



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ - UESC
Departamento de Ciências Biológicas - DCB

ROTEIROS PARA
AULAS PRÁTICAS DE BIOQUÍMICA

Profa. Dra. Kátia Regina Pimentel de Araújo Sgrillo

Ilhéus - Bahia
2006

APRESENTAÇÃO

A presente apostila foi elaborada a partir de uma coletânea de roteiros de aulas práticas de bioquímica, considerando técnicas apresentadas em obras semelhantes.

Este trabalho tem o objetivo de facilitar o acompanhamento da parte prática da disciplina Bioquímica, aprimorando o aprendizado e, conseqüentemente, melhorando a qualidade de ensino na UESC.

ÍNDICE

		Pag.
1.	Introdução ao trabalho em Laboratório	4
1.1.	Observações	
2.	Programa da Disciplina Bioquímica Básica	
2.1.	Ementa	
2.2.	Objetivos	
2.3.	Avaliação	
2.4.	Conteúdo	
3.	Como elaborar um Relatório	
4.	Relação das principais vidrarias e materiais utilizados em Laboratório	
5.	Roteiro de Práticas	
5.1.	<u>Experimento 1</u> - Medidas de pH	
5.2.	<u>Experimento 2</u> - Utilização do pHmetro	
5.3.	<u>Experimento 3</u> - Ácido carbônico	
5.4.	<u>Experimento 4</u> - Titulação	
5.5.	<u>Experimento 5</u> - Separação de aminoácidos em uma mistura utilizando a técnica de eletroforese em papel	
5.6.	<u>Experimento 6</u> - Separação de aminoácidos em uma mistura utilizando a cromatografia em papel	
5.7.	<u>Experimento 7</u> - Caracterização de proteínas	
5.8.	<u>Experimento 8</u> - Solubilidade de proteínas – Desnaturação	
5.9.	<u>Experimento 9</u> - Calibração e sensibilidade do método fotocolorimétrico	
5.10.	<u>Experimento 10</u> - Estudo da POLIFENOLOXIDASE (PPO) extraída da batatinha	
5.11.	<u>Experimento 11</u> - Hidrólise ácida e enzimática do amido	
5.12.	<u>Experimento 12</u> - Caracterização de carboidratos	
5.13.	<u>Experimento 13</u> - Extração de Amido	
5.14.	<u>Experimento 14</u> - Extração de ácidos nucleicos	
5.15.	<u>Experimento 15</u> - Caracterização de Lipídios	
6.	Literatura Consultada	
6.1.	Web sites recomendados	

1. INTRODUÇÃO AO TRABALHO EM LABORATÓRIO

No Laboratório de Bioquímica o aluno deverá:

- Ser rigoroso na atenção, técnica e disciplina, evitando desta forma, a ocorrência de erros que invalidam parcial ou totalmente o trabalho realizado e acarretam em desperdício de material, reagentes e tempo;
- Não realizar experiências “extras” a título de curiosidade, pois podem levar a reações inesperadas;
- Afim de alcançar a eficiência desejada, é necessário ler as práticas com antecedência;
- Colocar sobre a bancada apenas o material estritamente necessário como lápis, borracha, caneta, régua e apostila de trabalhos práticos. Demais objetos deverão ser deixados fora da bancada de trabalho, em lugar designado;
- Conservar a bancada de trabalho sempre limpa, durante e ao término das aulas. Ao término da aula a bancada deverá estar em condições de ser novamente utilizada.
- Reagentes e respectivas pipetas estarão dispostas junto aos mesmos, em uma bancada específica e deverão ser utilizadas com atenção para evitar trocas. Também deverão ser transferidas alíquotas dos reagentes para beakers para evitar contaminação.
- Sempre que necessário, utilizar máscara, luvas, óculos e/ou qualquer outro artigo de proteção indicado;
- Não fumar no laboratório;
- Cautela no trabalho com substâncias cáusticas, tóxicas, ácidos em geral, substâncias inflamáveis e vidraria;
- Os reagentes corrosivos ou tóxicos (ácidos ou bases fortes, quando muito concentrados) não deverão ser pipetados diretamente, sendo medidos em provetas ou, em alguns casos, em buretas ou com auxílio de uma pêra;
- Evitar tocar, cheirar ou manusear produtos que tenham derramado ou extravasado de algum recipiente;
- Manter o rosto o mais distante possível durante as operações de mistura ou aquecimento de reagentes;
- Não degustar nada no laboratório, exceto se for especialmente orientado a fazê-lo;

- Ao acender o bico de Bunsen, ter o cuidado de não abrir a torneira do gás antes que tenha à mão a chama que deve acendê-lo;
- Terminado o uso do bico de Bunsen, verifique se as torneiras do gás estão bem fechadas, evitando assim explosões e intoxicações;
- Cuidado com as substâncias inflamáveis (álcool, éter) nas proximidades de uma chama;
- Jamais aquecer um sistema completamente fechado;
- Os reagentes utilizados não devem retornar ao recipiente estoque;
- Use uma pipeta para cada reagente evitando a contaminações;
- Antes de introduzir pipetas nas soluções certifique-se de que estão limpas;
- Ao preparar soluções de ácidos fortes (sulfúrico, clorídrico, nítrico, etc.), deve-se verter o ácido sobre a água, nunca o contrário pois provoca reação exotérmica violenta;
- Deve-se ter precaução ao preparar soluções alcalinas (NaOH, KOH, etc.), pois a reação é exotérmica e corrosiva. Mantenha o frasco em banho de gelo e não aspire os gases desprendidos;
- Quando preparar soluções alcoólicas, o álcool e água devem ser medidos separadamente e depois reunidos, porque há redução do volume total;
- Os dispositivos para a medição de volumes são calibrados com água destilada a uma dada temperatura, conforme vem registrado (15, 20, 25°C);
- Para medir volumes entre 0 e 1 ml deve-se usar pipetas de 1 ml graduada em centésimos. Entre 1 e 2 ml usar pipetas de 2 ml graduada em centésimos. Entre 2 e 5 ml usar pipetas de 5 ml graduada em décimos. Entre 5 e 10 ml usar pipetas de 10 ml graduada em décimos;
- As pipetas volumétricas são de maior precisão e são utilizadas para o preparo de soluções padrões;
- O líquido no interior de medidores de volume (pipetas, buretas, provetas, balões volumétricos, etc.) forma menisco. A leitura de ser feita na parte inferior do menisco e na altura da linha dos olhos.

1.1. Observações

- **É obrigatório** o uso de **jaleco, sapato fechado e calças compridas**, portanto não será permitida a entrada do aluno no laboratório sem estar usando-os.
- Alunos com cabelo comprido deverão prendê-los durante às aulas práticas para evitar acidentes com chamas e reagentes corrosivos.
- A pontualidade é importante para a boa condução dos trabalhos. Será tolerado um atraso de 10 minutos do início da prática, após o qual o aluno será considerado ausente.
- De acordo com a legislação vigente há um limite de faltas de 25% para essa disciplina. Acima desse limite, o aluno está reprovado por faltas.
- Não é permitido assistir ou “pagar” aula em outra turma, pois todas as turmas estão completas com o número máximo de alunos.
- Em caso de acidentes (oral, contato com a pele, com os olhos, etc.) tomar as precauções de acordo com a lista de primeiros-socorros da Merck, afixada na parede do Laboratório.
- Só deixar a aula quando terminado o trabalho ou, em qualquer caso, com a autorização do professor, caso contrário o aluno receberá falta.

2. Programa da Disciplina Bioquímica Básica

PROFESSORA.: Profa. Dra. Kátia Regina Pimentel de Araújo Sgrillo

Cursos: Ciências Biológicas – *Bacharelado, Licenciatura, Ecologia e Biomedicina*
Enfermagem

2.1. Ementa

Proteínas; Hemoglobina; Sentido das reações; Enzimas; Estrutura de lipídios; Membranas; Metabolismo de carboidratos; Fosforilação oxidativa; Metabolismo de lipídios; Metabolismo de aminoácidos; Aspectos bioquímicos da nutrição; Estrutura de nucleotídeos; Estrutura de ácidos nucleicos; Duplicação; Transcrição em eucariotos; Código genético; Síntese de proteínas; Regulação alostérica e hormonal do metabolismo; Aspectos da integração metabólica.

2.2. Objetivos

- Conhecer as principais formas de energia envolvidas no metabolismo celular, bem como o fluxo dessa energia nas células, tecidos e organismos;
- Reconhecer as principais biomoléculas, suas estruturas e funções enquanto participantes do metabolismo celular;

- Estudar e reconhecer as principais vias metabólicas, incluindo metabolismo de carboidratos (via glicolítica), de lipídios (ácidos graxos), de proteínas (nitrogênio), de ácidos nucleicos, bem como suas inter-relações e as enzimas envolvidas;
- Estudar o controle hormonal e a integração das vias metabólicas.

2.3. Avaliação

A avaliação da parte prática será realizada através de:

- ◆ relatórios – toda prática corresponde a um relatório que vale de 0 a 10;
- ◆ participação em aula^{*};
- ◆ auxílio no processo de correção dos relatórios^{*}.

^{*} A somatória destes dois itens permitirá um acréscimo de até 0,5 ponto na média final da parte prática da disciplina.

- ◆ Os relatórios serão elaborados em grupo e entregues na aula da semana seguinte a realização da prática;
- ◆ Na primeira aula os alunos deverão escolher o grupo a que pertencerão durante e semestre, não será permitida a permuta de alunos durante o mesmo.
- ◆ Não será permitido a troca do horário de aula prática.

2.4. Conteúdo

Aula	Data	Aulas Práticas
1		Introdução ao Laboratório
2		Normas e cuidados nos trabalhos em laboratório
3		Medidas de pH
4		Medidas de pH
5		Utilização de pH-metro
6		Utilização de pH-metro
7		Ácido Carbônico
8		Ácido Carbônico
9		Titulação
10		Titulação
11		Separação de aminoácidos em uma mistura utilizando a técnica de eletroforese em papel
12		Separação de aminoácidos em uma mistura utilizando a técnica de eletroforese em papel
13		Separação de aminoácidos em uma mistura utilizando a cromatografia em papel
14		Separação de aminoácidos em uma mistura utilizando a cromatografia em papel
15		Caracterização de proteínas
16		Caracterização de proteínas
17		Calibração e sensibilidade do método fotocolorimétrico
18		Calibração e sensibilidade do método fotocolorimétrico
19		Estudo da Polifenoloxidase (PPO) extraída da batatinha
20		Estudo da Polifenoloxidase (PPO) extraída da batatinha

21		Hidrólise ácida do amido
22		Hidrólise ácida do amido
23		Caracterização de carboidratos
24		Caracterização de carboidratos
25		Extração de amido
26		Extração de amido
27		Extração de ácidos nucleicos
28		Extração de ácidos nucleicos
29		Caracterização de lipídios
30		Caracterização de lipídios

3. Como elaborar um RELATÓRIO

Para orientar a elaboração de relatórios serão apresentados a seguir um roteiro e algumas sugestões práticas.



