos por essa metodologia estão representados no gráfico 1 que permite melhor visualização do perfil de mudança de pH das soluções em análise. Observando o gráfico é possível visualizar que a solução tampão fosfato pH 7,0 utilizada como padrão na análise, apresenta uma resistência a variação de pH, sendo que os primeiros pontos da curva de titulação demonstram a ação de neutralização dos íons H^+ provenientes da adição de ácido láctico $0,1\text{mol.L}^{-1}$ na solução, já que a variação de pH nestes pontos é pequena.

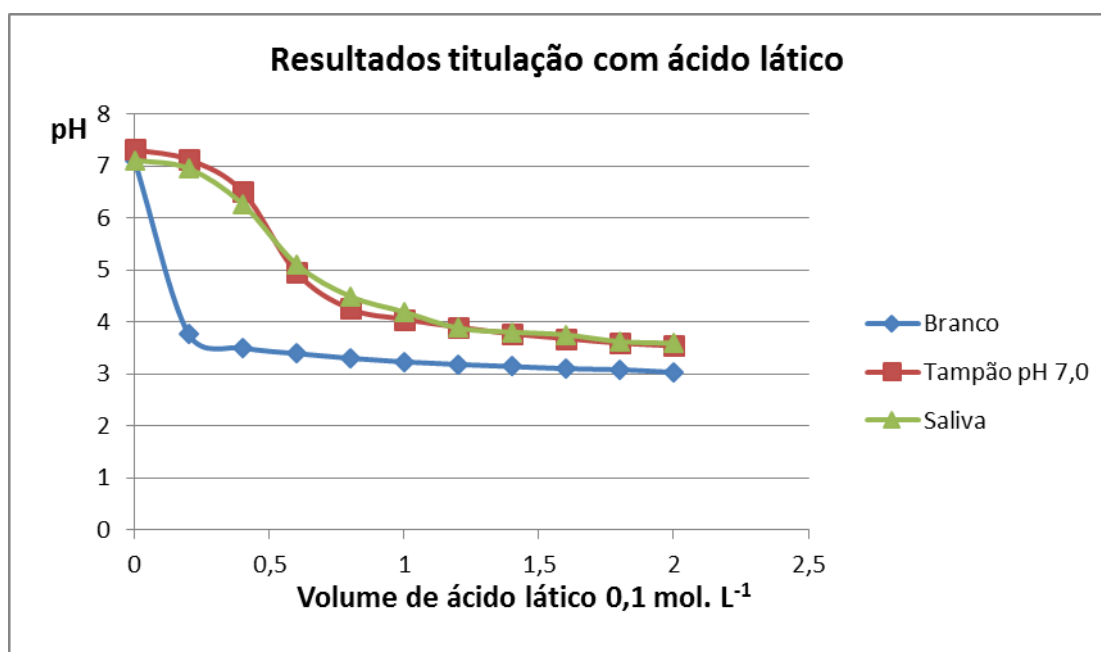


Gráfico 1 – Representação dos resultados das diferentes amostras submetidas a titulação com solução de ácido láctico $0,1\text{mol.L}^{-1}$

Ao analisar a solução de saliva é possível observar que houve uma semelhança com a curva apresentada pela solução tampão fosfato pH 7,0, mantendo o mesmo padrão de variação de pH. Desta forma fica evidente a presença de um sistema tampão existente na secreção biológica, que reduz a variação significativa de pH local, e assim reduz um dos principais fatores que desencadeiam o desenvolvimento do processo de cárie dental. É importante mencionar que a literatura relata que a saliva possui um pH equivalente a 6,8. Avaliando a solução branco observa-se que esta não possui nenhuma resistência a mudança de pH do meio, pois logo na primeira alíquota de ácido láctico $0,1\text{mol.L}^{-1}$ adicionado, o pH da solução

variou cerca de 3 unidades. Quando comparamos os resultados de ambas as soluções com a solução branco, foi possível visualizar de maneira dinâmica a importância de um sistema tampão frente a redução da variação abrupta de pH, principalmente nos sistemas biológicos, onde essa característica é essencial, pois o pH está envolvido em todos os aspectos das atividades celulares e do metabolismo do organismo, devendo ser mantido constante.

Considerações Finais

A metodologia de titulação proposta, ao ser realizada durante as aulas práticas de Bioquímica, pode permitir que o aluno visualize de maneira didática a ação de um sistema tampão proveniente de uma amostra biológica, e assim, correlacione a importância desse sistema no controle do metabolismo, das atividades celulares, prevenção de cáries e etc.

APOIO: Programa BEC – Programa de Apoio a Ações Afirmativas para Inclusão Social em Atividades de Extensão - Fundação Araucária.

Referências

- ARANHA, F. L. **Bioquímica odontológica**. Editora Sarvier, 2ª Ed. São Paulo, 2002.
- BENEDETTO, M. S. **Proposta de um método prático para avaliação do poder de neutralização existente na cavidade oral**. Faculdade de Odontologia. Universidade de São Paulo. 2002.
- BRETAS, L. P. et al. **Fluxo Salivar e Capacidade Tamponante da Saliva como Indicadores de Susceptibilidade à Doença Cárie**. Departamento de Bioquímica/ICB. Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora/MG. 2008. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/637/63711711005/>> Acesso em: 04 abril 2016.
- GUYTON, A.; HALL, J. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11ª ed. Elsevier, 2006.
- LEHNINGER, A; NELSON, DL & COX, MM. **Princípios de Bioquímica**. 5ª Ed. SP/SP, Editora Sarvier, 2011.
- Universidade Federal Fluminense. **Equilíbrio ácido base**. Disponível em: <<http://www.uff.br/WebQuest/pdf/acidobase.htm>> Acesso em: 04 abril 2016.