UNIVERSIDADE PRESBITERIANA MACKENZIE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

BRUNA PASCARELLI PEDRICO DO NASCIMENTO
CÍCERA PIMENTA MARCELINO
GABRIEL PAEZ DE CASTRO OLIVEIRA
LOREDANNA CAVALHEIRO AURORA
RENATA LOBATO CATARINACHO

RELATÓRIO DE AULAS PRÁTICAS DE BIOQUÍMICA I

SÃO PAULO
2009

BRUNA PASCARELLI PEDRICO DO NASCIMENTO
CÍCERA PIMENTA MARCELINO
GABRIEL PAEZ DE CASTRO OLIVEIRA
LOREDANNA CAVALHEIRO AURORA
RENATA LOBATO CATARINACHO

RELATÓRIO DE AULAS PRÁTICAS DE BIOQUÍMICA I

Trabalho apresentado à disciplina de Bioquímica I, do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Presbiteriana Mackenzie.
Profa. Dra. Daniela de Oliveira Toyama

SÃO PAULO
2009

1. INTRODUÇÃO

Dentre as diversas moléculas constituintes de uma célula, sabe-se que a água é seu componente de maior importância e o mais abundante, sendo que esta representa cerca de 70% da constituição da maioria dos organismos e participa basicamente de todas as reações químicas das células. É sabido que a água é uma molécula assimétrica e que sua importância está em sua natureza dipolar, onde temos sua tendência a se combinar com íons negativos e positivos maior que a tendência desses íons se combinarem entre si. A presença de carga parcial positiva em seus átomos de hidrogênio e de carga parcial negativa no átomo de oxigênio, o qual possui dois pares de elétrons não-compartilhados, permite que a água se associe com outras quatro moléculas através de pontes de hidrogênio. Graças a capacidade que a água tem de formar pontes de hidrogênio ela possui propriedades únicas como altos pontos de fusão e ebulição, alto calor específico e elevado calor de vaporização.

O que determina as propriedades solventes da água, em grande parte, é a sua natureza polar. Compostos iônicos com cargas inteiras e compostos polares com cargas parciais tendem a dissolver-se em água, pois estes conseguem interagir com a água através das pontes de hidrogênio, fato que não é observado quando se trata de compostos apolares, que não se dissolvem em água, pois não conseguem interagir com esta por pontes de hidrogênio e na presença destes compostos há um ordenamento energeticamente desfavorável das moléculas de água em sua superfície. As substâncias que tendem a dissolver-se em água são chamadas hidrofílicas e as substâncias que não se dissolvem em água são chamadas hidrofóbicas. Em uma mesma molécula é possível a presença de porções tanto polares (hidrofílicas) quando apolares (hidrofóbicas), nessa situação a molécula é chamada anfipática.

É graças a esta função fundamental da água como solvente que ela desempenha um papel fundamental nos processos biológicos devido as suas propriedades ácido-básicas. Por definição, ácidos são substâncias com capacidade de ceder/doar prótons em uma reação e bases são substâncias com capacidade de receber prótons em uma reação. Existe um valor numérico conhecido como constante de dissociação ou Ka, que indica a quantidade de íons hidrogênio que um ácido libera,

quando dissolvida certa quantidade desse ácido em água, portanto a partir desse valor é expressa a força do ácido. É conhecida ainda, uma outra constante que determina a tendência que a água tem de dissociar-se e formar os íons hidrogênio e hidróxido, essa constante é chamada de Kw ou constante do produto iônico da água. Graças a esta definição, na água pura a concentração de íons hidrogênio é igual à concentração dos íons hidroxila, portanto é dito que a solução está em um pH neutro. O pH é a medida da concentração de íons hidrogênio em uma solução, sendo que esta medida pode ser obtida em valores aproximados, com a utilização de corantes indicadores, e em valores precisos com a utilização de um pHmetro.

Existe uma equação, conhecida como equação de Herdenson-Hasselbalch, que relaciona o pH com o Ka e com as concentrações de ácido e base conjugados. Esta é a equação de dissolução de um ácido fraco, que é utilizada para adiantar as propriedades de um tipo de solução que é utilizada para manter o pH de misturas de reação. Esse tipo de solução é conhecido como solução-tampão, que é constituída pela a mistura de ácidos fracos à suas bases conjugadas. Como citado anteriormente, uma solução-tampão é capaz de impedir mudanças drásticas/acentuadas de pH diante da adição de pequenas quantidades de ácido ou de base fortes.

Existem certos fatores que determinam a eficiência de um tampão, sendo que esta é restrita a uma faixa de pH na qual as concentrações de ácido e base conjugada são capazes de compensar adições de ácido e base fortes. A partir da equação de Herderson-Hasselbalch observa-se, que quando há quantidades iguais nas concentrações de ácido e base conjugados o pH dessa solução é igual ao valor do pKa do ácido fraco, sendo que a melhor a atuação de um tampão se dá nessas condições. Portanto, a zona de maior eficiência de um tampão é aquela na qual existem, simultaneamente, 50% de ácido conjugado e 50% de base conjugada. Essa região de maior eficiência pode ser determinada a partir de uma curva de titulação, que é representada a partir de um gráfico de pH x os valores equivalentes de base adicionados durante a titulação de um ácido qualquer. De modo que, a eficiência de um tampão se encontra relacionada com a sua concentração.

A existência de um sistema-tampão se faz necessária pelo fato de que muitas reações biológicas são extremamente sensíveis a variações de pH, e estas não

ocorrem se este estiver um pouco fora de seu valor ótimo. Além disso, a estrutura e a atividade de macromoléculas biológicas importantes, como por exemplo as proteínas, são alteradas havendo perda de suas atividades em extremos de pH.

Os aminoácidos são compostos orgânicos constituídos por nitrogênio, oxigênio, hidrogênio e carbono (podendo haver enxofre). Em um aminoácido pode–se evidenciar um grupamento amina (NH_2), um grupamento carboxila (COOH), o carbono alfa, o hidrogênio e o grupo R, chamado radical, que caracteriza os aminoácidos, ou seja, determina suas propriedades e os classifica. A classificação dos aminoácidos dá–se principalmente pela sua polaridade/apolaridade e sua interação com a água hidrofilía/hidrofobia, formando assim duas classes principais de aminoácidos: os apolares (hidrofóbicos) e os polares (hidrofílicos).

