



Instituto Federal Catarinense
Campus Concórdia
Engenharia de Alimentos

ERICKA VON BIVENICZKO PEZZIN

MARIA EDUARDA MOREIRA BIGATON

MARIA GIULIA LANGONE STEFANELLO

RELATÓRIO REFERENTE A AULAS PRÁTICAS DE BIOQUÍMICA I

Concórdia

2022

1 INTRODUÇÃO

O alimento é essencial para garantir o funcionamento adequado do corpo, sendo sua principal fonte de energia. Ele é responsável por regular os processos do corpo, como as reações bioquímicas, já que contém proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas, minerais e água, onde todos esses nutrientes são fundamentais à saúde, e trabalham juntos para manter o corpo com o funcionamento (RIBEIRO, 2004).

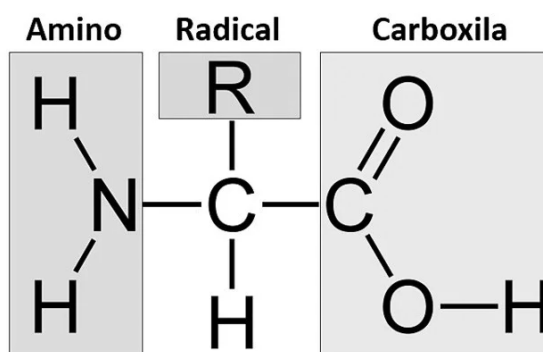
A respeito das proteínas, as quais serão o foco do relatório, são constituintes de células e estão presentes em todos os corpos vivos. É encontrada em carne bovina, peixes, aves, queijos, leite, são alguns exemplos. (RIBEIRO, 2004).

Essas são grandes moléculas biológicas compostas de aminoácidos, onde tem na sua estrutura: carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio (Figura 1) (RIBEIRO, 2004).

Nas moléculas protéicas os aminoácidos se ligam covalentemente, formando longas cadeias não ramificadas, através de ligações peptídicas envolvendo o radical amino (-NH₂) de um aminoácido e o radical ácido carboxílico (-COOH) de um outro, havendo a liberação de uma molécula de água durante a reação.

A união entre dois aminoácidos, forma um dipeptídeo, assim como três unem-se formando um tripeptídeo e assim sucessivamente, sendo que a união de vários aminoácidos irá dar origem a uma cadeia polipeptídica (AMINOÁCIDOS... 2017).

Figura 1 - Estrutura básica de um aminoácido



Fonte - MAGALHÃES, 2022

2.1 CARACTERIZAÇÃO DE AMINOÁCIDOS

Para realizar a determinação qualitativa de proteínas, há inúmeras substâncias capazes de reagir com elas, resultando em produtos coloridos. Nesse sentido, existem reações específicas para certos grupos funcionais, ou reações gerais que caracterizam grupamentos que sejam comuns a todas as proteínas. Destas reações gerais, serão utilizadas nesta aula prática a reação de Biureto, acetato de chumbo em meio alcalino, xantoprotéica e millon.

2.1.1 REAÇÃO DE BIURETO

Para esse experimento, primeiramente, foram utilizados 5 tubos de ensaio, contendo em cada um 2 mL de substâncias distintas, sendo no tubo 1, solução de ovoalbumina 2%, no tubo 2, solução de triptofano 1%, no tubo 3, solução de fenilalanina 1%, no tubo 4, água destilada e no último tubo, amostra 1 (pepsina).

Após o preparo da bateria de tubos, foram adicionadas em cada uma, 5 gotas do reagente biureto, em seguida, foram agitados deixando-os homogêneos. Após realizar esse processo, notou-se uma mudança de cor apenas nos tubos 1 e 5.

Essa mudança de cor ocorreu devido a reação de biureto, que se caracteriza pela formação de um complexo entre os resíduos de ligações peptídicas e o íon metálico cúprico, Cu_2 , que se encontra no reagente de biureto. (CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS VIA MÉTODO DE BIURETO COMO PROPOSTA INTERDISCIPLINAR PARA O ENSINO DE QUÍMICA DE COORDENAÇÃO, 2018). Dependendo da complexidade da proteína ou do peptídeo, a cor do produto da reação irá variar. As proteínas normalmente geram coloração violeta, enquanto peptídeos dão coloração rosa, além de que quanto maior for a quantidade de proteínas no meio, maior será a intensidade de cor, podendo ser visualizada essa reação apenas nos tubos 1 e 5, por serem aminoácidos

2.1.2 REAÇÃO DE ACETATO DE CHUMBO EM MEIO ALCALINO

Para realização deste experimento, foram utilizados 5 tubos de ensaio, devidamente identificados e sendo adicionados 2 mL de substâncias distintas em

cada um. Primeiramente, no tubo 1 foi adicionada uma solução de ovoalbumina 2%, no tubo 2 uma solução de cisteína 1%, já no tubo 3 uma solução de triptofano 1%, no tubo 4 somente água destilada, e por fim, no tubo 5 foi adicionada a pepsina 1% (amostra 1).

