

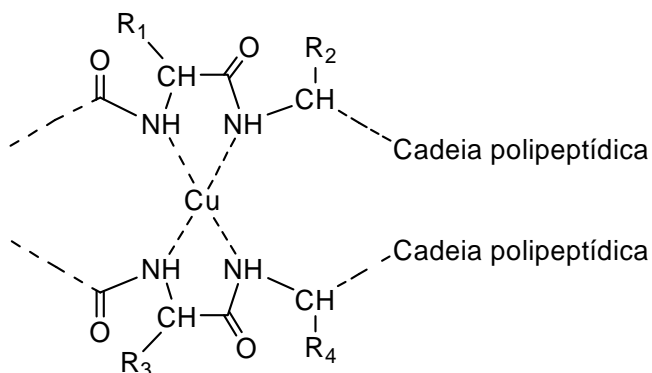
# **DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PROTEÍNAS EM CERVEJA**

(PELA REAÇÃO DO BIURETO)

## **1. INTRODUÇÃO**

Entre os vários métodos para dosagem de proteína total destaca-se o método do biureto, o qual se baseia na reação do reativo de biureto, que é uma mistura de íons  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  e tartarato de sódio, sendo esse último um complexante que estabiliza íons  $\text{Cu}^{2+}$  em solução (L. Sodek et al, *Ciência e Cultura*, 1976, 28(11), 1341-1343), (A. G. Gornall et al, *J. Biol. Chem.*, 1949, 177, 751-766). Em meio alcalino o íon  $\text{Cu}^{2+}$  reage com proteínas formando um complexo quadrado planar com a ligação peptídica. O produto da reação na fase solúvel apresenta duas bandas de absorção, com máximos em 270 nm e 540 nm. Apesar de o primeiro máximo ser cerca de seis vezes mais sensível, o segundo é o mais utilizado para fins analíticos, pois diversas substâncias, normalmente presentes na maioria dos meios analisados, absorvem na região do ultravioleta causando interferências. (R. B. Ferreira et al, *Ecl. Quim.*, 2007, 32(1), 43-48)

A reação é positiva para peptídeos constituídos de no mínimo de três aminoácidos. Tal complexação também ocorre com o biureto ( $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ), daí o nome da reação.



**Complexo de cor violeta (púrpura)**

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Equipamentos e Vidrarias:

- Espectrofotômetro,
- Estante com 8 tubos de ensaio,
- 3 pipetas graduadas de 5 mL,
- 1 pipeta volumétrica de 1mL.

### Reagentes:

#### Reagente de biureto

Pesar 1,5 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e 6g de tartarato duplo de sódio e potássio, dissolvê-los em água destilada completando o volume a aproximadamente 500 ml. Juntar, sob agitação, 300 mL de NaOH 10% e completar a 1 litro.

#### Padrão de proteína (caseína) - (3 mg/mL)

Dissolver 1,5 g de caseína em 500 mL de NaOH 0,1 M.

## 3. PROCEDIMENTO ANALÍTICO

1. Em 7 tubos de ensaio, enumerados de 0 a 7, pipetar os componentes conforme o quadro abaixo.
2. Após a adição do reagente de biureto, agitar os tubos e deixar em repouso por 30 minutos. A coloração púrpura formada é indicativa da presença de proteínas.
3. Fazer leitura de transmitância em 540 nm no espectrofotômetro e converter os valores obtidos em absorbância.
5. Com os dados obtidos dos tubos 0 a 5, fazer um gráfico contendo no eixo Y os valores de absorbância e no eixo X as concentrações de caseína expressas em mg/tubo.
6. Interpolar o valor de Absorbância da amostra de cerveja e calcular a concentração de proteína, expressando o valor em mg/100mL de cerveja.

Tubo (N <sup>o</sup> )	Água Destilada (mL)	Solução caseína (ml)	Caseína (mg/tubo)	Reativo de biureto (mL)	T(%) 540nm	A 540 nm
0	4,0	0,0		5,0		
1	3,5	0,5		5,0		
2	3,0	1,0		5,0		
3	2,5	1,5		5,0		
4	2,0	2,0		5,0		
5	1,5	2,5		5,0		
6	3,5	0,5 mL cerveja		5,0		
7	3,0	1,0 mL cerveja		5,0		

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Completar tabela;
2. Gráfico com os valores de absorvância (y) e concentração (x);
3. Determinar o valor da concentração de proteína através do gráfico e dar o resultado em mg/100mL de cerveja;
4. Compare o valor obtido com o valor publicado na literatura. É a cerveja uma boa fonte protéica? Quantas latas de cerveja deveremos ingerir para suprir a quantidade diária de proteína necessária para uma dieta saudável? Considere a cerveja sua única fonte protéica. Considere que um adulto necessita de 0,8 g de proteína por kg de massa corporal.

#### 5. BIBLIOGRAFIA

1. A. G. Gornall, C. J. Baradawill, M. M. David, Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 1949, 177, 751-766;
2. R. F. Itzhaki, D. M. Gill, *Anal. Biochem.*, 1964, 9(4), 401;
3. Carvalho, H. H. e Jong, E. V., et al, Alimentos: Métodos Físicos e Químicos de Análise, Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.