Os aminoácidos formam as proteínas a partir das ligações peptídicas que ocorrem entre o grupamento amina de um aminoácido e o grupamento carboxila de um outro aminoácido, havendo nesta ligação a perda de uma molécula de água. As proteínas são polímeros de alfa-aminoácidos de forma L, podendo ter uma ou mais cadeias polipeptídicas. Uma boa parte das proteínas são sintetizadas no citosol da célula pela tradução de RNA, tendo importante função estrutural, informacional e funcional para os organismos. Essas macromoléculas são extremamente sensíveis a mudanças de pH, altas temperaturas, compostos que formam pontes de hidrogênio e soluções polares, sendo que sob essas condições as proteínas podem sofrer mudanças em sua conformação, ocasionando a perda de funções.

Uma maneira prática de separar aminoácidos é a cromatografia em papel ascendente, este método consiste na separação dos componentes de uma mistura, tendo por base a distribuição destes em duas fases, uma estacionária e outra móvel, que estão em contato, dessa forma pode-se classificar os aminoácidos de acordo com suas propriedades.

Há formas experimentais para se caracterizar aminoácidos. A interação destes com algumas substâncias adicionadas podem causar mudanças muito particulares, evidenciando assim, algumas de suas propriedades a partir da coloração assumida. A reação de Millon, evidencia a presença de tirosina, a reação de Hopkins-Cole , o triptofano; na reação de Sakagushi, a arginina e na reação de ninidrina são

evidenciados os compostos com grupos amino livres, portanto esse tipo de reação é muito importante para análise qualitativa de aminoácidos e proteínas.

As proteínas podem ser caracterizadas a partir de algumas de suas propriedades, como por exemplo, a carga elétrica, a solubilidade, massa molar ou por coloração e precipitação, que pode ocorrer por sais neutros, em que há a solubilização por salificação (salting in) ou a precipitação por salificação (salting out). Há também a precipitação por sais de metais pesados ou por ácidos fortes; essas duas formas relacionam o pH e o PI dos compostos formados a partir da adição de alguma substância à amostra de proteína, no caso, soluções que contenham íons positivos de metais (Hg^{++}; Pb^{++}; Fe^{++}, entre outros) e soluções de ácidos fortes. Um exemplo de determinação quantitativa das proteínas pode ser o teste do biureto, em que é possível obter absorbância de um composto desconhecido a partir de sua coloração e assim, determinar a sua concentração.

A partir do estudo e da realização das experiências a seguir descritas pôde–se reconhecer as propriedades e características de aminoácidos e proteínas, além da influência que alterações físicas e químicas no meio podem causar a esses compostos orgânicos de tão importante função biológica.

BIBLIOGRAFIA

CAMPBELL, M. K. *Bioquímica*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2000.

MARZZOCO, A. & TORRES, B. B. *Bioquímica Básica*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

NELSON, D. L. & COX, M. M. *Lehninger Princípios de Bioquímica*. 4.ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

SARDELLA, A & MATEUS, E. *Curso de Química:* Química Geral. 21.ed. São Paulo: Editora Ática, 1995

2. MATERIAL E MÉTODOS

TAMPÕES E pH

2.1 - EXPERIMENTO 1 - FUNCIONAMENTO DOS TAMPÕES

Inicialmente deveria ser construída uma escala padrão de pH. Para a construção desta escala foram necessários 7 tubos de ensaio, numerados de 4 a 10, nos quais foram adicionados 2 mL de solução tampão com pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 em seus respectivos tubos. Deveriam ter sido adicionadas 3 gotas de indicador universal em cada um dos tubos, contudo, foram adicionadas cerca de 6 gotas do mesmo em cada um dos tubos para que estes adquirissem uma coloração mais intensa. Após a adição do indicador universal os tubos foram agitados para a homogeneização e colocados em uma estante. A coloração de cada um dos tubos foi observada e correlacionada com o valor de pH.

Após a construção da escala padrão de pH, foram necessários mais 4 tubos de ensaio, que foram numerados de 1 a 4. Foram adicionados 2 mL de água destilada nos tubos 1 e 3. Já nos tubos 2 e 4 foram adicionados 2 mL de solução tampão fosfato 0,2M pH 7,7. Foram adicionadas 3 gotas de indicador universal nos 4 tubos. Após a adição do indicador, os tubos foram agitados para a homogeneização das soluções e foi anotado o valor de pH de cada um dos tubos. Após a medição do pH, foram adicionadas 3 gotas de solução ácida (HCL 0,1M) nos tubos 3 e 4, e 3 gotas de solução básica (NaOH 0,1 M) nos tubos 1 e 2. Após a adição de ambas as soluções os tubos foram agitados e foi anotado o valor do pH de cada um deles.

2.2 – EXPERIMENTO 2 – CAPACIDADE DE TAMPONAMENTO DA SALIVA

Em um copo descartável foi coletada a saliva de um integrante do grupo. Após a coleta, a ponta de uma tira de papel indicador de pH foi mergulhada na saliva, para a medição de seu pH. Logo em seguida, foram ingeridos quatro goles de suco de limão, e o procedimento inicial de coleta de saliva e medição do pH foi repetido. Passados 20

minutos, a saliva foi novamente coletada e da mesma maneira que nos procedimentos anteriores teve seu pH medido.

2.3 - EXPERIMENTO 3 - FORÇA IÔNICA DOS TAMPÕES

Para a realização deste experimento foram necessários dois tubos de ensaio que foram numerados em 1 e 2. No tubo 1, foram colocados 10,0 mL de solução tampão fosfato 0,2 M, ph 7,7 e 7 gotas de indicador universal. No tubo 2, foram colocados 2,5 mL da mesma solução tampão, 7,5 mL de água destilada e 7 gotas de indicador universal. O pH de ambos os tubos foi medido com o auxílio do pHmetro e anotado.

Os tubos deste experimento não foram descartados, pois foram necessários para a realização do experimento 4.

2.4 - EXPERIMENTO 4 - CAPACIDADE TAMPONANTE COM PROPORÇÕES SAL/ÁCIDO CONSTANTES

Para a realização deste experimento, foram necessárias as soluções do experimento anterior, portanto, foram utilizados os mesmos dois tubos de ensaio. Em ambos os tubos foi adicionado 1,0 mL de solução Ácido sulfúrico e foi realizada a medição do pH com o auxílio do pHmetro. O mesmo procedimento foi realizado mais duas vezes, lembrando que em todas elas os resultados da medição do pH foi registrado.

2.5 – EXPERIMENTO 5 – CAPACIDADE TAMPONANTE COM PROPORÇÕES SAL/ÁCIDO VARIÁVEIS

Para a realização deste experimento foram necessários 4 tubos de ensaio, que foram numerados de 1 a 4. No tubo 1 foram adicionados 3,5 mL de solução de Acetato de sódio (CH_3COONa 0,1M) e 3,5 mL de solução de Ácido acético (CH_3COOH 0,1M). No tubo 2 foram adicionados 5,0 mL de solução de Acetato de sódio (CH_3COONa 0,1M) e 2,0 mL de solução de Ácido acético (CH_3COOH 0,1M). No tubo 3 foram

adicionados 6,0 mL de solução de Acetato de sódio (CH3COONa 0,1M) e 1,0 mL de solução de Ácido acético (CH3COOH 0,1M). No tubo 4 foram adicionados 6,5 mL de solução de Acetato de sódio (CH3COONa 0,1M) e 0,5 mL de solução de Ácido acético (CH3COOH 0,1M).

