

=====

DOSAGEM DE PROTEÍNAS - CURVA PADRÃO BIURETO

=====

Introdução

Como já é do seu conhecimento, proteínas são biopolímeros de alto peso molecular, constituídos de L-aminoácidos unidos por ligações peptídicas. Quando se adiciona o reagente de biureto (Cu^{2+} em meio alcalino) a uma solução proteica, os grupos $-\text{NH}$ das ligações peptídicas formam complexo com esse cátion, apresentando coloração azul-púrpura, com pico máximo de absorção eletromagnética na região próxima a 540 nm. Quanto maior o número de ligações peptídicas, maior a quantidade de complexos e maior a intensidade de coloração. A **ABSORBÂNCIA** será proporcional, desse modo, à quantidade de proteína presente.

Nos experimentos de análise quantitativa precisamos construir, previa e cuidadosamente, uma curva padrão para se conhecer o fator de proporcionalidade entre as variáveis dependente e independente, no caso o valor da absorbância, A , (dependente) e a concentração da solução de proteína em mg/mL (independente) que foi submetida à complexação com Cu^{2+} . É isso o que faremos hoje.

Material

- i. 2 mL solução de colágeno com concentração desconhecida (solução-problema) a ser usada APÓS a construção da curva padrão;
- ii. 5 mL solução padrão colágeno concentração 20mg/mL;
- iii. 100 mL reagente de Biureto;
- iv. pisseta com água destilada
- v. 15 tubos de ensaio
- vi. 2 pipetas de 1 mL e 1 pipeta de 5 mL
- vii. 1 pera

Procedimento

Enumerar 11 tubos de ensaio e pipetar (nessa ordem)

1° água	2° reagente biureto	3° solução de colágeno 20 mg/mL
---------	---------------------	---------------------------------

obedecendo as quantidades apresentadas na tabela abaixo. MISTURE BEM. Após 5 minutos em repouso, determine os valores de absorbância no espectrofotômetro/colorímetro no comprimento de onda de 540 nm. Trace a curva padrão no papel milimetrado e estime o coeficiente angular (para o relatório, determine a

equação da reta que melhor descreve os pontos experimentais $y=ax+b$, onde y = absorvância, x = concentração de proteína, a = coeficiente angular e b = coeficiente linear).

tubo número	água (mL)	reag biureto (mL)	colágeno 20 mg/mL (mL)	ABSORBÂNCIA
1	1	4	0	
2	0.9	4	0.1	
3	0.8	4	0.2	
4	0.7	4	0.3	
5	0.6	4	0.4	
6	0.5	4	0.5	
7	0.4	4	0.6	
8	0.3	4	0.7	
9	0.2	4	0.8	
10	0.1	4	0.9	
11	0	4	1	

COM A CURVA PADRÃO DESCUBRA A CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO PROBLEMA.