Em seguida, foram adicionados em cada um desses tubos 3 mL de solução de NaOH 12 N e 5 gotas de solução de acetato de chumbo. Após isso, os tubos foram levados para o banho-maria por 6 minutos, registrando os resultados posteriormente.

No tubo 1, foi exibido um líquido incolor, puxando para um tom levemente amarronzado. Já no 2, apresentou um líquido incolor transitando para uma coloração grafite. No tubo 3 e 4, o líquido ficou incolor e sem precipitado. Por fim, no tubo 5, o líquido ficou em uma coloração amarelada, com aspecto de azeite.

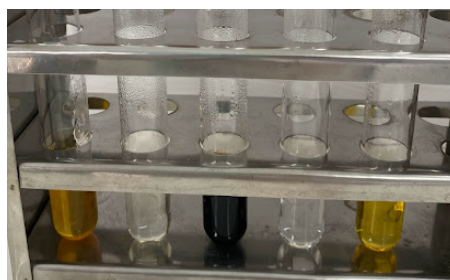
.A mudança na coloração no tubo 1, que continha a solução proteica, ocorre devido a oxidação da cisteína, aminoácido presente na albumina, que possui cadeia lateral polar, tendo em sua composição um átomo de enxofre que reage com o ácido acético e hidróxido de sódio.

2.1.3 REAÇÃO DE XANTOPROTÉICA

Para executar essa reação, foram utilizados 5 tubos de ensaio, devidamente identificados e sendo adicionados 2 mL de substâncias distintas em cada um. No tubo 1: solução de ovoalbumina 2%, no tubo 2: uma solução de fenilalanina 1%, já no tubo 3: solução de triptofano 1%, no tubo 4: água destilada, e por fim, no tubo 5 foi adicionada a pepsina 1% (amostra 1).

Após a preparação dos tubos, foram adicionadas 10 gotas de ácido nítrico concentrado em cada um e levados para fervura em banho-maria por 2 minutos. Posteriormente, os tubos foram retirados do banho e esperou-se esfriar para adicionar 2 mL da solução de NaOH 12M e misturá-las a fim de deixá-las homogêneas, registrando os resultados, como mostrado na Figura 2.

Figura 2 - Resultado da reação de biureto



Fonte - Elaborado pelas alunas

Este teste identifica a presença de aminoácidos de cadeia lateral aromática, fenilalanina, triptofano e tirosina. As proteínas que apresentam estes aminoácidos aromáticos também reagem, sofrendo primeiramente precipitação devido a desnaturação, seguida do desenvolvimento da coloração amarela. A reação consiste na nitração do anel aromático, formando o nitrocomposto amarelo. Em seguida a adição de base transforma os nitrocompostos formados em sais de coloração alaranjada (BARREIROS; BARREIROS, 2012).

2.1.4 REAÇÃO DE MILLON

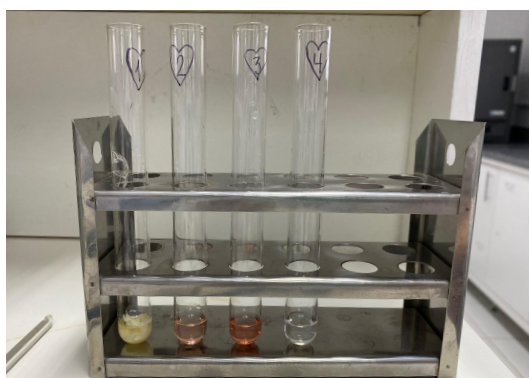
Como visto, as proteínas são substância orgânicas de elevado peso molecular formada por um grande número de aminoácidos ligados entre si por meio de ligação peptídicas, e como o reagente de millon é específico houve algumas variações devido os reagentes utilizados ((PINHEIRO *et al.*, 2012)).