Após a adição das soluções, todos os tubos foram agitados para a homogeneização da solução e, com o auxílio do pHmetro, foi verificado o pH de cada um dos tubos de ensaio.

A partir da equação de Henderson-Hasselbalch foi calculado o pH teórico de cada um dos 4 tubos. Deveria ser indicado o tubo que apresentasse o maior poder de tamponamento com justificativa. Para que fosse testada a indicação do tubo com maior poder de tamponamento, o conteúdo de cada um dos 4 tubos foi dividido pela metade, sendo necessários mais 4 tubos de ensaio, totalizando 8 tubos de ensaio nesta etapa do experimento, sendo estes identificados com 1A e 1B, 2A e 2B, 3A e 3B, 4A e 4B.

Nos tubos 1A, 2A, 3A e 4A foi adicionado 1,0 mL de solução de Ácido Clorídrico (HCL 0,1M). Já nos tubos 1B, 2B, 3B e 4B foi adicionado 1,0 mL de solução de Hidróxido de Sódio (NaOH 0,1M). Após a adição das soluções, todos os tubos foram agitados para a homogeneização da solução e, com o auxílio do pHmetro, foi verificado o pH de cada um deles.

SEPARAÇÃO DE AMINOÁCIDOS: CROMATOGRAFIA DE PAPEL ASCENDENTE

2.6 – EXPERIMENTO 1 - CROMATOGRAFIA DE PAPEL ASCENDENTE

Utilizando papel cromatográfico (Whatman nº1), foram realizados cortes na direção e orientação das fibras de celulose, afim e formar três tiras de papel de aproximadamente 17,0 cm de comprimento e 2,0 cm de largura. Após isso, foi traçada uma linha a 2,0 cm da ponta inferior de cada tira de papel, essa linha foi denominada Linha de Base. Na primeira tira de papel cromatográfico, aplicou - se uma gota da

solução de glicina (0,1 M), na segunda, uma gota da solução de leucina (0,1M) e na terceira tira uma gota de cada uma das soluções (glicina e leucina).

Adicionou-se 20 mL de solvente (butanol, ácido acético e água) em três tubos calibrosos, estes foram fechados com rolha (para ocorrer a saturação com a atmosfera) e presos com garras de metal à um suporte para facilitar o experimento. Cada tira de papel cromatográfico, já seca ao ar, foi colocada em cada um dos tubos, presas pela rolha, de forma que apenas a ponta inferior do papel entrasse em contato com o solvente. Após 40 minutos de espera, as tiras foram retiradas e, novamente, secas ao ar, com o uso de um lápis comum a Linha de Frente (parte do papel cromatográfico em que cessou a subida do solvente) foi traçada e a Ninidrina (0,1%) pulverizada sobre cada uma das tiras.

Para auxiliar na secagem, as tiras de papel cromatográfico foram colocadas em uma estufa a 60°C permanecendo sob essas condições por aproximadamente 15 minutos. Realizada a secagem, verificou - se as manchas que se formaram e localizou - se o centro destas (parte em que apresentam - se mais concentradas).Finalizando o experimento, calculou - se a Relação com a Frente, que dá - se pela fórmula Rf = d/D, onde Rf (Relação com a Frente), d é a distância percorrida pela mancha e D a distância percorrida pelo solvente. Os dados obtidos foram anotados para a conclusão do experimento. Observação: Todo o experimento foi realizado com o uso de luvas, não deve haver contato direto com o papel cromatográfico, pois a qualidade do experimento seria comprometida já que o papel é usado para evidenciar aminoácidos.

REAÇÕES DE CARACTERIZAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS

2.7 – EXPERIMENTO 1 – EXISTÊNCIA DE AMINOÁCIDOS SULFORADOS

Em dois tubos de ensaio, foram colocados 1,0 mL de solução de proteína (Albumina) 10 mg/mL e 1,0 mL de água destilada, respectivamente. Em seguida, foi adicionado lentamente 1 mL de NaOH 6M em ambos os tubos. Então, os dois tubos foram aquecidos em chama direta do bico de Bunsen com o auxílio de pinças de

madeira. Após o aquecimento, foram adicionadas 3 gotas de Ácido acético concentrado e 3 gotas de Acetato de chumbo 10% em cada um dos tubos. Realizado todo esse procedimento, as reações foram observadas e os resultados foram anotados.

2.8 – EXPERIMENTO 2 – REAÇÃO DE MILLON

Em dois tubos de ensaio, identificados como 1 e 2, foram adicionados 2 mL de solução de proteína 10 mg/mL e 2 mL de água destilada, respectivamente. Logo em seguida, foi acrescentado 1 mL do reativo de Millon em ambos os tubos. Então, os tubos foram aquecidos em chama direta do bico de Bunsen, por cerca de 30 segundos, com o auxílio de pinças de madeira. As reações foram observadas e seus resultados foram anotados.

2.9 – EXPERIMENTO 3 – REAÇÃO DE HOPKINS-COLE

Em dois tubos de ensaio, foram colocados 1 mL de solução de proteína 10 mg/mL e 1 mL de água destilada, respectivamente. Em seguida, foram adicionados 3 mL do reativo de Hopkins-Cole em ambos os tubos. Então, com os tubos inclinados, foram adicionados lentamente 2 mL de Ácido sulfúrico concentrado pelas paredes de cada um dos tubos. Passados alguns minutos, observou-se as reações e os resultados foram anotados.

2.10 – EXPERIMENTO 4 – REAÇÃO DE SAKAGUSHI

Em dois tubos de ensaio, identificados como 1 e 2, foram adicionados 1,0 mL de solução de proteína 10 mg/mL, no tubo 1, e 1,0 mL de água destilada, no tubo 2. Em seguida foram adicionados, em ambos os tubos, 1,0 mL de NaOH 2,5M, 0,5 mL de α-naftol (0,4% em etanol) e 1,0 mL de Hipoclorito de sódio (6-7%). Observadas as reações os resultados foram anotados.

2.11 – EXPERIMENTO 5 – REAÇÃO DA NINIDRINA

Em dois tubos de ensaio (numerados 1 e 2) foram colocados 1 mL da solução de proteína (albumina) 10mg/mL e 1mL de água destilada, respectivamente. Após isso acrescentou - se aos tubos 3 mL da solução de Ninidrina 0,1% (em tampão fosfato pH 7,0). Os tubos foram fervidos por aproximadamente 2 minutos em banho – maria. Os resultados obtidos foram interpretados e anotados.