Partes de um Relatório

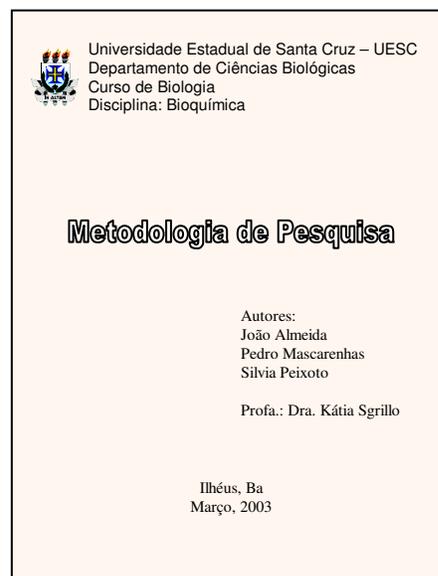
1. Capa
2. Sumário (ou Índice)
3. Introdução
4. Objetivo
5. Materiais e Métodos
6. Resultados e Discussão
7. Conclusão
8. Bibliografia



Modelo de uma Capa

1. Capa

- No topo e centrado deve-se apresentar o nome da Instituição (e logotipo), Curso, Disciplina
- Título do Relatório - centrado com letras grandes (maiores que as demais)
- Autores: nome componentes do Grupo
- Professor responsável: nome do professor
- Centrado e abaixo: Local, ano



2. Sumário

2. Sumário	
1. Introdução	1
2. Objetivo.....	2
3. Materiais e Métodos	2

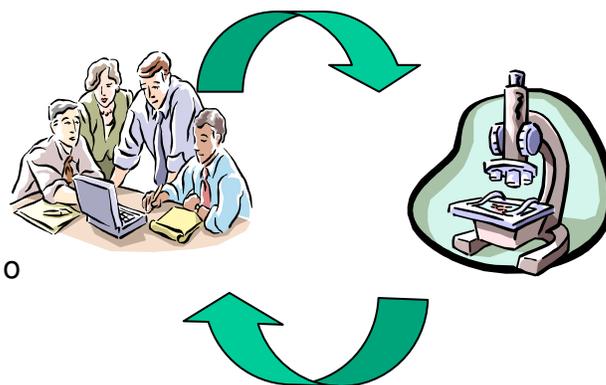
Relação de títulos e indicação do número da página onde aparece.

3. Introdução/Revisão bibliográfica

Texto com o referencial teórico sobre o tema desenvolvido no relatório. Utilizar nas citações bibliográficas as Normas ABNT.

4. Objetivo

Deve-se apresentar de forma clara e concisa o objetivo previsto na realização da prática.



5. Materiais e Método



Descrição completa de todos os materiais e equipamentos utilizados no experimento.

Deve-se também apresentar de forma clara e objetiva cada passo da metodologia utilizada.

6. Resultados e Discussão

Neste item são apresentados todos os resultados encontrados no experimento e a discussão dos mesmos. Pode-se utilizar figuras (esquemas, desenhos, gráficos, etc.) e tabelas para facilitar a visualização dos mesmos. Deve-se apresentar tanto as figuras como as tabelas o mais próximo possível de sua citação no texto (chamadas).

OBS - Nunca esquecer: figura – rótulo abaixo e tabela – título acima.



A discussão deve ser feita considerando as informações bibliográficas disponíveis sobre o assunto, comentando se os resultados encontrados foram coerentes ou não. Também neste item deve-se apresentar os pontos críticos do método e possíveis fontes de erros.

7. Conclusão



Este item deve responder a cada um dos objetivos propostos. Como o próprio nome diz, deve concluir algo sobre o experimento realizado. O grupo deve apresentar sua opinião (ainda de forma impessoal), sobre a metodologia e um fechamento sobre os resultados alcançados.

8. Bibliografia

Toda citação deve obedecer as Normas da ABNT
Em caso de dúvidas consultar à Biblioteca ou a Editus (editora da UESC).

No texto (introdução e discussão) deve aparecer somente o último nome do autor e o ano da publicação. Veja os exemplos abaixo:

- (um) Xxxxx (1999)
- (dois) Xxxxx & Aaaa (2000)
- (mais de dois) Xxxx et al. (2001)



Observações (importantes)

Apresentação é MUITO IMPORTANTE. Você sempre será avaliado pelo que apresenta.

Limpeza, atenção aos prazos, estética, tamanho de papel e distribuição de figuras, tabelas no texto, assim como, o conteúdo serão parte integrante da avaliação.

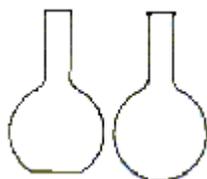
ATENÇÃO: ERROS de português e corretivos devem ser **EVITADOS**. A Redação deve sempre ser **impessoal**.

NUNCA deixe páginas em branco ou com poucas frases escritas no corpo do trabalho – ele é um todo e portanto cada sub-título deve ser seguido do próximo. Títulos não podem ser colocados no fim de uma página (órfão) – sem pelo menos uma frase.

Em NENHUM caso será aceito trabalho manuscrito.

4. Relação das principais vidrarias e materiais utilizados em laboratório

A seguir são apresentadas as principais vidrarias e materiais utilizados no Laboratório de Bioquímica para realização de aulas práticas.



Balão volumétrico com fundo chato e com fundo redondo



Balão volumétrico com tampa



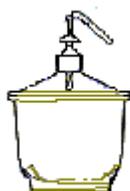
Becker



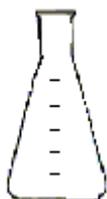
Bureta



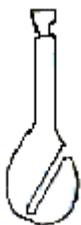
Cadinho



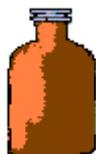
Dissecador



Erlenmeyer



Frasco kjeldahl



Frasco de vidro



Funil de separação (coluna cromatográfica)



Funil



Kitassato



Piceta



Pipeta volumétrica



Pipeta graduada



Placa de Petri



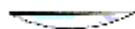
Proveta



Tubo de ensaio



Tripé com tela de amianto e bico de Bunsen



Vidro de relógio

5. Roteiro de Práticas

5.1. [Experimento 1](#) - Medidas de pH

Assunto: pH e tampões

Objetivos:

- § Caracterizar as substâncias por faixas de pH.
- § Entender o pH como medida de concentração.
- § Familiarização com o uso de fitas de indicador de pH.

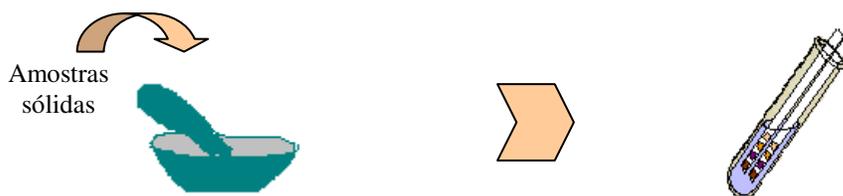
Materiais:

- § Três tubos de ensaio;
- § Fitas de indicador de pH (dois tipos de fita: uma de 0 a 6 e outra de 7 a 14);
- § Substâncias coletadas no perímetro da UESC;
- § Água.
- § Cadinho com bastão

Procedimentos:

§ Cada grupo irá apreender três substâncias para determinação do pH e diluir, em água, estas substâncias, uma em cada tubo de ensaio; as amostras de materiais sólidos, se

necessário, deverão ser maceradas no cadinho com o auxílio do bastão, antes de serem diluídas.



OBS: Procurar materiais que possam ser dissolvidos ou macerados para solução em água. Evitar substâncias com cores intensas, pois podem alterar a leitura.

§ Mergulhar as fitas de indicador de pH no tubo de ensaio e esperar o resultado por 5 minutos. Anotar o resultado de cada substância e pH.

§ Selecionar uma substância, diluí-la ainda mais (dobro da diluição utilizada) e medir novamente o pH.

Sugestões para o relatório:

§ Agrupar as substâncias por faixa de pH

§ Correlacionar tipos de substâncias e faixas de pH

§ Avaliar a variação de pH em materiais presentes no dia a dia

§ Relacionar o pH esperado com o pH encontrado (explicando os prováveis motivos da discordância).

§ Entender e explicar como é feita a leitura das fitas de medição de pH e quais os princípios químicos usados nessas fitas.

§ Explicar o efeito da diluição na medida de pH.

Experimento 2 – Utilização de pH-metro

Assunto: pH e tampões

Objetivos:

§ Entender e ambientar-se com a utilização do ph-metro

§ Caracterizar tamponamento e sua formação em soluções de ácidos fracos

§ Praticar a titulação.

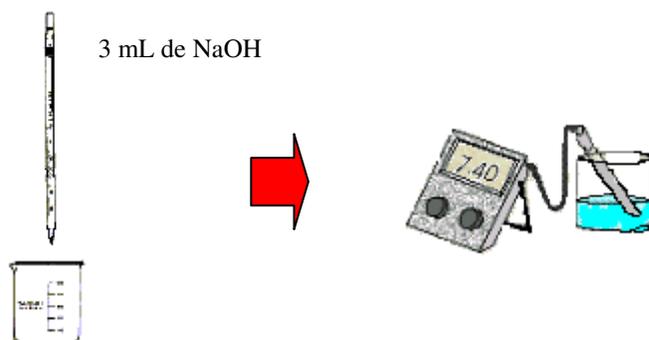
Materiais:

- § pHmetro;
- § 30 mL de solução de NaOH 0,1 mol/L;
- § 30 mL de solução de ácido acético 0,1 mol/L;
- § Um béquer;
- § Um bastão de vidro;
- § Uma pipeta.