Para a execução da reação de Millon foram utilizados o Reativo de Millon, solução de ovoalbumina 10% e de tirosina 1%, água destilada e solução de amostra desconhecida. Assim, os tubos foram devidamente numerados de um a quatro e então foram adicionados no tubo 1, 1 mL da solução de ovoalbumina 10%, nos tubos 2 e 3, 1 mL da solução tirosina 1%, e no tubo 4 foi adicionado 1 mL de água destilada.

Após tudo devidamente pipetado, para cada um dos quatro tubos, foram adicionadas 5 gotas de ácido Reativo de Millon (Figura 3), para então serem devidamente postos em banho-maria por um período de 10 minutos cronometrados, podendo então observar as alterações (Figura 4)

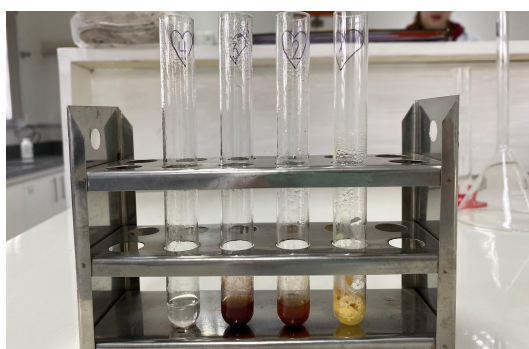
No tubo 1 com a ovoalbumina, inicialmente foi obtido um precipitado branco, que após a fervura, sua cor se alterou para uma cor terrosa, puxada para um tijolo, levemente esbranquiçada (RIBEIRO, 2004). Nos tubos 2 e 3, que possuem tirosina, observou-se a formação de um produto de coloração avermelhada, isso ocorreu devido o fato da reação ao grupo hidroxifenil da tirosina, com o mercúrio reativo a solução, adquirindo esse tom, indicando positividade da reação (SILVA 2022). E no tubo 4, que possuía somente água destilada com as 5 gotas, não ocorreu reação já que no tubo em questão não apresentava proteínas.

Figura 3 - Os tubos com reagentes e o Reativo de Millon



Fonte - Elaborado pelas alunas

Figura 4 - Após os 10 minutos em banho-maria



Fonte - Elaborado pelas alunas

2.2 CURVA DE TITULAÇÃO DE AMINOÁCIDOS

Para a realização desse experimento, foi adicionado em um erlenmeyer 20 mL de glicina, e 1,0 mL de HCl 1,0 M, e após agitar medir o pH (Figura 5), e assim ir adicionando 2 mL de NaOH 0,1 M, gradativamente até alcançar o pH 12 (Figura 6),

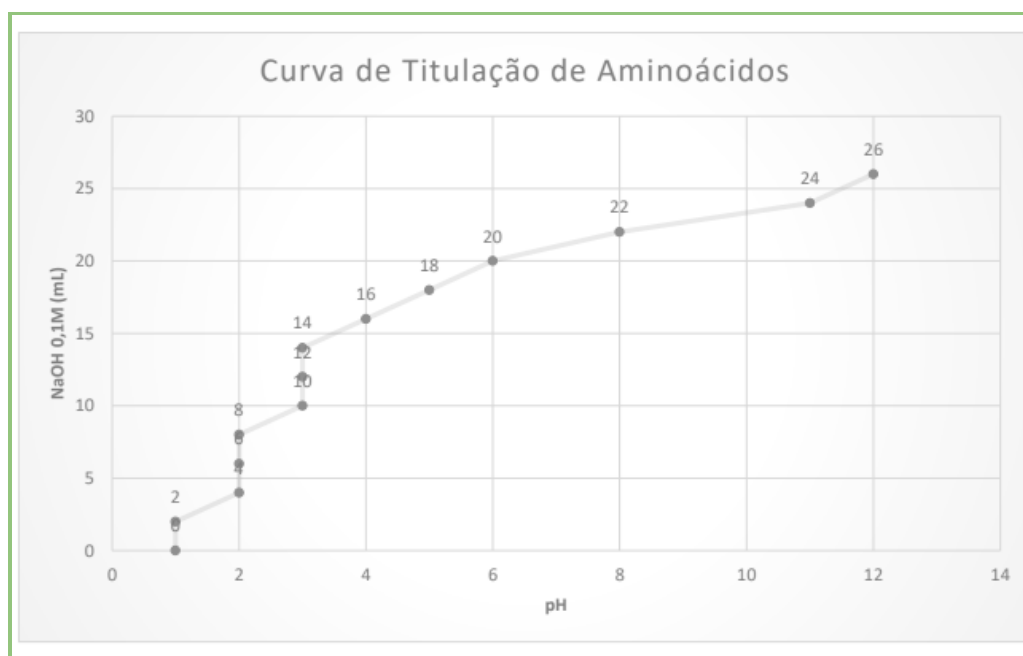
e para melhor visualização foi construído o Quadro 1 e o Gráfico 1, para conseguir ver claramente a oscilação até o pH desejado.