2.12 – EXPERIMENTO 6 – PRECIPITAÇÃO POR SAIS NEUTROS

Em um primeiro momento, foram colocados 2 mL de solução protéica 10 mg/mL em um tubo de ensaio e logo em seguida foram adicionados lentamente pela parede do tubo 2 mL de solução saturada de cloreto de magnésio (MgCl2), observou-se a reação e o resultado foi anotado. Após esse primeiro procedimento a solução foi misturada e o resultado foi novamente anotado. Em um segundo momento foram adicionados 2 mL de água destilada à solução, que foi misturada e teve seus resultados anotados.

2.13 – EXPERIMENTO 7 – PRECIPITAÇÃO POR SAIS DE METAIS PESADOS

Em um tubo de ensaio foi colocado 1mL da solução de proteína (albumina) 10mg/mL, à este tubo adicionou-se 0,5 mL da solução de cloreto férrico (FeCl3) 40%. As modificações apresentadas foram observadas e, para finalizar o experimento adicionou-se à solução 5 mL de água destilada, novamente o ocorrido foi observado, interpretado e anotado.

2.14 – EXPERIMENTO 8 – PRECIPITAÇÃO POR ÁCIDOS FORTES

Em um tubo de ensaio foi colocado 1,0 mL de solução protéica 10 mg/mL. A essa solução, foi adicionado 0,5 mL de ácido pícrico 10%. A reação foi observada e o resultado foi anotado. Após o registro do resultado foram adicionados 5 mL de água

destilada à solução, novamente a reação foi observada e seus resultados foram registrados.

DETERMINAÇÃO FOTOCOLORIMÉTRICA DE PROTEÍNAS

2.15 – EXPERIMENTO 1 – TESTE DE BIURETO

Inicialmente, **6** tubos de ensaio foram numerados do seguinte modo: B (branco), 1, 2, 3, 4 e A. No tubo B, foram colocados 2 mL de água destilada e 5,0 mL do reativo de Biureto. No tubo 1, foram colocados 1,5 mL de água destilada, 0,5 mL de solução padrão de proteína (Albumina) 5 mg/mL e 5,0 mL do reativo de Biureto. No tubo 2, foram colocados 1,0 mL de água destilada, 1,0 mL de solução padrão de proteína (Albumina) 5 mg/mL e 5,0 mL do reativo de Biureto. No tubo 3, foram colocados 0,5 mL de água destilada, 1,5 mL de solução padrão de proteína (Albumina) 5 mg/mL e 5,0 mL do reativo de Biureto. No tubo 4, foram colocados 2,0 mL de solução padrão de proteína (Albumina) 5 mg/mL e 5,0 mL do reativo de Biureto. E, finalmente, no tubo A, foram colocados 2,0 mL de solução desconhecida e 5,0 mL do reativo de Biureto. Após a distribuição dos reagentes, todos os tubos foram incubados em banho-maria em temperatura entre 20-32ºC durante 10 minutos. Em seguida, foram medidos os valores de Absorbância em 545 nm contra o tubo B (branco) e os valores obtidos foram registrados. Por último, foi utilizada a fórmula $\sum C/\sum A=F$, para encontrar o fator (F). E a partir desse fator foi calculada a concentração da amostra desconhecida, utilizando-se a fórmula FxA (Absorbância), sendo a concentração dessa amostra expressa em mg/mL.

3. RESULTADOS

TAMPÕES E pH

3.1 - EXPERIMENTO 1 – FUNCIONAMENTO DOS TAMPÕES

Ao se relacionar os resultados obtidos com a construção da escala padrão de pH com as informações da tabela presente na apostila, foi observado que no tubo em que foi colocada a solução tampão de pH 4 a solução apresentou coloração vermelha; no tubo em que foi colocada a solução tampão de pH 5 a solução apresentou coloração alaranjada; no tubo em que foi colocada a solução tampão de pH 6 a solução apresentou coloração amarela; no tubo em que foi colocada a solução tampão de pH 7 a solução apresentou coloração verde; no tubo em que foi colocada a solução tampão de pH 8 a solução apresentou coloração azul; no tubo em que foi colocada a solução tampão de pH 9 a solução apresentou coloração anil e no tubo em que foi colocada a solução tampão de pH 10 a solução apresentou coloração violeta.

Ao se medir o pH dos tubos de ensaio 1 e 3, nos quais foram adicionados água destilada e indicador universal, verificou-se um pH igual a 7, o qual é considerado neutro. Ao se medir o pH dos tubos de ensaio 2 e 4, nos quais foram adicionados solução tampão e indicador universal, verificou-se um pH igual a 8.

Após a adição da solução básica nos tubos 1 e 2, a medição do pH indicou, no tubo 1, um pH igual a 10. Já no tubo 2, a mesma medição indicou um pH igual a 7. E após a adição da solução ácida nos tubos 3 e 4, a medição do pH indicou, no tubo 3, um pH entre 4 e 5, e no tubo 4, a mesma medição indicou um pH entre 6 e 7.

3.2 – EXPERIMENTO 2 – CAPACIDADE DE TAMPONAMENTO DA SALIVA

Na primeira medição, o pH ficou em torno de 8. Após o suco de limão ter sido ingerido, o valor do pH mudou para 5. Já na terceira medição, o pH retornou ao seu valor inicial, indicando novamente um pH igual a 8.

3.3 - EXPERIMENTO 3 - FORÇA IÔNICA DOS TAMPÕES

No tubo 1, com o auxílio do pHmetro, chegou-se a um valor de pH igual a 8,30, sendo que a coloração da solução neste tubo era azulada. Já no tubo 2, ao se adicionar água destilada a solução tampão, o pHmetro indicou praticamente o mesmo valor de pH, sendo este igual a 8,25.

3.4 - EXPERIMENTO 4 - CAPACIDADE TAMPONANTE COM PROPORÇÕES SAL/ÁCIDO CONSTANTES

No tubo 1, com as adições graduais da solução de Ácido sulfúrico, o pH foi diminuindo levemente, obtendo-se um valor de 7,79 na primeira medição, 7,17 na segunda medição e 6,59 na terceira medição, sendo que a solução foi ganhando uma coloração amarelo-esverdeada. Já no tubo 2, com as mesmas adições graduais da solução de Ácido sulfúrico, o pH foi diminuindo bruscamente, obtendo-se um valor de 6,87 na primeira medição, 4,61 na segunda medição e 1,70 na terceira medição, sendo que a solução foi ganhando uma coloração avermelhada.