Procedimentos:

- § Transferir para um béquer com 30 mL de solução de ácido acético 0,1 M
- § Medir o pH desta solução com a utilização de um pHmetro anotar o resultado
 - verifique se o pHmetro já foi calibrado
 - levantar a alavanca com o eletrodo do pHmetro – **CUIDADO – FRÁGIL**
 - colocar em um béquer com água destilada sob o eletrodo
 - lavar o eletrodo com água destilada – Cuidado para não bater no béquer.
 - colocar o béquer com a solução a ser medida sob o eletrodo
 - abaixar a alavanca com o eletrodo do pHmetro até mergulhar a ponta do eletrodo na solução. Cuidado para não tocar no fundo do béquer.
 - ativar o botão para leitura e anotar o valor medido.
- § Acrescentar, com o auxílio de um pipeta, gradativamente 3,0 mL de uma solução de NaOH 0,1M.



- § Fazer a medição do pH. Repetir o procedimento (acrécimo de 3mL de NaOH) por 3 vezes e após cada acréscimo fazer nova medição do pH.

- Antes de cada medida é necessário lavar o eletrodo (troque a água destilada do béquer após muitas medições para evitar que esta fique excessivamente contaminada pelos reagentes)

§ Construir uma curva com os dados obtidos (equivalentes de H^+ adicionados x pH) .

Sugestões para o relatório:

§ Observar a variação de pH de uma solução tampão devido ao acréscimo de uma base forte;

§ Montar uma curva de titulação, mostrando a variação de pH identificando a faixa tamponante, o porquê de sua ocorrência e sua importância nos sistemas biológicos;

§ Entender a utilização do pHmetro;

§ Fazer o gráfico da curva de titulação teórica (com valores calculados) e comparar com a obtida na prática.

§ visitar os sites

- <http://yip5.chem.wfu.edu/yip/java/titrate.html>
- <http://yip5.chem.wfu.edu/yip/java/j01/titrate3.html>
- <http://yip5.chem.wfu.edu/yip/java/titrate5.html>
- <http://www.calpoly.edu/~cbailey/125LabExperiments/Titration/Titration.html>

Experimento 3 - Ácido carbônico

Assunto: **pH e tampões**

Objetivos:

§ Caracterizar indicadores de pH por coloração.

§ Acompanhar a variação de cor de um indicador com a variação de pH.

Materiais:

§ Um tubo de ensaio;

§ Pipeta;

§ O indicador Azul de Bromotimol 20% diluído em água.

Procedimentos:

§ Em um tubo de ensaio contendo uma solução de Azul de Bromotimol inserir uma pipeta vazia e soprar suavemente, fazendo com que as bolhas produzidas sejam expelidas dentro da solução

§ Observar e anotar.

**Sugestões para o relatório:**

§ Identificar o azul de Bromotimol como um indicador de pH.

§ Explicar como e porque se deu a mudança de coloração da solução.

§ Explicar a importância deste sistema tampão em animais e no homem.

Experimento 4 - Titulação**Assunto: pH e tampões**

Objetivos :

§ Entender como a fenolftaleína pode agir como um indicador de pH

§ Caracterizar o vinagre como uma solução constituída por ácido acético

§ Entender por que houve mudança da coloração relacionando este fato com a natureza dos reagentes utilizados .

§ Compreender por que foi necessário atingir a mudança de coloração para que se realizasse a conclusão do experimento e a obtenção da quantidade de ácido acético.

Materiais:

§ 2,5 mL de vinagre

§ Béquer

§ Erlenmeyer

§ Bastão de vidro

§ água destilada

§ solução de NaOH 0.08M

§ indicador de fenolftaleína

§ pipeta

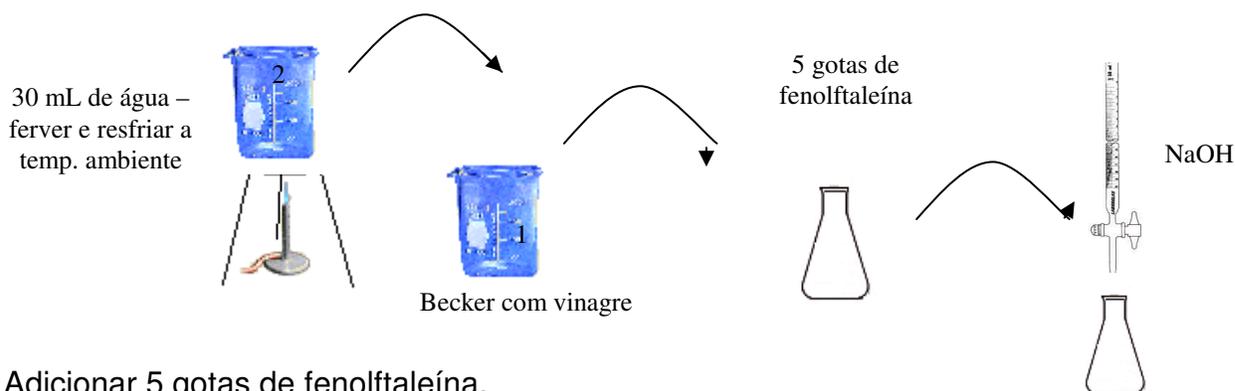
§ Bureta

Procedimentos:

§ Colocar 2.5 mL de vinagre no Béquer 1.

§ Ferver 30mL de água destilada no Béquer 2.

§ Após a fervura, resfriá-la até a temperatura ambiente e adicionar 25 mL ao Béquer com vinagre.



§ Adicionar 5 gotas de fenolftaleína.

§ Adicionar NaOH gota a gota, agitando até a mudança de coloração.

§ Anotar a quantidade de NaOH utilizada.

§ Utilizando os dados obtidos (as quantidades de reagentes utilizados juntamente com os dados fornecidos abaixo), calcular a porcentagem de ácido acético presente no vinagre.

Sugestões para o relatório:

§ Determinar a acidez total do vinagre, ou seja a quantidade de ácido acético (em termos percentuais) presente em um amostra de vinagre .

· Dados fornecidos:

- PM ácido acético : 60,0
- Densidade do ácido acético : 1,049 g/cm³

§ Explique porque a água foi fervida, e porque foi novamente esfriada para utilização.

Experimento 5 – *Separação e identificação de aminoácidos em uma mistura utilizando a técnica de eletroforese em papel*

Assunto: Eletroforese

Objetivo:

- Manipular a técnica de eletroforese para separar e identificar aminoácidos em uma mistura.

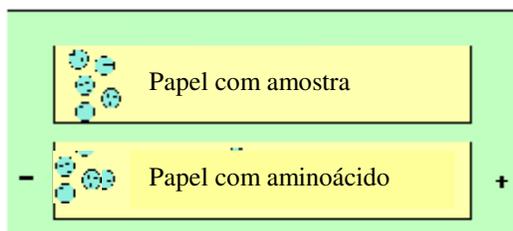
Materiais e Reagentes:

- Equipamento de eletroforese (cuba, fonte, cabos)
- Estufa regulada em 80 - 90°C;
- Papel de filtro Watmann (nº 4 ou 1);
- Tubos capilares (próximo aos reagentes);
- Nebulizador;
- 1 Par de luvas cirúrgicas;
- Lápis, régua, tesoura.
- Solução problema: água de melancia;
- Solução Tampão ácido acético/acetato pH 4,6;
- Solução padrão de aminoácidos (glicina, aspartato) 0,1M; (ver ANEXO I, pg. 14)
- Solução reveladora - Ninidrina 0,1% em acetona.

Procedimento:

1. Cortar duas tiras de papel de filtro com 1,5 x 25 cm, utilizar luvas para evitar tocar o papel diretamente com as mãos.
2. Marcar com lápis o meio da tira de papel com uma linha tracejada e, nas extremidades marcar positivo (+) e negativo (-).
3. Aplicar a solução de aminoácido (padrão) com tubo capilar, ao longo da linha central, sem espalhar muito. Repetir a aplicação por mais duas vezes. Deixar secar; Na outra tira fazer o mesmo com a amostra.
4. Embeber as tiras de papel na solução tampão, retirando o excesso com papel absorvente.
5. Colocar as tiras no aparelho de eletroforese de maneira que as extremidades fiquem mergulhadas no tampão da cuba e a sinalização (+) e (-) fiquem nos pólos respectivos.
6. Fechar o aparelho, ligar regulando a voltagem em 250V e aguardar 60 minutos.
7. Retirar o papel do aparelho, secar em estufa, pulverizar a ninidrina com a ajuda do nebulizador e secar novamente para a revelação.
8. Interpretar os resultados.

Cuba eletroforética



Sugestões para o relatório:

- § Explicar quais os fatores que influenciam a separação eletroforética.
- § Explicar como cada um deles pode influir na separação.
- § Explicar qual a necessidade do uso do tampão nesta técnica.
- § Esquematizar um sistema eletroforético explicando em detalhes o funcionamento do mesmo.

Experimento 6 – *Separação de aminoácidos em uma mistura utilizando a cromatografia em papel*

Assunto: Cromatografia em papel

Objetivos

- Separar e identificar aminoácidos utilizando a técnica da cromatografia em papel;
- Calcular os fatores de fronteira (Rf);
- Conhecer os diversos tipos de técnicas cromatográficas.

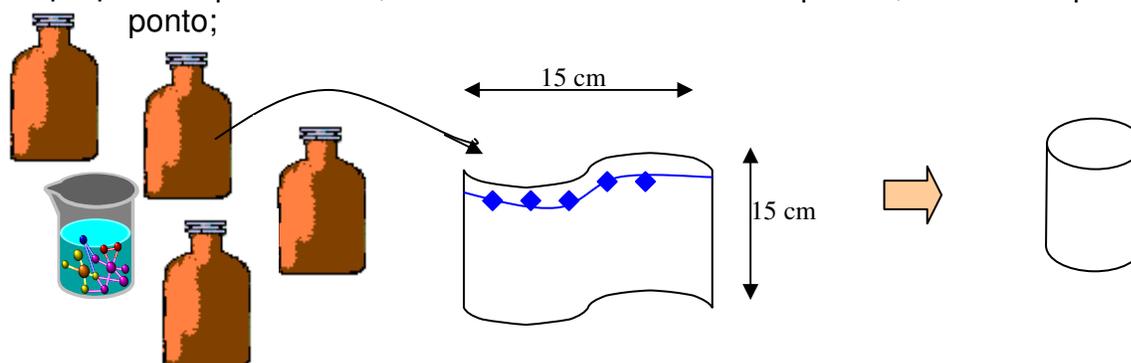
Materiais e Reagentes

- Papel de filtro Whatman em folha (CUIDADO: evite tocar diretamente no papel para evitar contaminação);
- 1 Beker de 1000 ml;
- 1 placa de petri que sirva para suporte para os békeres de 1000 ml;
- 2 Clips (prendedores de papel);
- Estufa regulada a 80 - 90°C para revelação;
- Nebulizador;
- Tubos capilares de vidro (próximos aos reagentes);
- 1 par de luvas cirúrgicas;

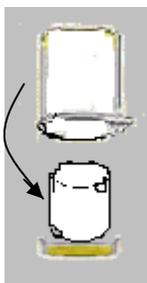
- Lápis, régua e tesoura.
- Mistura problema;
- Soluções padrões de L-aminoácidos puros (glutamato, lisina, prolina e leucina) 0,1M ;
- Solvente misto (n-butanol:ác. fórmico:água (100:30:25));
- Revelador (solução de ninidrina 0,1% em acetona).