Quadro 1 - pH medido com diferentes concentrações de NaOH 0,1 M

pH	1	1	2	2	2	3	3	3	4	5	6	8	11	12
NaOH 0,1 M (mL)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26

Fonte - Elaborado pelas alunas

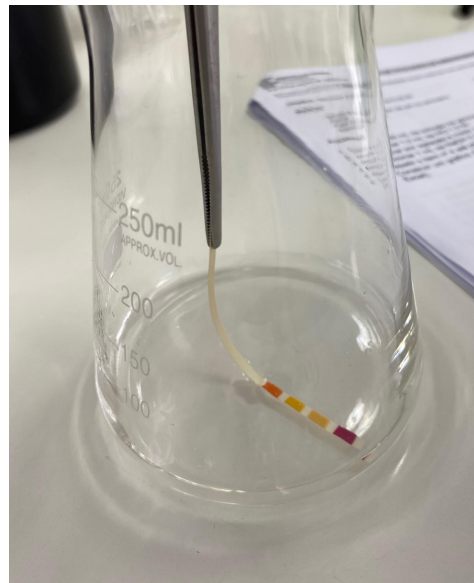
Gráfico 1 - Curva de titulação, com pH medido com diferentes concentrações de NaOH 0,1 M



Fonte - Elaborado pelas alunas

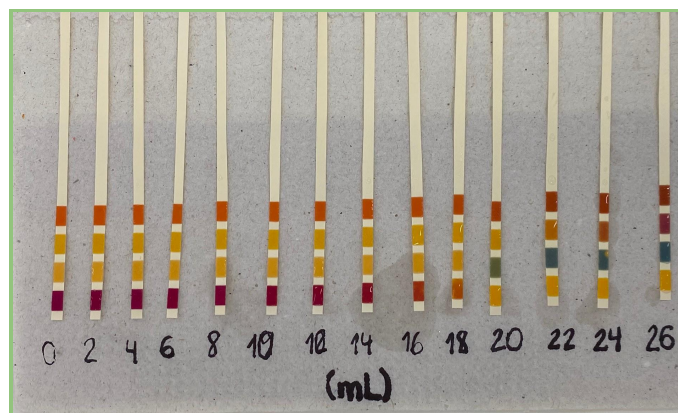
Por meio destes, ficou visível a faixa de pH em relação ao volume do NaOH 0,1 M, onde após 26 mL dessa solução, foi obtido o pH 12, podendo visualizar as propriedades ácido básicas dos aminoácidos.

Figura 5 - Primeira medição de pH com 0,0 mL de NaOH



Fonte - Organizado pelas alunas

Figura 6 - Fitas de pH com os respectivos mL de NaOH



Fonte - Organizado pelas alunas

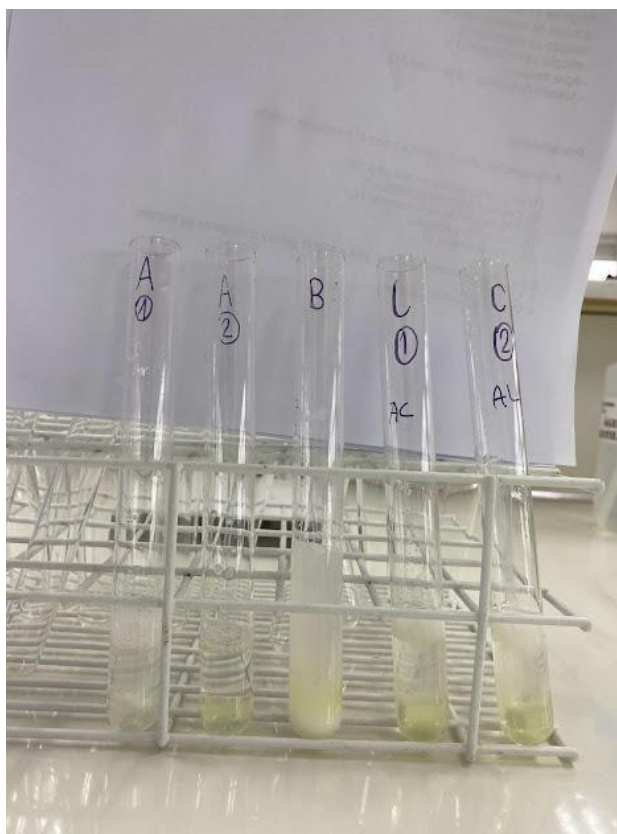
2.3 PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS

