

## Ionização de Aminoácidos e Proteínas Curvas de Titulação

Um dos propósitos desta aula prática é o de se verificar experimentalmente as curvas de titulação de soluções de glicina e de imidazol (Parte A). O segundo propósito é o de observar a solubilidade de proteínas em função do pH (Parte B). Os dados obtidos serão analisados e servirão de base para se responder questionário sobre aspectos de estrutura e função de proteínas.

Material        50 ml de solução de glicina 0.02M, pH ajustado para 2.0  
                  50 ml de solução de imidazol 0.02M, pH ajustado para 2.0  
                  NaOH 0.5N  
                  Soluções de citrato de sódio 5% com pH 2-6  
                  Pipetas de 0.2 ml e 1.0 ml  
                  Medidor de pH

Procedimento: Calibrar o medidor de pH usando os tampões disponíveis na bancada para esta finalidade. Parte A: com o medidor de pH calibrado, titular separadamente as soluções de glicina e de imidazol por adição sucessiva de 0.2 ml de NaOH 0.5N, sob agitação. Para facilitar a determinação do ponto final da titulação, adicionar 2 gotas de solução do indicador de viragem fenolftaleína à solução. **Anotar** os valores de pH após cada adição de NaOH. Fazer gráfico de *pH vs. volume de base adicionado* para cada solução titulada.

Parte B: Pipetar 1.0 ml de cada solução tampão citrato, com pH 2 até 6, em tubos de ensaio devidamente numerados. Adicionar a cada tubo 1.0 ml de solução de leite desnatado a 1%. Agitar suavemente e deixar em repouso alguns minutos. Observar e anotar os resultados.

Relatório: deve conter os gráficos das titulações e respostas e observações referentes às questões formuladas a seguir.

a - Indique no gráfico as estruturas iônicas da Gly que, durante a titulação, apresentam cargas líquidas +1, +0.5, -0.5 e -1. Em algum momento a Gly ficou neutra? E isoelétrica?

b – A proteína insulina apresenta 2 cadeias: a cadeia A tem 21 resíduos e Gly na posição 1, a cadeia B tem 30 resíduos e Gly nas posições 8, 20 e 23 da sequência. Quais desses resíduos Gly podem contribuir para as propriedades ácido/base da insulina? E com a carga dessa proteína?

c – A que equação correspondem as curvas de titulação da Gly e do imidazol?

d – Observa-se efeito tamponante nos gráficos obtidos?

e – Qual a capacidade dos grupos -COOH e NH<sub>2</sub> para tamponamento da solução em pH 7.0?

f – Que aminoácido presente nas proteínas contribui para o efeito tamponante de pH destas macromoléculas na faixa de pH fisiológico?

g – Descreva as alterações iônicas que podem ter ocorrido nas proteínas do leite quando elas foram dissolvidas em meios com pH variando de 2 a 6. Qual explicação para a precipitação observada?