

# LOT2005 - Bioquímica Experimental I

## Experimental Biochemistry I

Créditos-aula: 2

Créditos-trabalho: 0

Carga horária: 30 h

Ativação: 01/01/2016

Departamento: Biotecnologia

Curso (semestre ideal): EB (4)

## Objetivos

Desenvolver o aprendizado teórico e prático da bioquímica através da execução de práticas de laboratório bioquímico.

## Docente(s) Responsável(eis)

427823 - Adriane Maria Ferreira Milagres

## Programa resumido

Soluções tampão, aminoácidos (reação com ninhidrina, varredura de espectro e curva de titulação), cromatografia em papel de aminoácidos e açúcares, proteínas (separação e caracterização), enzimas (efeito do tempo e da temperatura; concentração de substrato e inibição), dosagem de glicídios redutores e caracterização do amido.

*Buffer solutions, amino acids (reaction with ninhydrin, light absorption spectra of the amino acids and titration curve), paper chromatography of amino acid and sugars, proteins (separation and characterization), enzymes (effect of time and temperature; substrate concentration and inhibition), dosage of reducing sugars and starch characterization.*

## Programa

1. Soluções tampão: curvas de titulação obtidas a partir de observações experimentais ou pelo uso da Equação de Henderson- Hasselbalch.
2. Aminoácidos: reação com ninhidrina e curva de titulação; reações para alfa-aminoácidos com ninhidrina; propriedades anfotéricas de aminoácidos e curvas de titulação; determinação de pK e PI; titulação em presença de formaldeído e efeito sobre os pKs.
3. Varredura de espectro: escolha do comprimento de onda ideal para dosagens fotométricas; relação absorbância e concentração; varredura de espectro de aminoácidos.
4. Cromatografia em papel de aminoácidos e açúcares: fundamentos físico, análise das fases envolvidas, escolha do solvente, solubilidade relativa dos componentes da amostra entre as duas fases, determinação de Rf; mecanismo da cromatografia em papel e cromatografia mono e bidimensional; adequação do uso, vantagens de cada tipo, fundamento químico das revelações de aminoácidos e proteínas.
5. Proteínas : separação e caracterização; dosagem e curva de proteína pelo método de Biureto; fundamento químico; obtenção da curva e aplicação prática da curva; determinação da

solubilidade de proteínas em função do pH e da força iônica.

6. Enzimas: efeito do tempo e da temperatura.

7. Mecanismo da ação enzimática: produtos de reação e influência do tempo, curva de progresso, traçado e análise da curva, conceito de velocidade inicial, influência da temperatura, aplicação da equação de Arrhenius, conceito de energia de ativação (traçado e análise da curva).

8. Enzimas: concentração de substrato e inibição; influência da concentração de substrato: constante de Michaelis, determinação prática, relação  $K_m$  versus afinidade enzima substrato; influência de inibidor competitivo na cinética enzimática; caracterização prática da inibição competitiva e determinação da constante de inibição. 9. Dosagem de glicídios redutores e caracterização do amido: dosagem e curva padrão de glicídeos redutores pelo método do ácido 3,5-dinitro salicílico; reação de amido com iodo.

*1. Buffer solutions: titration of weak acids: the Henderson Hasselbalch Equation.*

*2. Amino acids: reaction with ninhydrin and titration curve; reactions for alpha-amino acids with ninhydrin; amino acids and titration curves amphoteric properties; Demonstration that pI is the average of the pKa values of the carboxylic acid and amino groups; titration in the presence of formaldehyde and effect on the pks.*

*3. Scanning spectrophotometry: selection of the optimal wavelength for photometric dosages; absorbance and concentration; amino acids absorption spectrum.*

*4. Paper chromatography of amino acids and sugars: selection of solvent, relative solubility of the sample components between the two phases,  $R_f$  determination; mechanism of the mono and two-dimensional paper chromatography.*

*5. Proteins: separation and characterization; Determination of protein concentration: Biuret test; proteins solubility as function of pH and ionic strength.*

*6. Enzymes: analysis of time and temperature.*

*7. Mechanism of enzymatic action: Determination of initial reaction rates and principal kinetic parameters, temperature influence, application of Arrhenius equation, concept of activation energy (curve graphic analysis).*

*8. Enzymes: substrate concentration. Enzyme inhibition mechanisms; substrate concentration influence: testing Michaelis-Menten equation, significance of  $k_m$  and  $K_{cat}$ ; influence of competitive inhibitor on enzymatic kinetics; practical characterization of competitive inhibition and determination of inhibition constant.*

*9. Dosage of reducing sugars and starch characterization; testing the standard curve of reducing sugars by the 3,5-dinitrosalicylic acid method; reaction of starch with iodine.*

## **Avaliação**

**Método:** A Avaliação será realizada por meio de testes (T), relatórios (R) e 1 prova escrita (E).

**Critério:** A média final será calculada segundo a equação abaixo : Média final =  $0,5 (T + R) + 0,5 P$

**Norma de recuperação:** A recuperação será feita por meio de prova escrita (PR) e a média final (MF) será calculada pela equação:  $MF = (NF + PR)/2$ .

## **Bibliografia**

1. VOET, D., VOET, J. G., PRATT, C.W. Fundamentos de Bioquímica, Porto Alegre: Editora Artmed, 2000.

2. LEHNINGER, A.L.; NELSON, O.L.; COX, M.M. Princípios de bioquímica, 5 ed. Porto

Alegre: Artmed editora, 2011.

3. COHN, E.E., STUMPF, P.K. Introdução à Bioquímica, São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 1963.

4. SEGEL, I.H. Bioquímica Teoria e Problemas, São Paulo: Livros técnicos e Científicos Editora S.A, 1979.

5. ARAÚJO, J.M. Química de Alimentos - Teoria e Prática, Viçosa: Editora UFV, 2004

## **Requisitos**

LOT2007 - Bioquímica I (Indicação de Conjunto)