3.5 – EXPERIMENTO 5 – CAPACIDADE TAMPONANTE COM PROPORÇÕES SAL/ÁCIDO VARIÁVEIS

Com o auxílio do pHmetro foram verificados no tubo 1 um pH igual a 4,56, no tubo 2 um pH igual a 4,95, no tubo 3 um pH igual a 5,40 e no tubo 4 um pH igual a 5,39.

A partir da equação de Henderson-Hasselbalch foi calculado o pH teórico de cada um dos 4 tubos. Obtendo-se um valor de 4,76 para o tubo 1; 5,76 para o tubo 2; 5,54 para o tubo 3 e 5,87 para o tubo 4.

Após a adição de Ácido clorídrico o tubo 1A indicava um pH de 3,85, o tubo 2A um pH de 4,54, o tubo 3A um pH de 4,47 e o tubo 4A um pH de 4,93. Já nos tubos 1B,

2B, 3B e 4B após a adição de Hidróxido de sódio foram verificados valores de pH 5,74 no tubo 1B, 13,21 no tubo 2B, 12,91 no tubo 3B e 13,48 no tubo 4B.

SEPARAÇÃO DE AMINOÁCIDOS: CROMATOGRAFIA DE PAPEL ASCENDENTE

3.6 – EXPERIMENTO 1 – CROMATOGRAFIA DE PAPEL ASCENDENTE

Na tira de papel cromatográfico em que foi aplicada Glicina houve a formação de pequenas manchas de coloração lilás, a distância percorrida pelo solvente foi de 5,5 cm e a distância percorrida pela mancha foi de 0,5 cm, através da fórmula obteve – se Rf = 0,5/5,5 – e, portanto a Relação com a Frente foi de 0,09 cm. Na tira em que foi aplicada Leucina houve a formação de uma grande mancha lilás, a distância percorrida pelo solvente foi de 8,0 cm e a distância percorrida pela mancha foi de 2,0 cm, pela fórmula obteve – se Rf = 2,0/8,0 – e, portanto a Relação com a Frente foi de 0,25 cm. Na tira de papel em que foram aplicadas as duas soluções (Glicina e Leucina), houve a formação de uma mancha lilás clara e não contínua, a distância percorrida pelo solvente neste caso foi de 6,0 cm e a parte percorrida pela mancha foi de aproximadamente 1,0 cm, obtendo – se através dos cálculos Rf = 1,0/6,0 –

Relação com a Frente igual a 0,16 cm.

REAÇÕES DE CARACTERIZAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS

3.7 – EXPERIMENTO 1 – EXISTÊNCIA DE AMINOÁCIDOS SULFORADOS

Realizados todos os procedimentos no tubo 1, observou-se uma mudança na coloração da substância, que passou de amarelo para um tom castanho escuro. Já no tubo 2, após a realização de todos os procedimentos, nenhuma mudança foi observada, a coloração da substância permaneceu incolor assim como no início.

3.8 – EXPERIMENTO 2 – REAÇÃO DE MILLON

No tubo 1, no qual havia a solução protéica, após o aquecimento foi observada uma coloração alaranjada/salmão. Já no tubo 2, no qual havia água destilada, mesmo após o aquecimento a solução manteve-se incolor.

3.9 – EXPERIMENTO 3 – REAÇÃO DE HOPKINS-COLE

Observou-se, no tubo 1, a formação de bolhas e uma mudança na coloração da substância, que passou para um tom violeta com uma formação de anel. Já no tubo 2, não foi observada a formação de anel e a substância apresentava uma coloração amarela.

3.10 – EXPERIMENTO 4 – REAÇÃO DE SAKAGUSHI

No tubo 1, no qual havia a solução protéica, após a adição dos reagentes foi notada uma mudança na coloração da substância para um tom avermelhado. Já no tubo 2, no qual havia água destilada, observou-se uma coloração mais amarelada.

3.11 – EXPERIMENTO 5 – REAÇÃO DA NINIDRINA

No tubo 1, em que foi adicionado Ninidrina à proteína e levado à fervura, a coloração da solução tornou-se violeta/roxo. No tubo 2, em que a Ninidrina foi adicionada à água destilada a coloração tornou-se amarelada.

3.12 – EXPERIMENTO 6 – PRECIPITAÇÃO POR SAIS NEUTROS

Observou-se que após a adição do Cloreto de magnésio (MgCl2), houve precipitação de proteína, que se apresentou na forma de pequenos filamentos esbranquiçados, sendo que a solução tinha aspecto gelatinoso. Com a adição de água observou-se o desaparecimento dos filamentos.

3.13 – EXPERIMENTO 7 – PRECIPITAÇÃO POR SAIS DE METAIS PESADOS

Após adicionar-se a solução de $FeCl_3$ 40% à proteína, houve formação de precipitado, mas ao adicionar água destilada à solução, houve a dissolução do precipitado formado.

3.14 – EXPERIMENTO 8 – PRECIPITAÇÃO POR ÁCIDOS FORTES

A mistura da solução de proteína com o ácido pícrico deu origem a uma substância de coloração amarelo forte. Com a adição da água destilada, a solução permaneceu amarela, contudo, houve formação de precipitado.

DETERMINAÇÃO FOTOCOLORIMÉTRICA DE PROTEÍNAS

3.15 – EXPERIMENTO 1 – TESTE DE BIURETO

Os valores de Absorbância em 545 nm contra o tubo B (branco) e os valores obtidos foram registrados na seguinte tabela:

Tubos	Concentração de proteína (mg/mL)	Absorbância
1	1,25	0,113
2	2,50	0,320
3	3,75	0,305
4	5,0	0,385
A	1,903	0,171

$\sum C/\sum A=F$

↓

(1,25+2,50+3,75+5,0)/(0,113+0,305+0,320+0,385)

12,5/1,123=F

F=11,131

A partir da fórmula apresentada acima, foi encontrado o fator 11,131, o qual foi utilizado no cálculo da concentração da amostra desconhecida, que está representado abaixo, e que obteve como resultado a concentração 1,903 mg/mL.

Os tubos ganharam coloração azulada, sendo esta mais intensa nos tubos em que continham solução de proteína.

F x Absorbância A= Concentração A

↓

11,131 x 0,171= Concentração A

Concentração A= 1,903mg/mL

4. DISCUSSÃO

TAMPÕES E pH

4.1 – EXPERIMENTO 1 – FUNCIONAMENTO DOS TAMPÕES

Sabe-se, que por definição, solução tampão é um tipo de sistema aquoso que resiste a mudanças no pH perante adições de pequenas quantidades de ácido ou base fortes. A água destilada é isenta de íons livres, sendo assim ao se medir o pH dos tubos de ensaio 1 e 3, nos quais havia apenas água destilada e indicador universal, era esperado um pH igual a 7 (neutro). Ao se medir o pH da solução tampão, que se encontrava nos tubos 2 e 4, verificou-se um pH igual a 8, portanto, esta é uma solução constituída por ácido fraco e base conjugada.

