

AMINOÁCIDOS, PEPTÍDEOS E PROTEÍNAS - EXPERIMENTAL

OBJETIVOS : saber identificar um aminoácido, peptídeo ou proteína no laboratório. Saber diferenciar entre aminoácidos livres e proteínas. Conhecer os fatores que causam a desnaturação de uma proteína.

1) Realização do teste da Ninhidrina

Materiais:

Balão volumétrico 100 mL, Pipeta volumétrica 10 mL - Béquer 100 mL, 3 Tubos de ensaio- Pipeta graduada 10 mL - Balança analítica - Conta-gotas

- Tampão fosfato 0,01mol/L - - Clara de ovo - Ninhidrina - Glicina 10% - Aspartato 10%

-Ninhidrina: Dissolver 100 mg de ninhidrina em 100 mL de tampão fosfato 0,01 mol/L (pH = 7,0). Conservar em frasco escuro na geladeira.

Prepare uma solução de albumina 10% (v/v) dissolvendo 10 mL de clara de ovo em tampão fosfato 0,01 mol/L e avolumando com o tampão para 100 mL em balão volumétrico.

Procedimento:

Num tubo de ensaio pipetar 2,0 mL de solução de ninidrina e adicionar 5 gotas da solução de proteína 10%. Aquecer em banho-maria fervente por 5 min. Anotar o resultado.

Repetir o procedimento substituindo a solução de proteína por solução de aminoácido a 10% (glicina e aspartato).

Resultados:

	cor	Intensidade da cor (++)	explicação
Glicina			
Aspartico			
Proteína			

2)Realização do teste do Biureto

Materiais:

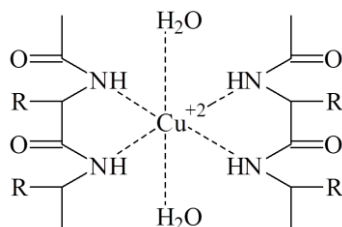
- 3 Tubos de ensaio - 4 Pipetas graduadas 10 mL - - Balão volumétrico 100 mL – Balança analítica - Espátulas Proveta 50 mL

- Sulfato de cobre II penta-hidratado Albumina 10% - Sal de Rochelle (tartarato de sódio e potássio) Béquer 100 mL - Glicina 10% - Hidróxido de sódio 10% - Água destilada

Reativo do Biureto: Em 50 mL de água destilada dissolver 0,15g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e 0,6g de sal de Rochelle (tartarato duplo de sódio e potássio $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). Adicionar 30 mL de solução de NaOH 10% com agitação constante. Avolumar para 100 mL.

Procedimento

Separe três tubos de ensaio. No primeiro adicione 1,0 mL de água destilada, no segundo 1,0 mL de solução de glicina 10% e no terceiro 1,0 mL de solução de proteína albumina 10%. Adicione a cada tubo 1,0 mL do reativo de Biureto. Agite os tubos e observe a cor.



Complexo formado entre o cobre II e peptídeos ou proteínas.

Resultados:

	cor	Intensidade da cor (++)	explicação
Água			
glicina			
Proteína - albumina			

3) Realização do teste de Heller

Materiais:

- Tubo de ensaio, 2 Pipetas graduadas 10 mL
- Ácido Nítrico concentrado- Albumina 10%

Procedimento

Pipetar 2,0 mL da solução de proteína 10% em um tubo de ensaio. Derramar cuidadosamente e sem agitação 1,0 mL de ácido nítrico concentrado pelas paredes do tubo. Observar o resultado obtido.

4)Desnaturação de Proteínas

Materiais:

- 5 Tubos de ensaio
- 5 Pipetas graduadas 10 mL
- Béquer 500 mL -
- Pêra
- Chapa de Aquecimento
- Pegador para tubo de ensai0
- Albumina 10%- Ácido tricloroacético 10% Acetato de chumbo 5%- Etanol- Sol. Saturada de Sulfato de amônio

Procedimento:

Tome 5 tubos de ensaio e adicione 2,0 mL de solução de albumina 10% em cada um. Aqueça o Tubo 1 em banho-maria fervente por 3 min. Anote o resultado.

Ao Tubo 2 adicione 2,0 mL de ácido tricloroacético 10%. Anote o resultado.

Ao Tubo 3 adicione 2,0 mL de solução de acetato de chumbo 5%. Anote o resultado.

Ao Tubo 4 adicione 5,0 mL de etanol. Anote o resultado.

Ao Tubo 5 adicione 4,0 mL de solução saturada de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e anote o resultado.

Em seguida adicione 6,0 mL de água destilada e anote o resultado.