

Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Bacharelado em Física Médica



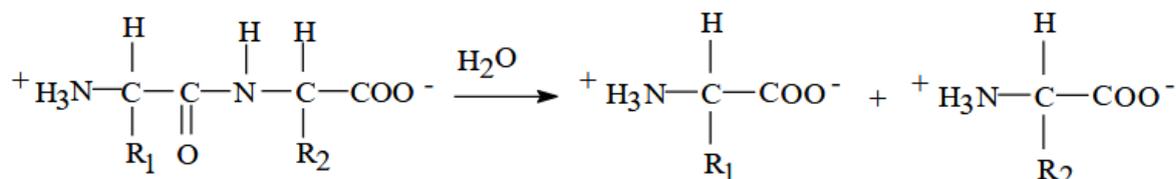
Experimento 6

REAÇÕES DE CARACTERIZAÇÃO DE AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS.

Introdução

Caracterização de aminoácidos:

Assim como outras moléculas orgânicas, as proteínas sofrem reações químicas características de seus grupos funcionais, ou seja, os grupos amino e carboxila livres e as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos que as compõem (grupos R). As ligações peptídicas podem ser hidrolisadas por aquecimento com ácido ou base forte, liberando os aminoácidos constituintes da proteína:



Procedimento Experimental

A) Reações de caracterização de aminoácidos e proteínas

A.1) Reação do Biureto

Coloque numa estante 4 tubos de ensaio numerados. Ao primeiro, adicione 2 mL de água, ao segundo, 2 mL (ou 40 gotas) de solução de ovoalbumina a 2%; ao terceiro, 2 mL (ou 40 gotas) de solução de gelatina a 2% e ao quarto 2 mL (ou 40 gotas) de solução de glicina a 1%. Acrescente, a cada tubo, igual quantidade de NaOH 2M. Agite o tubo e adicione, gota a gota, uma solução de CuSO_4 0,5%, agitando após cada adição, até o aparecimento de coloração violeta, característica de ligação peptídica. Qual é a reação que ocorre no tubo de ensaio? Qual a aplicação importante desta reação?

Coloque num tubo, limpo e seco, uma pitada de uréia e aqueça o tubo em uma chama, diretamente. A uréia se funde, ferve e ocorre o aparecimento de um sólido no fundo do tubo. Após o resfriamento do tubo, dissolva o sólido com 2 mL (ou 40 gotas) de NaOH 2M. Adicione a solução de CuSO_4 0,5%, conforme descrito acima. Observe e explique os resultados, relacionando-os com os da etapa anterior.

A.2) Reação com acetato de chumbo

Prepare 3 tubos de ensaio, contendo, o primeiro uma pequena quantidade (ponta de espátula) de gelatina, o segundo uma pequena mecha de cabelos e o terceiro 40 gotas (ou 2 mL) de ovoalbumina 2%. Junte a cada tubo 2 mL (ou 40 gotas) de NaOH 6M e 3 gotas de solução de acetato de chumbo 1%. Ferva cuidadosamente por 2 a 3 minutos e observe. Qual a composição do sólido formado? Quais os aminoácidos, existentes nas proteínas, responsáveis por esta reação?

B) Reações de precipitação de proteínas

B.1) Adição de ácido forte

Prepare 2 tubos de ensaio, contendo, o primeiro 40 gotas de HNO_3 concentrado e o segundo 40 gotas de HCl concentrado. Adicione cuidadosamente, escorrendo pelas paredes do tubo, 2 mL de solução de ovoalbumina. Observe e explique o aparecimento de um

precipitado branco no limite de separação entre os líquidos, em cada um dos tubos. (A reação do tubo 1 é usada, frequentemente, para pesquisar albumina na urina.)

B.2) precipitação fracionada por soluções salinas saturadas

A 2 mL de solução de ovoalbumina, colocados num tubo Falcon de 15 mL, adicione igual volume de solução saturada de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Forma-se um precipitado branco. Centrifugue, por 5 minutos, a suspensão, guardando o sobrenadante para o ensaio seguinte. Ao precipitado, adicione 2 mL de água destilada. O precipitado dissolve? Por quê?

Ao sobrenadante, adicione $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sólido até a saturação completa.

Observe, procurando explicar o ocorrido.

ATENÇÃO: Para a centrifugação utilize 2 tubinhos equilibrados (de mesma massa), colocados de maneira diametralmente oposta no interior da centrífuga!!!

B.3) Precipitação por Acetona

Prepare 4 tubos de ensaio, de acordo com o protocolo abaixo:

Tubo	1	2	3	4
Acetona	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
H ₂ O	3 mL	2 mL	1 mL	----
Solução de ovoalbumina 2%	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

Agite e observe a precipitação em cada tubo. Explique.