Quando a solução básica foi adicionada aos tubos 1 e 2 e o pH destes foi novamente medido, observou-se, no tubo 1, um pH igual a 10, fato este que já era esperado, pois com a adição da base ocorreu uma retirada de prótons do meio, o que causou um aumento no valor do pH, tornando a solução mais básica. Já no tubo 2, o pH manteve-se igual a 7, pois houve dissociação do ácido presente no tampão, que repôs a maior parte dos prótons que se associaram com a base, o pH desta solução poderia ter aumentado, contudo seria um aumento muito menor do que o observado no tubo 1.

Com a adição da solução ácida nos tubos 3 e 4, a medição do pH indicou, no tubo 3, um pH entre 4 e 5, pois a adição de prótons à solução tornou-a mas ácida. Já no tubo 4, a medição do pH indicou um valor entre 6 e 7, pois quando se adiciona prótons à solução tampão, esta reage através de sua base conjugada, que se associa aos prótons adicionados. Apesar de a maior parte dos prótons se associarem à base conjugada do tampão, uma pequena parte ainda fica livre, o que poderia causar uma pequena queda no pH da solução, contudo a queda observada foi bem menor do que a queda observada na solução desprovida de tampão (tubo 3).

4.2 – EXPERIMENTO 2 – CAPACIDADE DE TAMPONAMENTO DA SALIVA

O pH salivar padrão fica em torno de 6,8 e 7,2. Ao se medir o pH da saliva do integrante do grupo, verificou-se que este se encontrava entre 7 e 8, portanto, pode-se dizer que este se encontrava dentro da média padrão.

Após a ingestão do suco de limão, sendo que o pH padrão deste fica em torno de 2, verificou-se que o pH salivar do integrante do grupo passou para 5, adquirindo, portanto, caráter ácido.

É sabido que em um pH abaixo de 6 a capacidade tamponante da saliva não é eficaz, pois sabe-se que o funcionamento de um tampão é mais efetivo quando as concentrações de ácido e base conjugados são iguais e devido a grande adição de ácido (suco de limão) tem-se como resultado uma grande quantidade de ácido conjugado e pouca quantidade de base conjugada.

Passados 20 minutos, novamente foi realizada a medição do pH que teve como resultado um valor entre 7 e 8, portanto a saliva passou para um caráter neutro/básico, fato este que ocorreu porque quando se ingere algo muito ácido, as glândulas salivares são estimuladas a secretar uma grande quantidade de saliva, o que fez com que o pH desta se normalizasse.

4.3 – EXPERIMENTO 3 – FORÇA IÔNICA DOS TAMPÕES

Ao se acrescentar o indicador universal à solução tampão presente no tubo 1, com o auxílio do pHmetro, verificou-se um pH igual a 8,30, fato este evidenciado também pela coloração da solução neste tubo que era azulada.

No tubo 2, ao se adicionar água destilada à solução tampão, o pHmetro indicou praticamente o mesmo valor de pH, sendo este igual a 8,25. O fato da solução encontrada no tubo 2 permanecer basicamente com o mesmo valor de pH do tubo 1, mesmo após a adição da água destilada, se dá porque a auto-ionização da água representa uma contribuição desprezível para a concentração dos íons hidrogênio e hidroxila de uma solução, pois esta forma números iguais destes íons.

4.4 – EXPERIMENTO 4 – CAPACIDADE TAMPONANTE COM PROPORÇÕES SAL/ÁCIDO CONSTANTES

O fato de a solução tampão presente no tubo 1 não estar diluída fez com que as adições de Ácido sulfúrico não influenciassem muito na alteração do pH, ou seja, foi mantida a eficiência do tampão. Contudo, devido a solução presente no tubo 2 estar diluída, esta apresentava uma concentração de ácido conjugado muito maior do que a de base conjugada devido a pequena dissociação característica do ácido fraco do tampão. Com a constante adição de Ácido sulfúrico, esgotou-se basicamente toda a base conjugada do tampão, e quando os prótons adicionados não encontraram mais bases as quais poderiam se associar ocorreu uma queda acentuada de pH, ou seja, esse sistema não se comportava mais como um tampão.

4.5 – EXPERIMENTO 5 – CAPACIDADE TAMPONANTE COM PROPORÇÕESS SAL/ÁCIDO VARIÁVEIS

A partir dos valores de pH teórico obtidos através da equação de Henderson-Hasselbalch, é possível afirmar que o tubo com maior poder tamponante era o tubo 1, pois um sistema tampão tem sua eficiência máxima quando existem, simultaneamente, concentrações iguais de ácido e base conjugados (50% de ácido conjugado e 50% de base conjugada). Quando a solução apresenta as mesmas concentrações de ácido e base conjugados tem-se o valor do pH igual ao valor do pKa (pH=pKa). A solução contida no tubo 1, possuía, portanto, um pKa igual a 4,8 e portanto funcionaria como um tampão efetivo entre pH 3,8 e pH 5,8. Apesar das adições de ácido e base aos tubos 1A e 1B, eles mantiveram sua faixa de pH dentro da faixa de pH do funcionamento efetivo do tampão.

Já nos outros tubos (2A, 3A e 4A), devido à presença de grande concentração de base que se uniu aos prótons adicionados através da solução ácida, não houve uma queda significativa no pH. Contudo, nas adições da solução básica, aos tubos 2B, 3B e 4B, observou-se uma grande elevação no pH devido à baixa concentração de ácido na solução. Portanto, nestes tubos o sistema não se comportava como tampão.

SEPARAÇÃO DE AMINOÁCIDOS: CROMATOGRAFIA EM PAPEL ASCENDENTE

4.6 – EXPERIMENTO 1 – CROMATOGRAFIA DE PAPEL ASCENDENTE

Houve pouco deslocamento de solvente e pequena formação de mancha púrpura na tira em que foi aplicada Glicina (o papel é chamado Fase Estacionária do experimento), pois esta é polar e o solvente, (chamado Fase Móvel do experimento) é apolar não havendo muita interação entre os dois ao colocá–los em contato, a pouca interação ocorrida deve–se ao fato de que a Fase Estacionária (papel cromatográfico) também é polar assim como a Glicina. Já na tira em que foi aplicada Leucina houve uma grande interação, pois como sabe–se, a Leucina é apolar assim como o solvente. Na tira em que foram aplicadas as duas soluções (Glicina e Leucina) obteve–se resultados medianos em relação às outras duas tiras de papel, pois houve a mistura de substâncias polares com apolares, enquanto o papel cromatográfico e a Glicina são polares, a Leucina e o solvente são apolares, formando manchas médias (em relação as formadas nas outras tiras) e descontínuas. O uso da Ninidrina é essencial para evidenciar aminoácidos, pois ela reage com os grupos amino livres das soluções.