Procedimento

1. Cortar um pedaço de papel de filtro com as dimensões aproximadas de 15x15 cm (**utilize luvas para evitar tocar o papel diretamente com as mãos**);
2. Marcar, com lápis, um traço horizontal a 2,5 cm da borda inferior;
3. À partir da borda lateral, marcar sobre o traço um ponto a cada 3 cm um do outro (5 pontos no total);
4. Aplicar sobre os pontos as soluções dos aminoácidos e da mistura problema em pequenas quantidades, com o auxílio dos tubos capilares, atentando para identificar ponto;

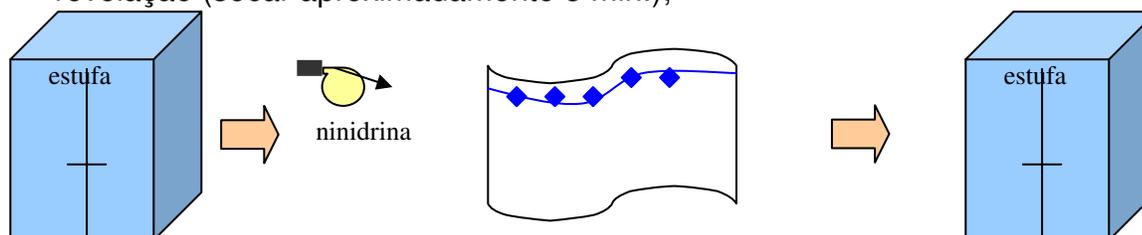


5. Dar forma cilíndrica ao papel, evitando manuseio direto e prendendo com clips;
6. Adicionar uma pequena quantidade do solvente na placa de petri, formando uma pequena camada;
7. Introduzir o cilindro formado na cuba cromatográfica contendo o solvente, evitando que este alcance os pontos de aplicação das amostras;



8. Vedar a cuba com o becker e deixar que o solvente suba por capilaridade até atingir a distância de aproximadamente 1cm da borda superior (+/- 1 hora);
9. Atingido este ponto, retirar o papel, marcar com lápis a altura atingida pelo solvente;

10. Secar em estufa 70 °C. Pulverizar a solução de ninidrina, colocar em estufa para a revelação (secar aproximadamente 3 min.);



11. Interpretar os resultados.

Sugestões para o relatório:

- § Explicar o princípio básico da cromatografia.
- § Descrever resumidamente os tipos de cromatografia existentes (na introdução).
- § Explicar o que vem a ser o coeficiente de partição de uma substância.
- § Calcular os Rf e comparar os padrões com a amostra.
- § Discutir os resultados encontrados.
- § Indicar qual seria o procedimento prático utilizado para melhor separar os aminoácidos com Rf muito próximos (introdução).
- § Identificar a fase móvel, a estacionária e o suporte físico utilizado no experimento.

Experimento 7 – Caracterização de Proteínas

Assunto: Proteínas

Objetivos :

- § Entender as propriedades das proteínas e como essas influenciam na sua solubilização.
- § Entender alguns métodos para identificação e quantificação de proteínas
- § Verificar o comportamento de diferentes grupos de biomoléculas em diferentes soluções.

Materiais:

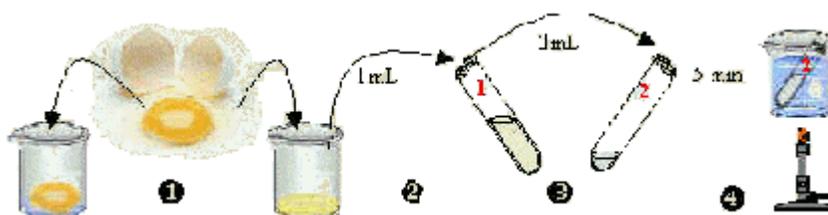
- § ovo (1 p/ cada grupo)
- § 1 Tubo de ensaio com 5 mL de tampão fosfato 0,1mol/L em pH7.8 – Tubo 1;
- § 1 Tubo de ensaio com 3 mL de solução de ninhidrina 0,1% em tampão fosfato – Tubo 2;

- § 1 Tubo de ensaio com 3 mL de biureto – Tubo 3;
- § 1 Tubo de ensaio com 4 mL de água destilada – Tubo 4;
- § 1 Tubo de ensaio com 6 mL de cloreto de sódio 1M – Tubo 5;
- § 1 Tubo de ensaio com 5 mL de sulfato de amônio 70% (p/v) - Tubo 6;
- § 1 Tubo vazio – 7;
- § 1 Tubo de ensaio com 1 mL de tampão fosfato 0,1mol/L em pH7.8 – Tubo 8;
- § 1 Tubo de ensaio com 1 mL de água destilada – Tubo 9;
- § 10 mg de Caseína (ependorf plástico)
- § 1 Bastão de vidro;
- § 2 béqueres;
- § 3 Pipetas graduadas de “5 mL”;
- § HNO₃ 1:1 (na bancada do professor);
- § NaOH 5M (na bancada do professor);
- § Banho-maria.

Procedimentos:

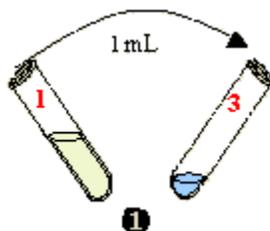
Reação da Ninidrina:

1. Abrir o ovo separando o seu conteúdo em dois béqueres (clara em um, gema em outro) sem romper a membrana que envolve a gema;
2. Transferir c/ pipeta aprox. 1 ml de clara para o Tubo 1 (tp. fosfato);
3. Transferir para o Tubo 2 (ninhidrina) 2 ml, com o auxílio de uma pipita, da solução obtida no passo anterior (Tubo 1).
4. Colocar o Tubo 2 no banho-maria, deixando-o ferver por 5 minutos;
5. Registrar os dados obtidos.



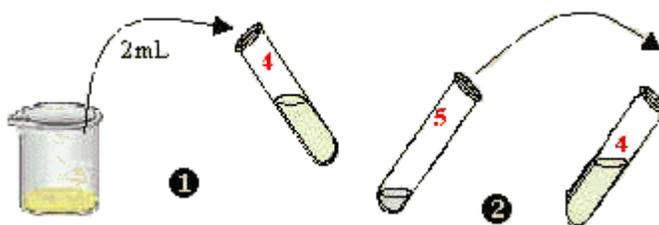
Reação do Biureto:

1. Pipetar 1 ml da solução do Tubo 1 (sol. clara/ tp. fosfato) para o Tubo 3 (biureto);
2. Registrar os dados obtidos.



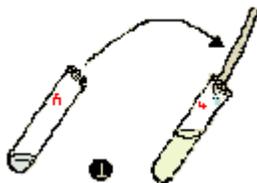
Solubilização (*salting in*):

1. Diluir 2mL de clara no Tubo 4 (H₂O dest.), misturar **suavemente**;
2. Adicionar a solução de cloreto de sódio do Tubo 5 ao Tubo 4 gota a gota até a solubilização do material;
3. Registrar os dados.



Precipitação sem desnaturação (*salting out*):

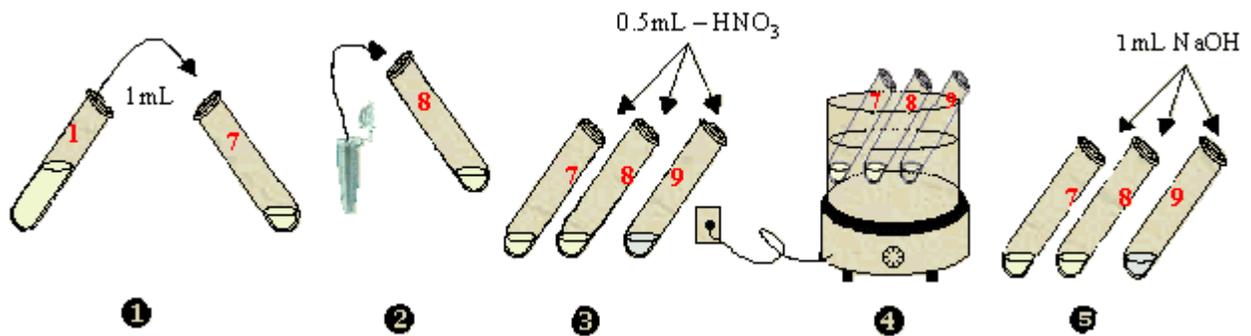
1. adicione solução saturada de sulfato de amônio (Tubo 6) ao Tubo 4 gota a gota;
2. Registrar os dados.



Reação xantoprotéica:

1. Colocar 1 ml da clara do ovo do Tubo 1 no Tubo 7;

2. Adicionar os 10mg de caseína ao tubo 8 e agitar suavemente para solubilizar;
3. Adicionar aos tubos 7,8 e 9 0,5 ml de ácido nítrico (**CUIDADO!** Usar pipeta de 5 ou de 10 ml; aspirar c/ pêra, não com a boca, usar luvas);
4. Ferver todos os tubos no “banho-maria”;
5. Anotar os resultados observados e adicionar gota a gota e agitando após cada gota, 1mL de NaOH;
6. Anotar e analisar os resultados obtidos.



§ Explicar o que são os reagentes Biureto e Ninhidrina e como eles interagem com proteínas.

