

AMINOÁCIDOS, PEPTÍDEOS E PROTEÍNAS – EXPERIMENTAL

OBJETIVOS: Saber diferenciar entre aminoácidos livres e proteínas. Conhecer os fatores que causam a desnaturação de uma proteína. Saber diferenciar a concentração de uma proteína em uma amostra.

EXPERIMENTAL:

Materiais:

- a) Clara do ovo hidrolisada : 1 mL de clara de ovo ; adicione cuidadosamente **1 mL de ácido nítrico concentrado** em cada tubo ; aqueça suavemente por 2–3 minutos em banho-maria; Após esfriar, adicione lentamente 1 mL de **NaOH 10%** para neutralizar
- b) Prepare uma solução de clara de ovo (albumina) 1% (v/v) dissolvendo 1 mL de clara de ovo em tampão fosfato 0,01 mol/L e avolumando com o tampão para 100 mL em balão volumétrico
- c) Glicina 1%

Reagentes:

- a) 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.
- b) 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.
- c) Preparo do Reagente de Bradford :Dissolver **100 mg de Coomassie G-250** em **50 mL de etanol 95%** (pode demorar, usar agitação magnética). Adicionar lentamente **100 mL de ácido fosfórico 85%** (sempre ácido sobre solvente, com agitação, usar EPI). Completar o volume para **1 L com água destilada**. Filtrar (papel de filtro Whatman nº 1 ou membrana 0,45 μm) para remover partículas não dissolvidas. Armazenar em frasco âmbar a 4 °C. O reagente é estável por vários meses.

.Experimentos

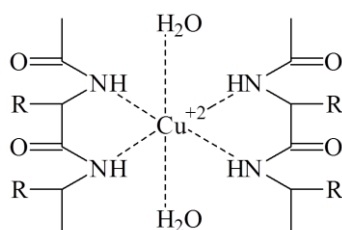
1)Realização do teste do Biureto

Procedimento

1. Separe 4 tubos de ensaio
Em cada tubo adicione 1 ml de amostra.

	volume
Água	1 ml
Glicina	1 ml
Peptídeos (clara de ovo hidrolisada)	1 ml
Clara de ovo - albumina	1 ml

Adicione a cada tubo 1,0 mL do reativo de Biureto. Agite os tubos e aguarde 10 min. Observe a cor.



Complexo formado entre o cobre II e peptídeos ou proteínas.

Resultados:

	cor	Intensidade da cor (++)	explicação
Água			
Glicina			
Peptídeos (clara de ovo hidrolisada)			
Clara de ovo - albumina			

2) Realização do teste da Ninhidrina (grupo amina livre)

Procedimento:

1) Em tubos de ensaio adicione:

- 1 ml água
- 1 ml de glicina
- 1 ml de peptídeo
- 1 ml de clara de ovo diluída

2) Adicione 2 ml do reagente de ninhidrina em cada tubo

3) Leve os tubos em banho-maria fervente por 1 min

Observe a coloração desenvolvida

- Roxo ou azul-violáceo indica presença de grupo amina livre
- Amostras de proteínas podem apresentar coloração menos intensa

Resultados:

	cor	Intensidade da cor (++)	explicação
Água			
Glicina			
Peptídeo – clara de ovo hidrolisada			
Proteína – albumina			

3) Realização do teste de Bradford

Procedimento:

Em tubos limpos, adicione: 300 µL da amostra ou padrão; 3 mL do **reagente de Bradford**.

Espera-se **5 minutos**.

Resultados:

	cor	Intensidade da cor (++)	explicação
Água			
Glicina			
Peptídeo – clara de ovo hidrolisada			
Proteína – albumina			

Discussão com foco em Engenharia

- Por que a ninhidrina é útil em cromatografia de aminoácidos e no monitoramento de hidrólises proteicas?
- Como a reação xantoproteica pode indicar a **presença de resíduos aromáticos em biomateriais ou fármacos**?
- Relevância em **processos fermentativos**: controle da liberação de aminoácidos ou da hidrólise enzimática.
- Discutir limitações analíticas e necessidade de testes quantitativos complementares (ex: espectrofotometria).

Aplicações práticas em Engenharia

Área de Engenharia	Aplicação
Engenharia de Alimentos	Produção de aminoácidos saborizantes (ex: glutamato); avaliação da qualidade proteica de ingredientes fermentados
Engenharia Química/Biotecnológica	Controle da degradação proteica em biorreatores, fermentação submersa e em estado sólido
Engenharia Ambiental	Monitoramento de efluentes fermentativos quanto à carga nitrogenada (aminoácidos livres)
Engenharia Farmacêutica	Produção de precursores bioativos via fermentação (triptofano → serotonina, por exemplo)