REAÇÕES DE CARACTERIZAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS

4.7 – EXPERIMENTO 1 – EXISTÊNCIA DE AMINOÁCIDOS SULFORADOS

A mudança na coloração da substância do tubo 1, ocorreu em função da oxidação da cisteína (aminoácido presente na albumina), na qual, a cadeia lateral polar possui um átomo de enxofre que reage com ácido acético e hidróxido de sódio, sendo que esta cadeia é eletricamente neutra em pH neutro, e é constituída por um grupamento –SH (tiol), que reagiu com outros grupos de cisteína para a formação de pontes dissulfeto (-S-S-). Já no segundo tubo a substância permaneceu incolor devido

ao fato de que neste tubo havia apenas água destilada e alguns reagentes, que não causaram nenhuma transformação aparente.

4.8 – EXPERIMENTO 2 – REAÇÃO DE MILLON

Na tirosina que é mais forte que um álcool alifático (termo referente a ausência de um anel benzênico ou estrutura relacionada), portanto, sua cadeia lateral pode perder um próton. Quando aquecido o tubo 1, o qual continha a proteína, observou-se que a substância adquiriu uma coloração alaranjada/salmão, devido ao fato de que o aquecimento dos fenóis presentes na tirosina fez com que estes sofressem nitração, tendo havido desnaturação da proteína. Já no tubo 2 a substância permaneceu incolor pelo fato de que a reação de Millon positiva só ocorre em proteínas que contém tirosina, contudo, neste tubo só havia água destilada e o reativo de Millon.

4.9 – EXPERIMENTO 3 – REAÇÃO DE HOPKINS-COLE

No tubo 1, no qual havia proteína, a mudança da coloração da solução para um tom violeta e a formação de um anel, ocorreu pelo fato de que a solução protéica utilizada continha triptofano, que na reação de Hopkins-Cole reage com o ácido glioxílico e graças a atuação do ácido sulfúrico concentrado forma compostos de coloração violeta em sua interface. Já no segundo tubo a formação do anel e a mudança na coloração da substância não foram observadas, pois a reação ocorre somente na presença de proteínas que contém triptofano, sendo que neste tubo havia apenas água destilada, o reativo de Hopkins-Cole e ácido sulfúrico concentrado.

4.10 – EXPERIMENTO 4 – REAÇÃO DE SAKAGUSHI

No primeiro tubo, no qual havia proteína, a substância adquiriu coloração avermelhada, devido a presença de arginina na solução protéica, que contém produtos da substituição das guanidinas que quando administrados com α-naftol e hipoclorito de sódio dão uma coloração vermelha à solução. Já no segundo tubo, como havia apenas

a água e os reagentes a substância apresentou uma coloração amarela, pelo fato de que não havia proteína para que houvesse reação.

4.11 – EXPERIMENTO 5 – REAÇÃO DA NINIDRINA

A reação da Ninidrina ocorre por causa da presença do grupo amino livre nas soluções utilizadas, havendo esse grupamento, há a formação de um composto roxo, que pode ser mais ou menos intenso dependendo das concentrações dos aminoácidos presentes, sendo esta uma reação positiva (geral). Já no tubo 2, ocorreu a formação de um composto amarelado, o que indica que a reação foi negativa (específica), pois envolve apenas o grupo que caracteriza o aminoácido, como por exemplo a hidroxiprolina.

4.12 – EXPERIMENTO 6 – PRECIPITAÇÃO POR SAIS NEUTROS

A adição da solução de Cloreto de magnésio ocasionou a precipitação de proteína, devido ao fato de a concentração do sal ter adquirido um valor muito elevado, havendo uma conseqüente diminuição na solubilidade dessa proteína. Portanto, a precipitação de proteína ocorreu por remoção de água de hidratação das moléculas protéicas. Ao se misturar a solução presente no tubo, observou-se que esta adquiriu um aspecto gelatinoso, aspecto esse que possivelmente foi adquirido pela quebra das interações proteína-proteína. Já com a adição de água observou-se o desaparecimento total dos filamentos protéicos, pois foi devolvida água de hidratação para as moléculas protéicas.

4.13 – EXPERIMENTO 7 – PRECIPITAÇÃO POR SAIS DE METAIS PESADOS

O proteinato de ferro formado deve–se ao aumento de cargas negativas na superfície da proteína, favorecendo assim a ligação com os íons positivos, evidenciando que o pH está acima do ponto isoelétrico da proteína. Portanto a precipitação não é possível com o pH abaixo do ponto isoelétrico com sais, podendo

ocorrer apenas se houver a adição de ácidos fortes. Quando há a mudança de pH e PI o precipitado pode ser ressolubilizado, como no experimento com a adição de água destilada.

4.14 – EXPERIMENTO 8 – PRECIPITAÇÃO POR ÁCIDOS FORTES

A adição da solução ácido pícrico à solução de proteína, resultou em um aumento de sua carga positiva, havendo, portanto, interação entre as soluções. Contudo, com a adição de água à solução protéica, formou-se precipitado, pois esta adição fez com que a proteína atingisse um pI de 4,7. O PI indica um pH no qual a molécula protéica se encontra eletricamente neutra e no qual há precipitação de proteínas, pois nele a solubilidade da proteína é menor do que em outros valores de pH.

DETERMINAÇÃO FOTOCOLORIMÉTRICA DE PROTEÍNAS

4.15 – EXPERIMENTO 1 – TESTE DE BIURETO

O reativo de biureto é uma solução de sulfato de cobre ($CuSO_4$) e tartarato duplo de sódio e potássio ($KNaC_4H_4O_6$). Esse reativo é utilizado na identificação de compostos protéicos, pois as ligações existentes na molécula de biureto são semelhantes às ligações peptídicas na formação de proteínas. O espectrofotômetro é um aparelho capaz de medir a quantidade de luz que é absorvida em um composto, sendo que se o composto medido for incolor a absorbância sera igual a zero, ou seja, o aparelho só traz resultados em presença de cor, fator necessário para que seja possível a absorção de luz.

5. CONCLUSÃO

TAMPÕES E pH

5.1 – EXPERIMENTO 1 – FUNCIONAMENTO DOS TAMPÕES

A partir deste experimento, ficou provada a eficiência do funcionamento de um sistema tampão prevenindo variações do pH em um sistema.