§ Explicar as principais diferenças entre os métodos utilizados para identificação de proteínas e em que situações deve ser usado cada um.

§ Explicar os mecanismos de solubilização e precipitação de proteínas.

Experimento 8 – Solubilidade de Proteínas - Desnaturação

Assunto: Proteínas

Objetivos:

- Estudar a solubilidade das proteínas frente a agentes desnaturantes (calor) e força iônica.

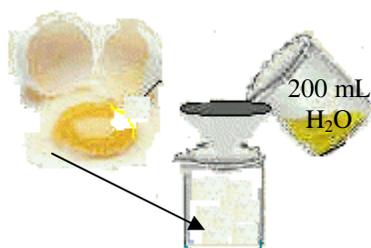
Materiais e Reagentes

- 1 Beker de 100ml;
- 3 Tubos de ensaio;
- 1 Estante p/ tubos de ensaio;

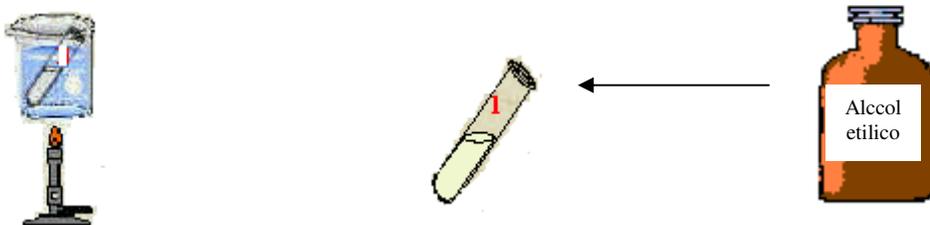
- Bastão de vidro;
- 1 Bico de gás;
- 1 Tela de amianto;
- Conta - gotas (próximo aos reagentes);
- 1 Pipeta de 5 ml;
- Pipetas de 1, 2 e 5 ml (próximas aos reagentes).
- Solução de caseína 1%;
- Solução de ovoalbumina 1%;
- Ovo de galinha;
- Álcool etílico absoluto;
- Cloreto de sódio 0,1 N;
- Solução saturada de sulfato de amônia.

Procedimento:

1. Colocar uma clara de ovo em um beker. Adicionar aproximadamente 200 ml de água destilada. Agitar com bastão. Deixar em repouso por alguns minutos. Observar e anotar os resultados.



2. Transferir com uma pipeta 2ml da solução de caseína 1% para o tubo de ensaio 1;
3. Transferir com uma pipeta 2ml da solução de ovoalbumina 1% no tubo de ensaio 2;
4. Ao final de cada um dos passos a seguir, observar e anotar os resultados;
5. Aquecer os tubos 1 e 2 em banho-maria fervente;



6. Adicionar álcool etílico (1 a 3 ml) a cada um dos tubos;
7. No beker da clara de ovo, adicionar solução de cloreto de sódio gota a gota;
8. Pipetar do beker 2ml da solução de clara de ovo diluída em um tubo de ensaio;
9. Adicionar 2 ml da solução saturada de sulfato de amônia;
10. Adicionar 4 a 5 ml de água destilada.

Sugestões para o relatório:

§ Explique detalhadamente as suas observações, de acordo com o procedimento executado;

§ Explique como se pode precipitar as proteínas.

§ Cite três agentes desnaturantes.

§ Dê um exemplo de processo de desnaturação que ocorre no nosso dia a dia.

Experimento 9 – Calibração e sensibilidade do método fotolorimétrico

Assunto: Fotolorimetria e Espectrofotometria

Objetivos:

- Elaborar curvas de calibração e trabalhar o conceito de sensibilidade de um método fotolorimétrico;
- Relacionar os métodos vistos às aplicações práticas;
- Resolver problemas de cálculo de diluições e de concentrações.

Materiais, Equipamentos e Reagentes:

- 7 Tubos de ensaio;
- 6 Beker de 100
- Pipetas de 1, 2 e 5 ml (próximas aos reagentes);
- 7 Pipetas de 2 e 5 ml;
- 1 Estante p/ tubos de ensaio;
- 1 Proveta de 100 ml;
- Fotolorímetro (com cubetas).
- Reativo do biureto :
 - ✓ Sulfato de cobre cristalizado (pentahidratado) - 1,5g;
 - ✓ Tartarato duplo de sódio e potássio - 6,0g;
 - ✓ Água destilada - 500 ml;
 - ✓ Adicionar 300 ml de solução de NaOH a 10% (p/v) (114,9 g/litro de NaOH) sob constante agitação e completar para 1 litro com água destilada.
- Solução de caseína a 5 % em água;
- Água destilada.

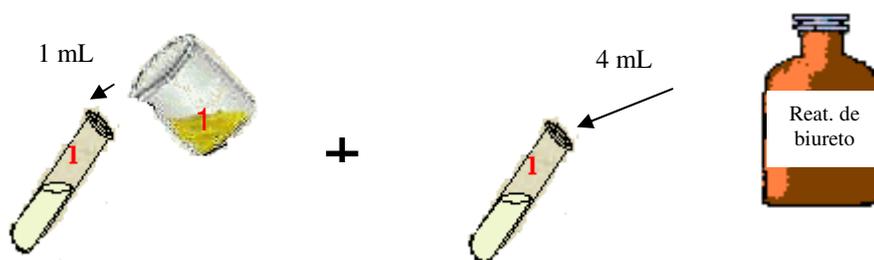
Procedimento:

1. Numerar 6 bekers e colocar, em cada um deles, 1 ml da solução de caseína, seguindo a Tabela 1:

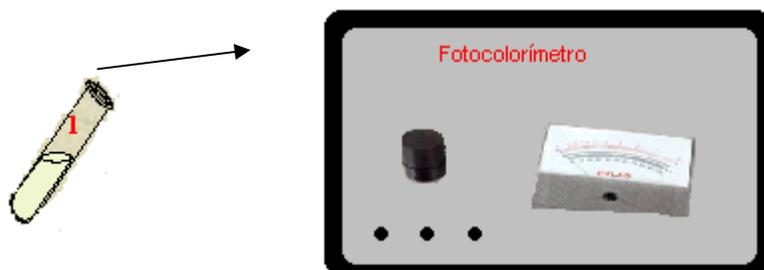
Tabela 1 – Distribuição de reagentes em diferentes proporções

Solução	B1	B2	B3	B4	B5	B6
Caseína 5%	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
H ₂ O destilada	4 ml	9 ml	19 ml	24 ml	49 ml	99 ml

2. Preparar 6 tubos de ensaio colocando, em cada um, 1 ml da solução preparada anteriormente (beker 1 no tubo 1, beker 2 no tubo 2 e assim por diante);
3. Preparar também um tubo testemunha (zero) contendo 1 ml de água destilada;



4. Em cada tubo de ensaio colocar 4 mL do reagente do biureto;
5. Misturar o conteúdo dos tubos por inversão e deixar em repouso por 15 minutos para que ocorra a reação de complexação;
6. Fazer a leitura de absorbância das soluções no fotolorímetro a 540 nm, usando o conteúdo do tubo 0 para zerar o aparelho;



7. Traçar em papel milimetrado (com escala) a curva de calibração e determinar o limite de sensibilidade deste método para essas condições.

Sugestões para o relatório:

- § Esquematize um fotolorímetro explicando as funções de todos os componentes (introdução).
- § Explique como poderá ser utilizada esta técnica para determinação de substâncias que não apresentam coloração.
-

Experimento 10 – Estudo da POLIFENOLOXIDASE (PPO) extraída da batatinha

Assunto: Enzimas

Objetivos:

- Estudar a atividade *in vitro* da polifenoloxidase da batatinha, bem como o efeito da temperatura.

Materiais e Reagentes

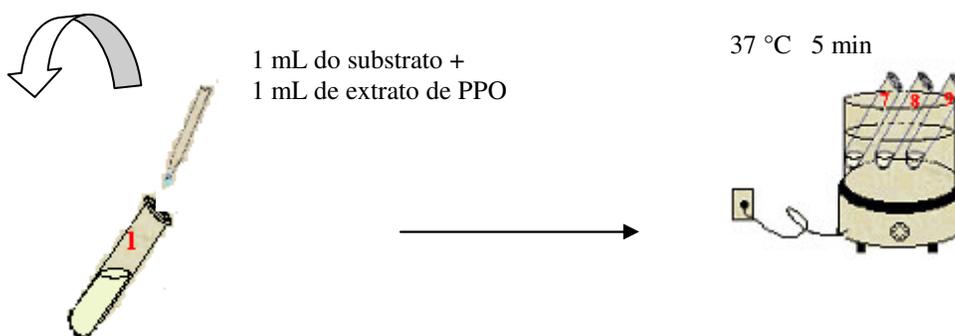
- Batata inglesa
- Água destilada;
- Tampão fosfato 0,1M pH 6,5.
- Soluções a 1% dos seguintes compostos (500 ml de cada):
- Floroglucina
- Resorcina
- Fenol
- Tirosina
- 8 Tubos de ensaio;
- Banho-maria, regulado em 37°C;
- 5 Pipetas de 2 e 5 ml;
- Pipetas de 2 e 5 ml (próximas aos reagentes);
- Liquidificador;
- 1 Gaze para filtração;
- Termômetro;
- 1 Erlenmeyer;
- 1 bico de gás e 1 tela de amianto;
- 1 béquer de 1000 ml;
- Banho de gelo.

Procedimento:**Especificidade:**

- § Liquidificar uma porção de batata com 150 mL de tampão fosfato em pH 6,5;
- § Filtrar em gaze, deixar decantar (5 minutos) e retirar o sobrenadante que é a fonte de PPO;



- § Numerar os tubos de ensaio de acordo com o número de substratos que serão testados. Em seguida adicionar, em cada tubo, 1 mL do substrato e 1 mL do extrato de PPO. Imediatamente colocar em banho-maria a 37°C durante 5 minutos.



- § Observar e anotar os resultados. O tubo 1 será o branco e conterá apenas 1 ml de água e 1 ml do extrato de PPO.

