

Dosagem de Proteínas pelo Método de Biureto e Método de Bradford

Objetivos Didáticos

- Realizar a quantificação de proteínas utilizando dois métodos colorimétricos clássicos: **Biureto** e **Bradford**.
- Comparar sensibilidade, tempo de reação e aplicabilidade dos métodos.
- Construir curvas padrão de concentração e estimar o teor proteico de amostras reais.
- Relacionar a dosagem de proteínas com aplicações em **engenharia de processos, alimentos, formulação e controle de qualidade**.

Materiais e Reagentes

Material / Reagente	Observações
Solução padrão de albumina (BSA – 1 mg/mL)	Para construir a curva padrão
Amostras proteicas (ex: leite diluído, clara de ovo, extrato vegetal)	Diversificadas
Reagente de Biureto (solução de sulfato de cobre em meio alcalino)	Pronto para uso
Reagente de Bradford (Coomassie Brilliant Blue G-250)	Pronto para uso ou preparado previamente
Água destilada	Para diluições
Tubos de ensaio / microtubos	Para cada reação
Pipetas e ponteiros	Medidas precisas
Espectrofotômetro	Leitura a 540 nm (Biureto) e 595 nm (Bradford)
Béqueres, provetas, funis	Uso geral
EPI: jaleco, óculos, luvas	Segurança no laboratório

Procedimento Experimental

◆ 1. Preparo da Curva Padrão

1. Prepare diluições da solução de BSA para obter concentrações como: 0 (branco), 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1,0 mg/mL.
 2. Separe dois conjuntos de tubos de ensaio: um para o método de Biureto e outro para o Bradford.
-

◆ 2. Método do Biureto

1. Em cada tubo, adicione:
 - 1 mL da amostra ou padrão de proteína.
 - 3 mL do **reagente de Biureto**.
2. Misture bem e aguarde **30 minutos** à temperatura ambiente.
3. Meça a **absorbância a 540 nm**.
4. Registre os dados e construa o gráfico padrão.

Princípio: em meio alcalino, íons cúpricos (Cu^{2+}) se complexam com ligações peptídicas, produzindo coloração violeta proporcional à concentração de proteínas.

◆ 3. Método de Bradford

1. Em tubos limpos, adicione:
 - 100 μL da amostra ou padrão.
 - 1 mL do **reagente de Bradford**.
2. Incube por **5 a 10 minutos**.
3. Meça a **absorbância a 595 nm**.
4. Registre os dados e compare com a curva padrão.

Princípio: o corante Coomassie liga-se a resíduos de arginina e outras regiões básicas das proteínas, produzindo cor azul intensa proporcional à concentração.

Análise de Dados

- Construa as **curvas padrão (Abs vs. concentração)** para os dois métodos.
 - Calcule as concentrações das proteínas nas amostras com base nas equações da reta.
 - Compare os resultados obtidos com os dois métodos (exatidão, sensibilidade, tempo de reação, interferentes).
-

Discussão com foco em Engenharia

- Qual método é mais rápido ou sensível? Em que contextos industriais cada um seria mais apropriado?
- Interferência de substâncias: detergentes, sais ou açúcares podem afetar os métodos?
- Aplicações reais:
 - Controle de teor proteico em alimentos e suplementos.

- Monitoramento de fermentações e hidrólises proteicas.
 - Avaliação de eficiência em processos de extração e purificação de proteínas.
-

Conclusão

- Ambos os métodos permitem quantificar proteínas com base em reações químicas simples e eficientes.
- O **método do Biureto** é robusto, porém menos sensível que o **Bradford**, que detecta pequenas quantidades com maior rapidez.
- A prática reforça competências analíticas importantes para atuação em **engenharia bioquímica, de alimentos e bioprocessos**.