



CTeSP, ANÁLISES LABORATORIAIS

Técnicas de Bioquímica



Componente Prática



CTeSP, ANÁLISES LABORATORIAIS

Técnicas de Bioquímica

Identificação e Hidrólise de polissacarídeos

Palavras chave (Caderno Laboratório): propriedades dos polissacarídeos; importância

INTRODUÇÃO

O amido é um polissacarídeo formado da união de várias moléculas de glicose por meio das ligações glicosídicas. Amido é formado por moléculas de alfa-Dglicose. O amido é uma mistura de dois polissacarídeos: o amido solúvel, ou Amilose, possui apenas cadeias lineares de glicose unidas em ponte alfa-osídicas 1:4. Cadeias de alfa-D-glicose costumam enrolar-se em espiral, formando essa estrutura helicoidal na qual as hidroxilas estão voltadas para o exterior. Estrutura helicoidal característica da amilose. O lugol cora o amido porque o iodo fica preso no interior dessas hélices. Amilopectina corresponde ao amido ramificado, o segundo componente dos grãos de amido. Ramificações surgem sempre que são montadas pontes osídicas 1:6.

Nos carboidratos complexos ramificados (amilopectina), os pontos de ramificação (pontes 1:6) dão origem a cadeias laterais cujas extremidades são não redutoras. Durante o processo de digestão, a alfa-amilase quebra as pontes osídicas 1:4, mas não as 1:6, resultando numa estrutura bastante ramificada chamada dextrina-limite. Somente a amilo-1:6 glicosidase (enzima desramificadora) é capaz de hidrolisar essas pontes 1:6, permitindo a completa digestão da amilopectina. Quimicamente, a hidrólise também pode ser desencadeada pela ação de ácidos fortes. O iodo metálico presente no lugol forma complexos com a cadeia de alfaamilose do amido que é um polissacarídeo formado um composto de cor roxo a azulado.

OBJECTIVO DO TRABALHO

Identificar a presença do amido pela formação de complexos com iodo presente no reativo de lugol.

Realizar a hidrolise química e enzimática do amido

REAGENTES

Solução de Lugol

Solução de amido 1% (Pesar 1 g de amido e transferir para matraz de 250 mL, adicionar cerca de 15 mL de água para formar uma pasta. Acrescentar água fervente suficiente para completar 100 mL mantendo em ebulição até resultar uma **solução** transparente.)

Solução de HCl 1:2

Solução salina a 0,95%

Solução de saliva: secretar 5ml de saliva num tubo de ensaio adicionar 5ml de água salina e misturar

MATERIAL

Pipetas de vidro de 1mL e 5 mL

Tubos de ensaio

Erlenmeyer

Proveta

PROCEDIMENTO – Identificação da presença de amido

- 1) Num tubo de ensaio identificado colocar 1 mL de solução de amido e em outro 1 mL de água destilada.
- 2) Adicionar 5 gotas de lugol e observar os resultados
- 3) Testar a presença em vários alimentos: bolacha, pão, etc

PROCEDIMENTO – Hidrólise química e enzimática do amido

a) Hidrólise química do amido

- 1) Rotular um erlenmeyer para a análise enzimática (amido+HCl)
- 2) Adicionar, com auxílio de uma proveta, 3ml da solução de amido a 1%
- 3) Acrescentar 3ml de HCl (1:1)
- 4) Rotular três tubos de ensaio em HQ1, HQ2 e HQ3.
- 5) No tubo de ensaio rotulado em HQ1, pipetar uma alíquota de 2 ml da mistura amido e ácido e deixar em banho de gelo.
- 6) No tubo de ensaio rotulado em HQ2 pipetar uma alíquota de 2 ml da mistura amido e ácido, deixar em temperatura ambiente pelo tempo 10' e depois levar para o banho de gelo.
- 7) No tubo de ensaio rotulado em HQ3 pipetar uma alíquota de 2 ml da mistura amido e ácido, deixar em temperatura ambiente pelo tempo 20' e depois levar para o banho de gelo.
- 8) Retirar os tubos de banho de gelo
- 9) Quando todos os tubos estiverem em temperatura ambiente adicionar 10 gotas de sol. de lugol em cada tubo.

b) Hidrólise enzimática do amido

- 1) Rotular um erlenmeyer para a análise enzimática (amido+sol. saliva)
- 2) Adicionar, com auxílio de uma proveta, 3ml da solução de amido a 1%
- 3) Acrescentar 3ml de sol. de saliva a 1%;
- 4) Rotular três tubos de ensaio em HE1, HE2 e HE3.
- 5) No tubo de ensaio rotulado em HE1, pipetar uma alíquota de 2ml da mistura amido e saliva e deixar em banho de gelo.

6) No tubo de ensaio rotulado em HE2 pipetar uma alíquota de 2ml da mistura amido e saliva, deixar em temperatura ambiente pelo tempo 10' e depois levar para o banho de gelo.

7) No tubo de ensaio rotulado em HE3 pipetar uma alíquota de 2ml da mistura amido e saliva, deixar em temperatura ambiente pelo tempo 20' e depois levar para o banho de gelo.

8) Retirar os tubos de banho de gelo

9) Quando todos os tubos estiverem em temperatura ambiente adicionar 10 gotas de sol. de lugol em cada tubo.

Questões

- 1) Explique os resultados obtidos abordando a influência do tempo, temperatura e pH na hidrólise
- 2) Onde ocorreu a perda da atividade enzimática? Qual a razão?