Efeito da temperatura:

- § Pipetar 3 ml do extrato de PPO em um tubo de ensaio;
- § Deixar em banho-maria fervente por 5 minutos;
- § Colocar 1 ml do substrato que mais escureceu no teste anterior em um tubo de ensaio e 1 ml do extrato fervido (TUBO 1);
- § Deixar por 5 minutos em banho-maria a 37°C;
- § Colocar 1 ml do extrato de PPO em um tubo e 1 ml do melhor substrato em outro. Colocar esses dois tubos em banho de gelo por 5 minutos para homogeneizar a temperatura;

- § Em seguida verter o tubo contendo o substrato no tubo contendo o extrato de PPO (formando o TUBO 2). Homogeneizar e colocar imediatamente de volta no banho de gelo;
- § Observar a coloração formada no tubo e comparar com o observado no teste a 37°C.

Sugestões para o relatório:

- § Cite três procedimentos que podem impedir a ação da PPO sobre seus substratos na presença de oxigênio. Justifique cada um deles.

Experimento 11 – Hidrólise ácida e enzimática do amido

Assunto: Enzimas

Objetivos:

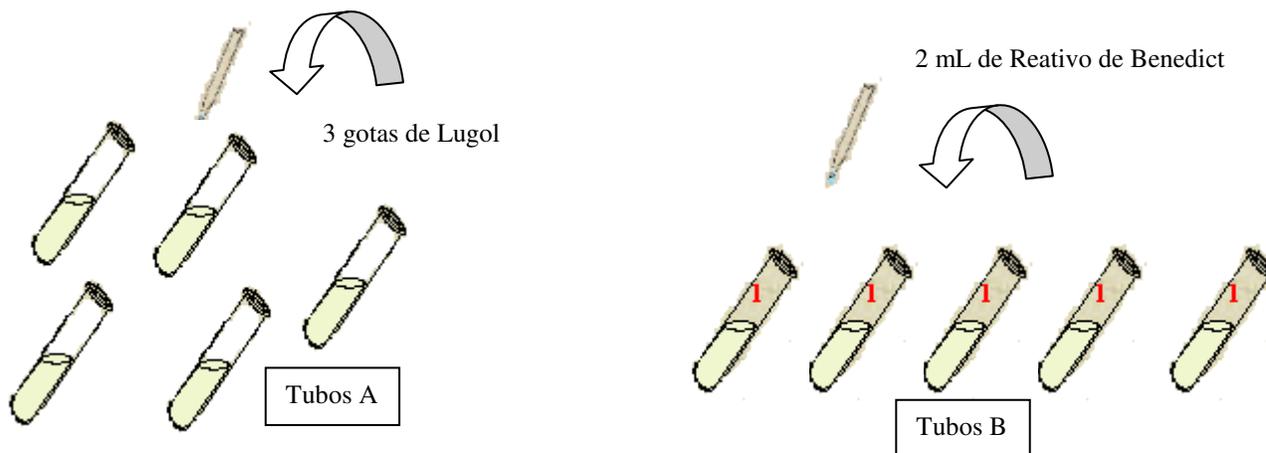
- Demonstrar que um polissacarídeo (amido) pode ser hidrolisado com a produção de açúcares redutores;
- Verificar os dois tipos de catálise: ácida e enzimática (amilase salivar).

Materiais e Reagentes:

- Solução de amido a 1%;
- Solução de lugol;
- Reativo de Benedict;
- HCl concentrado
- Solução de NaCl 5 mM
- 1 Beker 1000 ml;
- 20 Tubos de ensaio;
- 1 Estante p/ tubos de ensaio;
- 1 Bico de gás;
- 1 Tela de amianto;
- 1 Tripé;
- 3 Pipetas de 2 ml;
- Pipetas de 2 ml (próximas aos reagentes);
- 2 Proveta de 25 ml;
- 2 Erlenmeyer de 100;
- 1 Grade para tubos de ensaio;
- Banho-maria;
- Conta-gotas (próximo aos reagentes);
- 2 Pêras.

Procedimento:**Hidrólise ácida (Grupos 1 e 3)**

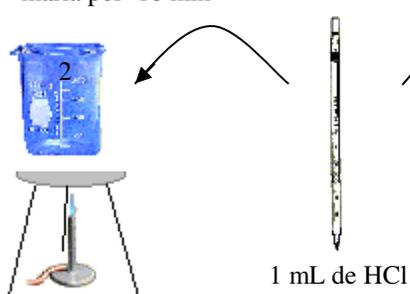
§ Colocar em 5 tubos de ensaio (de 1A a 5A) 3 gotas de lugol e, em outros 5 tubos (1B a 5B), 2 ml do reativo de Benedict;



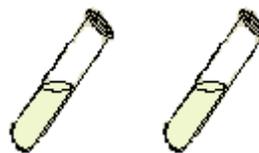
§ Colocar 25 ml de solução de amido em um erlenmeyer de 100 ml. Deixar em banho-maria fervente por 10 minutos para homogeneizar a temperatura;

Adicionar à solução de amido em ebulição, 1 ml de ácido clorídrico concentrado (**CUIDADO: utilizar a pêra para pipetar o ácido**);

25 mL de sol. de amido banho-maria por 10 min



0,5 mL p/ 1A e 1B



Tubos 1A a 5A em banho-maria por 3 min



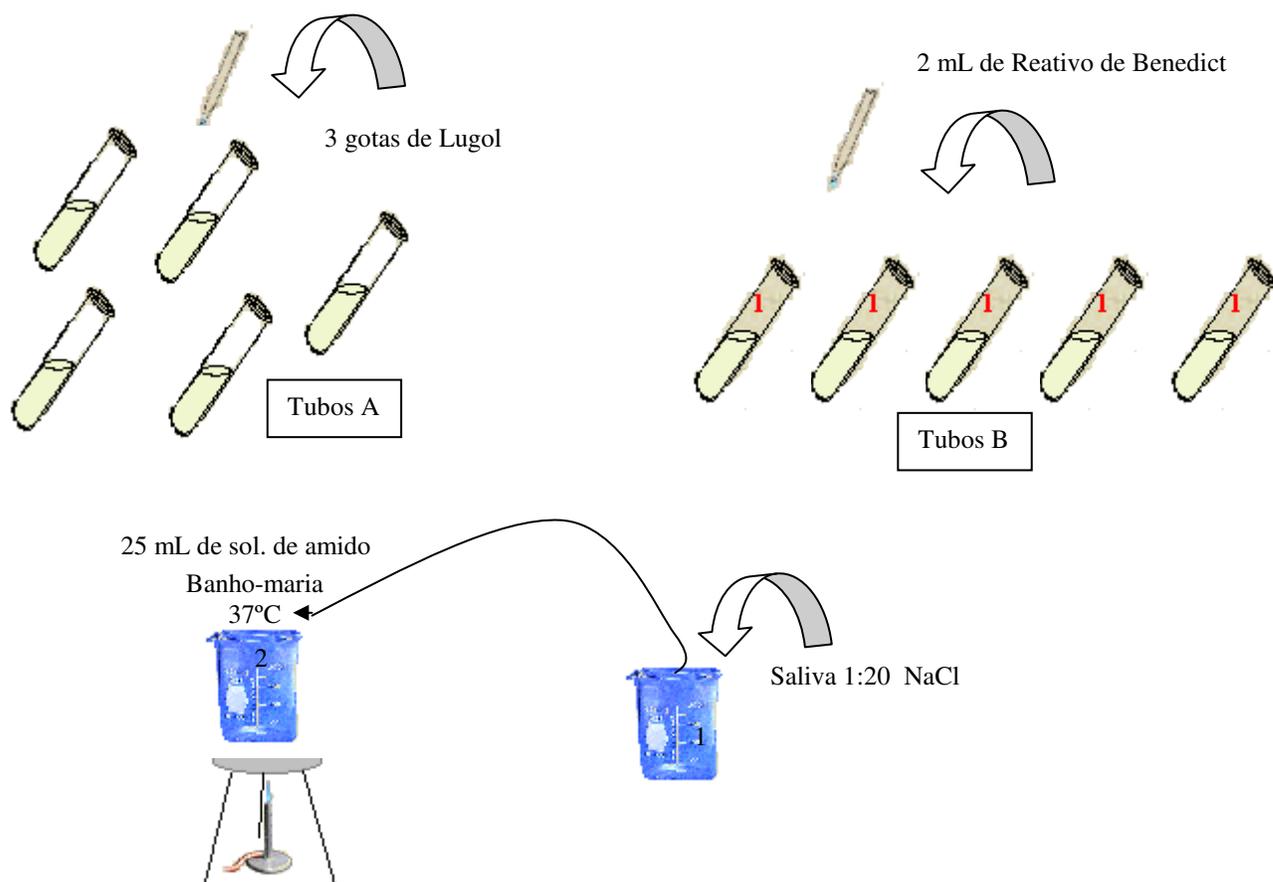
§ Misturar e retirar imediatamente 1 ml da mistura, transferindo 0,5 ml para o tubo 1A e 0,5 ml para o tubo 1B. Manter o erlenmeyer sempre em banho-maria fervente;

§ Aos 5 minutos repetir o passo anterior com os tubos 2A e 2B e assim por diante, aos 10, 20 e 40 minutos de reação, com os tubos 3A/3B, 4A/4B e 5A/5B, respectivamente;

§ Colocar então, os tubos de 1A a 5A em banho-maria fervente por 3 minutos e observar o aparecimento da coloração vermelho-tijolo.

Hidrólise enzimática (Grupos 2 e 4)

- § Preparar os tubos de ensaio conforme item 1 do procedimento anterior;
- § Coletar saliva (mistura de 2 ou 3 doadores) diluída em 1:20 vezes com NaCl 5mM;
- § Colocar 25 ml da solução de amido a 1% em um erlenmeyer de 100 ml. Deixar em banho-maria a 37°C por 10 minutos;
- § Adicionar à solução de amido do erlenmeyer 1 ml de saliva diluída;



- § Agitar e retirar imediatamente 1 ml da mistura, distribuindo 0,5 ml para um dos tubos contendo lugol e 0,5 ml para um dos tubos contendo o Reagente de Benedict;
- § A partir daqui repetir o procedimento anterior do item 5 em diante.

Resultados

A - Hidrólise ácida do amido: Interpretar os resultados de cada teste em função da evolução das cores obtidas com o tempo;

B - Hidrólise enzimática do amido: interpretar os resultados de cada teste em função da evolução das cores com o tempo.

Sugestões para o relatório:

§ Se uma amostra de amido for tratada com α -amilase por um longo período de tempo, o teste de Benedict dará resultado positivo? Justifique sua resposta.