5.2 – EXPERIMENTO 2 – CAPACIDADE DE TAMPONAMENTO DA SALIVA

A realização deste experimento evidenciou que a eficiência do funcionamento de um tampão é restrita a um certo limite nas quantidades de ácido ou base adicionadas a este sistema. Portanto, um tampão só é eficiente dentro de pequenas adições de ácido ou base fortes.

5.3 – EXPERIMENTO 3 – FORÇA IÔNICA DOS TAMPÕES

A partir da realização deste experimento, ficou claro que a presença de água em uma solução seja esta ácida ou básica, influencia o seu pH e conseqüentemente também altera sua capacidade tamponante.

5.4 – EXPERIMENTO 4 – CAPACIDADE TAMPONANTE COM PROPORÇÕES SAL/ÁCIDO CONSTANTES

A realização deste experimento novamente provou que a ação e/ou eficiência de um tampão é restrita a uma faixa de pH na qual as concentrações de ácido e base conjugados devem ser suficientes para compensar adições de base ou de ácido.

5.5 – EXPERIMENTO 5 – CAPACIDADE TAMPONANTE COM PROPORÇÕESS SAL/ÁCIDO VARIÁVEIS

A partir deste experimento, ficou provada a definição da região de maior eficiência de um sistema tampão que é determinada pelo pKa de seu ácido fraco, no caso deste experimento o Ácido acético. Ficou claro, novamente, que as concentrações do ácido e base conjugados são fundamentais para a maior eficiência de um tampão.

SEPARAÇÃO DE AMINOÁCIDOS: CROMATOGRAFIA EM PAPEL ASCENDENTE

5.6 EXPERIMENTO 1 – CROMATOGRAFIA DE PAPEL ASCENDENTE

A cromatografia em papel ascendente tem como objetivo separar os componentes de uma mistura para que estes possam ser analisados e caracterizados de acordo com suas características químicas. Neste experimento realizou–se a separação de misturas de aminoácidos, isso é possível, pois o grupo R dos aminoácidos se relaciona de forma diferente com solventes (Fase Móvel do experimento). Dessa forma foram evidenciadas algumas propriedades dos aminoácidos e assim pôde–se caracterizá–los de acordo com sua polaridade. No caso, é através do Rf (Relação com a Frente) que sabe–se a polaridade, quanto maior mais apolar e quanto menor mais polar, portanto a Glicina é a mais polar, em segundo lugar têm–se a mistura de Glicina e Leucina e a mais apolar é a Leucina de acordo com os cálculos realizados no experimento. Conclui–se que os dados obtidos no experimento foram os esperados.

Um dos motivos pelo qual o solvente percorre o papel cromatográfico é área do papel, que sendo menor que a área do tubo calibroso, segundo a fórmula da pressão atmosférica Pressão = Força/ Área, quanto menor a área do papel menos força este aplicará sobre o solvente o que ajudará na subida deste pelo papel.

REAÇÕES DE CARACTERIZAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS

5.7 – EXPERIMENTO 1 – EXISTÊNCIA DE AMINOÁCIDOS SULFORADOS

Pela realização deste experimento, foi evidenciada a formação das pontes dissulfeto entre aminoácidos detentores de cadeias constituídas por grupamentos –SH (tiol).

5.8 – EXPERIMENTO 2 – REAÇÃO DE MILLON

Através da realização deste experimento, ficou evidente que apenas as proteínas que contém tirosina dão positiva a reação de Millon.

5.9 – EXPERIMENTO 3 – REAÇÃO DE HOPKINS-COLE

A partir deste experimento, foi evidenciado o fato de que a reação de Hopkins-Cole só ocorre na presença de proteínas que contém triptofano.

5.10 – EXPERIMENTO 4 – REAÇÃO DE SAKAGUSHI

Pela realização deste experimento, foi evidenciado o fato de que a reação de Sakagushi ocorre apenas em meio a arginina.

5.11 – EXPERIMENTO 5 – REAÇÃO DA NINIDRINA

Os resultados obtidos na experiência foram os esperados. A formação de compostos de cor roxa/ violeta chamam–se reações positivas ou reações gerais, pois ocorrem sempre que há a relação de Ninidrina com grupamentos carboxila ou amina. Quando há a formação de compostos amarelados, é sinal de que a reação ocorrida foi

negativa ou específica, isso significa que ocorre apenas entre a Ninidrina e o grupo que caracteriza o aminoácido, como por exemplo, a prolina ou hidroxiprolina.

5.12 – EXPERIMENTO 6 – PRECIPITAÇÃO POR SAIS NEUTROS

A realização deste experimento tornou evidente certas características protéicas, cuja principal foi a solubilidade de proteínas em meio salino, ou seja, foi observado que a solubilidade das proteínas é influenciada pela composição do meio aquoso.

5.13 – EXPERIMENTO 7 – PRECIPITAÇÃO POR SAIS DE METAIS PESADOS

Os íons positivos de metais causaram a precipitação de proteinato de ferro. Quando o pH está acima do ponto isoelétrico à precipitação é mais intensa, a redissolução do precipitado pode ocorrer pela mudança do pH e do ponto isoelétrico (PI) da proteína, e pela decomposição do proteinato de ferro. Concluindo–se que o ocorrido no experimento saiu de acordo com o esperado.

5.14 – EXPERIMENTO 8 – PRECIPITAÇÃO POR ÁCIDOS FORTES

A partir deste experimento, ficou evidente a influencia do PI (ponto isoelétrico) na solubilidade das proteínas.

DETERMINAÇÃO FOTOCOLORIMÉTRICA DE PROTEÍNAS

5.15 – EXPERIMENTO 1 – TESTE DE BIURETO

Os compostos formados nos tubos ganharam coloração azulada, ora por causa da adição do Reativo de Biureto, ora por causa da adição da solução padrão de albumina 5mg/mL. A cor adquirida pelos compostos faz com que seja possível a medição da absorbância pelo espectrofotômetro, com o uso da tabela desse medidor

de absorbância e das fórmulas deste experimento, foi possível encontrar o valor da concentração da amostra desconhecida mostrando a potencialidade do teste de Biureto para a determinação fotocolorimétrica de proteínas e mostrar que a concentração de proteína nos compostos é diretamente proporcional à absorbância do mesmo. Dessa forma, conclui-se que os resultados obtidos foram os esperados.

6. BIBLIOGRAFIA

CAMPBELL, M. K. *Bioquímica*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2000.

MARZZOCO, A. & TORRES, B. B. *Bioquímica Básica*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

NELSON, D. L. & COX, M. M. *Lehninger Princípios de Bioquímica*. 4.ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

SARDELLA, A & MATEUS, E. *Curso de Química:* Química Geral. 21.ed. São Paulo: Editora Ática, 1995.