§ Quais a principal diferença entre as hidrólises ácida e enzimática?

Experimento 12 – Caracterização de carboidratos

Assunto: Carboidratos

Objetivos:

§ Entender o mecanismo de solubilização do amido

§ Caracterizar o amido como um polissacarídeo

§ Caracterizar os monômeros do amido.

§ Entender a interação do amido com o iodo.

Materiais:

§ filtros de papel

§ solução de amido preparada no Experimento 5

§ 4 tubos de ensaio

§ 3 pipetas graduadas

§ solução de amido

§ ácido sulfúrico concentrado – **CUIDADO – corrosivo**

§ béquer pequeno

§ bastão de vidro

§ Reativo de Molisch (α -naftol)

§ Solução de lugol

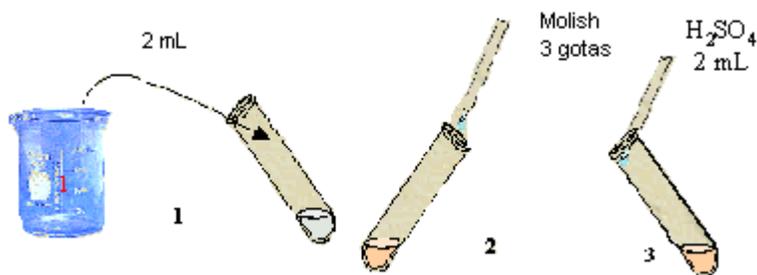
§ Solução saturada de Sulfato de Amônio

§ Álcool etílico absoluto

Procedimentos:

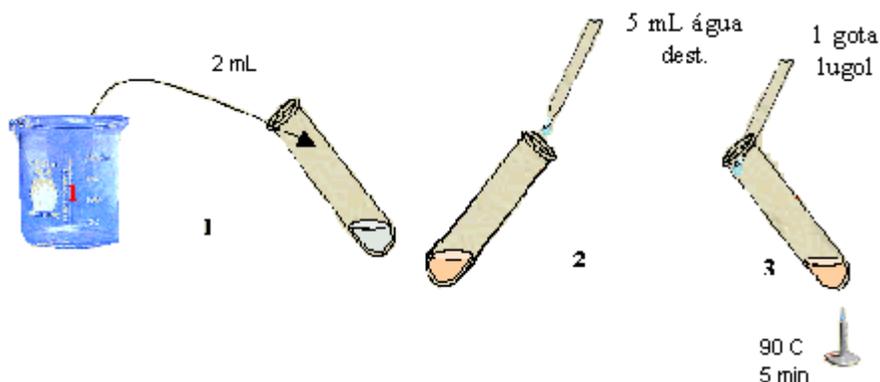
- Reação de Molisch:

1. transferir 2 mL de solução de amido para o tubo 1 (sem agitar; evitar transferir o precipitado)
2. adicionar 3 gotas do reativo de Molisch e misturar bem
3. adicionar ao tubo 1, 2mL de ácido sulfúrico concentrado, fazendo-o escorrer pela parede do tubo (CUIDADO: material **corrosivo**)
4. registrar o ocorrido.



- Reação com o Iodo:

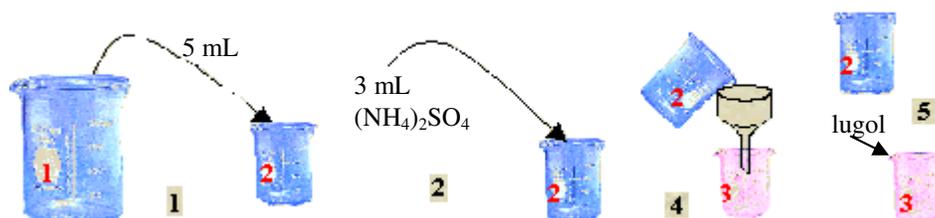
1. transferir 2 mL da solução de amido para o tubo 2
2. Adicionar 5mL de água destilada
3. adicionar uma gota de lugol
4. aquecer o tubo 2 a 90°C por 5min e observar alterações



- Reação de Precipitação (I)

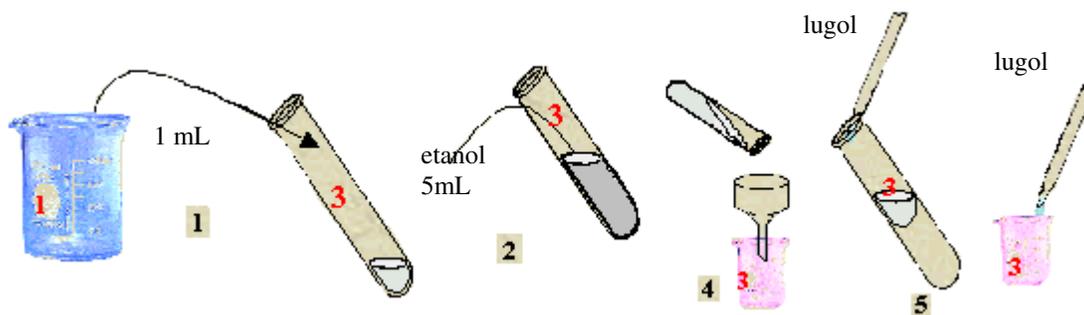
1. transferir para o béquer pequeno 5 mL da solução de amido (sem agitar).

2. adicionar 3 mL de solução de Sulfato de Amônio ao béquer, agitando.
3. deixar o material em repouso por 10 minutos.
4. filtrar a solução deixando o precipitado no béquer.
5. adicionar 1 gota de lugol ao filtrado e ao precipitado 6. Registrar o ocorrido.



- **Reação de precipitação (II)**

1. transferir 1 mL da solução de amido para o tubo de ensaio 3.
2. acrescentar 5 mL de Álcool Etílico, agitando.
3. filtrar e acrescentar lugol ao filtrado e ao precipitado.



Sugestões para o relatório:

§ Explicar por que o amido, apesar de sua polaridade, pode ser de difícil solubilização em algumas condições.

§ Explicar como o amido interage com o iodo (a nível molecular) e como ocorreram as mudanças de cor observadas.

Experimento 13 – Extração de Amido

Assunto: Carboidratos

Objetivos:

§ Caracterizar a estrutura do amido e sua forma de armazenagem.

§ Identificar a influência de ambos na solubilização deste, bem como o efeito temperatura.

Materiais:

§ 1 batata média

§ 1 faca

§ papel de filtro ou gaze

§ liquidificador

§ 2 béqueres (identificados como nº 1 e nº 2) de 200 mL

§ 1 bastão de vidro

§ água fervente e água fria

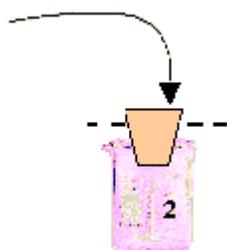
§ pipeta

Procedimento:

§ Liquidificar a batata sem casca com 100mL de água destilada (temp. ambiente) e transferi-la para o béquer 1, sem desprezar o líquido formado.



§ Filtrar o material do béquer 1 e transferir o filtrado para o béquer 2.



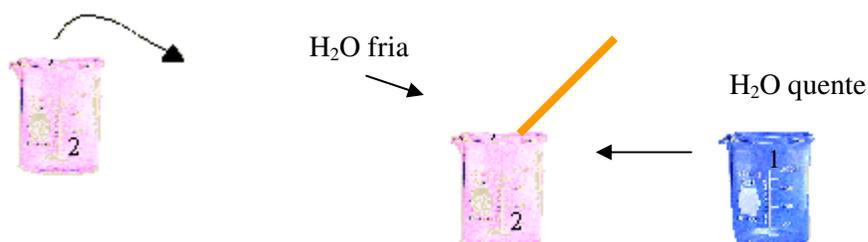
§ Deixar o béquer 2 em repouso por 10 minutos e verificar o surgimento de um precipitado branco no fundo do béquer.

§ Limpar o béquer 1.

§ Ferver 150 mL de água destilada no béquer 1.

§ Separar cuidadosamente o sobrenadante do precipitado do béquer 2.

§ Ao precipitado adicionar 50 mL da água fria e agitar. Misturar à água do béquer 1 até a formação de uma solução opalescente. Observar e anotar.



Sugestões para o relatório:

§ Explicar os motivos para a precipitação e solubilização do amido em água com a variação da temperatura.

§ Correlacionar tal propriedade com a estrutura da molécula de amido

§ Explicar como seria o comportamento de outros carboidratos em função de sua estrutura.

Experimento 14 – Extração de ácidos nucleicos

Assunto: Ácidos nucleicos

Objetivos :

§ Entender como pode ser feita a separação de ácidos nucleicos com base nas suas características.

§ Verificar o comportamento de diferentes grupos de biomoléculas em diferentes soluções.

Materiais:

§ Cebola descascada

§ Papel de filtro ou gaze

§ bastão de vidro;

§ faca;

§ funil;

§ ralador ou picador ou “mixer”;

§ proveta graduada;

§ béquers de 250ml;

§ Cloreto de sódio, (10g - aprox. 2 colheres peq.);

§ Detergente (aprox. 120ml)

§ Álcool etílico (gelado – à aprox. -10°C);

§ Água destilada (aprox. 120ml)

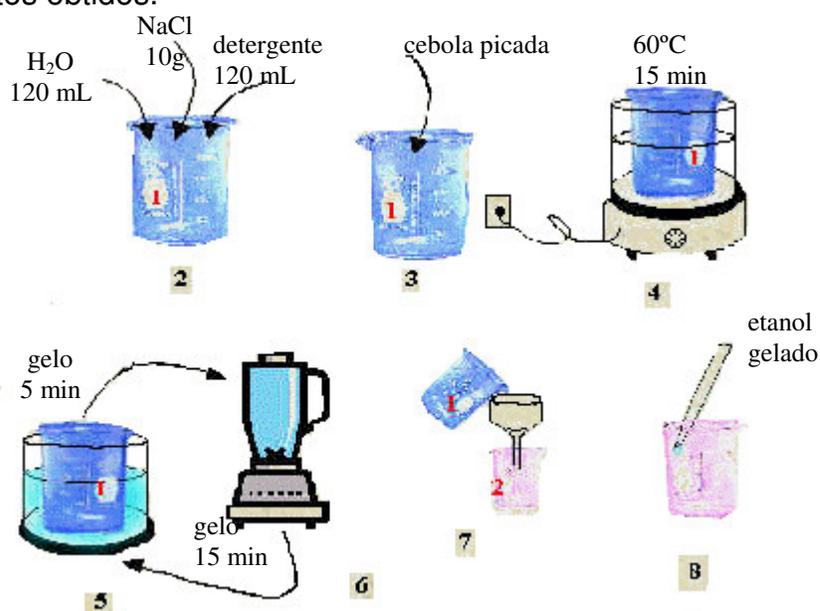
§ Banho-maria (a 60°C);

§ Cuba com gelo;

Procedimentos:

1. Pique a cebola em pedaços pequenos.
2. Coloque em um béquer o detergente, a água e o cloreto de sódio, mexendo a mistura até que os seus elementos se dissolvam completamente.
3. Adicione a esta solução a cebola picada.

4. Coloque o béquer no banho-maria a 60 °C por 15 minutos, mexendo de vez em quando.
5. Findado esse tempo aplicar um choque térmico na solução colocando o béquer no gelo por 5 minutos.
6. Triturar a cebola com a solução por 45 seg. e colocar no gelo por 15 minutos
7. Filtrar a mistura em gaze, sem deixar passar a espuma e recolhendo o filtrado em um béquer limpo.
8. Adicione ao filtrado álcool etílico gelado, deixando-o escorrer pela parede do béquer;
9. Verifique a formação de duas fases e o surgimento de fios viscosos de DNA.
10. Mergulhe o bastão de vidro e, com movimento circular em um único sentido, entre as duas fases e enrole os filamentos obtidos.
11. Registre o ocorrido.



Sugestões para o relatório:

§ Explicar a importância de cada etapa do procedimento e o comportamento dos diversos tipos de biomoléculas encontradas.

§ Explicar por que o DNA pode ser visualizado.

Experimento 15 – Caracterização de Lipídios

Assunto: Lipídios

Objetivos :

§ Compreender as propriedades dos triacilgliceróis e como elas influenciam sua solubilização.

§ Analisar a composição desses lipídios através de reações de saponificação e precipitação.

Materiais e Reagentes:

§ ovo (1 p/ cada grupo);

§ óleo de cozinha (1 mL para cada grupo – 10mL para a turma toda)

§ Filtro de papel.

§ 3 béquers de 50 ml cada;

§ 1 Placa de petri;

§ 1 funil;

§ 1 Bastão de vidro;

§ Banho-maria;

§ Ác. Acético concentrado 5 mol/L (bancada do professor);

§ 1 Tubo de ensaio com 12 mL de acetona - Tubo A;

§ 1 Tubo de ensaio com 3mL de Hidróxido de potássio alcóolico – Tubo B;

§ 1 Tubo de ensaio vazio

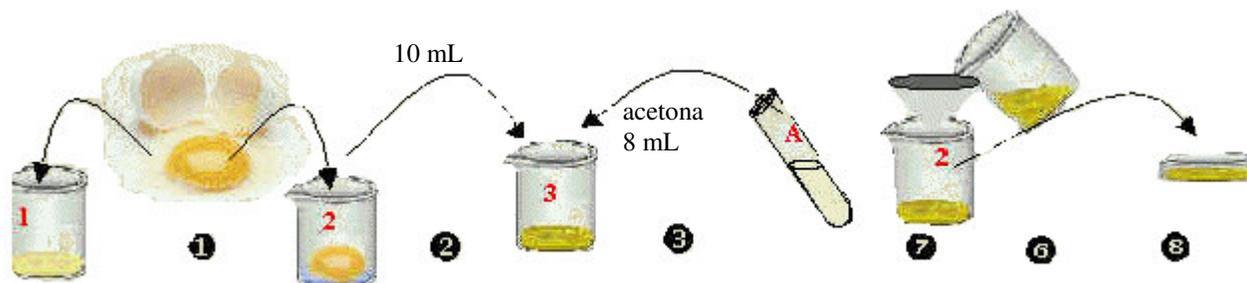
§ 1 proveta (p/ medir 10 ml)

Procedimentos:

Extração de lipídios:

1. Abrir o ovo separando o seu conteúdo em dois béqueres (clara em um, gema em outro) sem romper a membrana que envolve a gema;
2. Retirar 10 ml da gema do ovo colocando-a em outro béquer (3) (no caso da gema, evitar usar pipeta, utilizar a proveta)
3. A este recipiente adicionar 08 ml de acetona;
4. Com o bastão de vidro homogenizar a solução até a aglutinação do material;
5. Lavar o béquer 2 (que continha a gema)
6. Acomodar o filtro de papel no béquer 2 (funil) de modo a permitir a filtragem do material do béquer 3;
7. Passar mais 4mL de acetona pelo filtro;
8. Transferir todo o material filtrado para a placa de petri;

9. Colocar a placa, já com o material no banho-maria até a evaporação da acetona;
10. Registrar o ocorrido ao material em cada uma das etapas do processo.



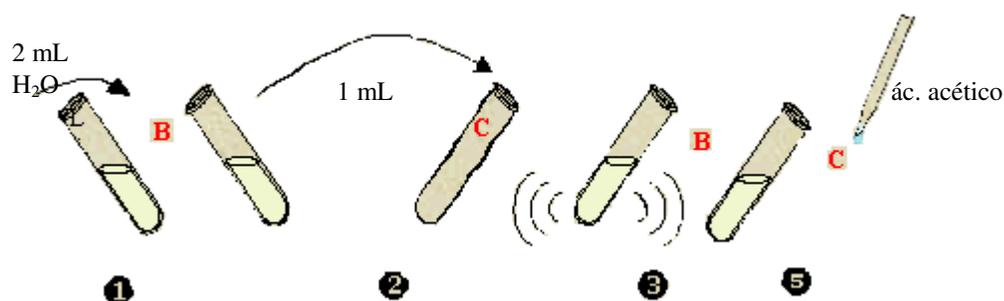
Saponificação:

1. Despejar o conteúdo do tubo B (KOH alc.) na placa de Petri
2. Retornar ao tubo B os lipídios extraídos na etapa anterior (para melhor resultado, utilizar 1 mL de óleo de cozinha). Utilizar um funil para tal transferência;
3. Aquecer o tubo a aprox. 90°C por 30 minutos;
4. Registrar os dados.



Análise de características de sabões:

1. Adicionar 2 mL de água ao Tubo B (3 ml de hidróxido de potássio);
2. Transferir 3 mL da solução do Tubo B para o Tubo C;
3. Agitar o Tubo C ;
4. Registrar o ocorrido;
5. Adicionar 2 mL de ác. Acético concentrado ao Tubo C, gota a gota;
6. Registrar o ocorrido.



Sugestões para o relatório:

- § Explicar o processo de solubilização dos lipídios.
- § Explicar o mecanismo da reação de saponificação.
- § Discutir como poderiam ser analisados os ácidos graxos.

6. LITERATURA CONSULTADA

- ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: U.F.V., 1998, 574p.
- ALFENAS, A. C., PETERS, I., BRUNE, W., PASSADOR, G. C. **Eletroforese de proteínas e isozimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: U.F.V., 1991. 242p.
- LAEMMILI, U. K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophag T4. **Nature**, London, v.227, p.680-685, 1970.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L. e COX, M.M. **Principles of Biochemistry**. New York, Worth Publishers, 1993. 1136p.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH & MANIATIS, E. F. T. **Molecular Cloning**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, Apostila da Disciplina Bioquímica Celular (s.n.t).
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA (MG). Roteiros de Aulas Práticas de Bioquímica. Departamento de química, (s.n.t).
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. **Bioquímica: aulas práticas**, 2ª Ed. Scientia et Labor, Curitiba, 1988. 116p.
- VILLELA, G.G.; BACILA, M. e TASTALDI, H. **Técnicas e Experimentos de Bioquímica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973. 503p.

Web sites recomendados

- ✓ Sociedade brasileira de bioquímica e biologia molecular - <http://www.sbbq.org.br/>

- ✓ Boa saúde – artigos sobre diabetes e outros assuntos relacionados a saúde - <http://www.boasaude.com/lib/ShowDoc.cfm?LibDocID=3647&ReturnCatID=1764>
- ✓ Livro da FAO sobre óleos e gorduras na nutrição humana - <http://www.fao.org/docrep/v4700e/V4700E00.htm#Contents>
- ✓ Tabela periódica dos elementos interativa - <http://tech-two.mit.edu/Chemicool/>
- ✓ Artigos sobre química biológica - <http://www.jbc.org/>
- ✓ Base de dados sobre segurança de produtos químicos orgânicos e inorgânicos - <http://www.inchem.org/>
- ✓ União internacional de bioquímica e biologia molecular, contendo informações sobre grupos de pesquisa, nomenclaturas em bioquímica, pós graduação, periódicos, etc. - <http://www.iubmb.unibe.ch/>
- ✓ Home page do Professor Ricardo Vieira, Farmacêutico-Bioquímico, mestre em Ciências Biológicas: Genética e Biologia Molecular, professor de Bioquímica na Universidade Federal do Pará – UFPA. Apresenta itens sobre os principais tópicos do aprendizado em bioquímica básica – <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Launchpad/9071/>
- ✓ Home page do Professor Marcelo Távora Mira da PUC Paraná contendo o material utilizado em aulas teóricas e práticas de Bioquímica Básica - segundo ano - e Bioquímica Clínica - quinto ano - <http://www.pucpr.br/disciplinas/bioquimica/Webio1.html>
- ✓ Rotas metabólicas interativas, com mapas, descrição das enzimas, substratos coenzimas, etc - <http://wit.mcs.anl.gov/WIT2/>
- ✓ Rotas metabólicas em bioquímica - <http://www.gwu.edu/~mpb/index.html>
- ✓ Tópicos em bioquímica médica e metabólica com animações - <http://www.auhs.edu/netbiochem/NetWelco.htm>
- ✓ Sociedade americana de bioquímica e biologia molecular - <http://www.faseb.org/asbmb/>
- ✓ União internacional de química pura e aplicada – IUPAC - <http://www.chem.qmw.ac.uk/iupac/index.html>
- ✓ Site diversificado sobre o ensino da bioquímica alimentado pela Unicamp e pela USP - <http://www.unicamp.br/ib/bioquimica/ensino/index.html>
- ✓ Site sobre fotossíntese - <http://www.alga.cz/links-t.htm>