As moléculas quando submetidas à precipitação se tornam insolúveis em relação ao meio, haja vista uma perturbação das forças atrativas entre o soluto e o solvente. Além disso, a alteração no meio pode acarretar o aumento da atração entre as moléculas de soluto, as quais irão se agregar de forma mais intensa, formando um precipitado (PESSOA e KILIKIAN, 2005).

Nesse cenário, estruturas proteicas evoluíram para atuar em determinados ambientes celulares. Condições diferentes daquelas da célula podem resultar em mudanças estruturais grandes ou pequenas na proteína. Tal destruição da estrutura tridimensional pode ocasionar perda de função, o que é denominado de desnaturação (NELSON; COX, 1970).

Dessa forma, tal procedimento em aula prática teve como objetivo verificar os processos de precipitação de uma solução proteica e Ovoalbumina a 2% de acordo com fatores que podem causar a desnaturação, tais como: adição de ácidos e bases fortes, metais pesados, solventes orgânicos, aumento da temperatura e adição de sais neutros, como verificado na Figura 7.

Figura 7 - Testes de precipitação de proteínas



Fonte: Elaborado pelas autoras

2.3.1 PRECIPITAÇÃO POR ÁCIDOS E BASES FORTES

Em tubos de ensaios, denominados “A1” e “A2”, foram pipetados 1 mL de solução de ovoalbumina 2%. Em seguida, 0,5 mL de ácido clorídrico (HCl) 6

M no primeiro, e hidróxido de sódio (NaOH) 40% no segundo, classificados como ácido e base fortes respectivamente. Por fim, mais 2 mL de água destilada, com leve agitação para a análise de resultados.

Ambas situações apresentaram formação de espuma e efervescência, bem como mudança de cor e sedimentação de tom amarelado no fundo dos tubos de ensaio. Naquele em que foi adicionado HCl, houve maior turbidez. Assim, pode-se avaliar que houve a precipitação da ovoalbumina.

Logo, tal fato, em decorrência da variação de pH, com adição de ácidos e bases, altera a carga líquida da molécula, o que ocasiona repulsão eletrostática e rompimento das ligações de hidrogênio da proteína.

Quando esta ocorre abaixo do ponto isoelétrico, por meio da adição de ácidos fortes, a carga líquida total da molécula é positiva, o que facilita a interação com os ânions provenientes de ácidos. Tal fato também é válido para pontos acima do isoelétrico, com cargas de bases.

2.3.2 PRECIPITAÇÃO POR SAIS DE METAIS PESADOS

A um tubo de ensaio, foi adicionado 1 mL de solução de ovoalbumina, 0,5 mL de solução de acetato de chumbo e 5 mL de água destilada. Após o procedimento, foi observado formação de sedimentado branco no fundo, e diferença de fases com alteração de cor e turbidez, bem como leve formação de espuma.

Os cátions de metais pesados formam precipitados insolúveis de proteínas, denominados de acordo com o elemento formador. Essa precipitação é mais intensa quando o pH está acima do ponto isoelétrico (pI).

Acima do pI, a carga líquida sobre a proteína é negativa, favorecendo a interação com os cátions provenientes do sal. Quando a proteína está abaixo do seu pI, a carga líquida total da molécula é positiva.

2.3.3 AÇÃO DE SOLVENTES ORGÂNICOS

Para o terceiro momento dos testes, foi adicionados a outros dois tubos de ensaio, "C1" e "C2", dois solventes orgânicos, acetona (1 mL) e álcool (1

mL), juntamente a 1 mL de solução de ovoalbumina e 2 mL de água destilada em ambos. C1 e C2 apresentaram precipitado amarelo, e divisão em três fases. O maior aspecto turvo, esbranquiçado e viscoso formou-se na superfície da mistura.

A solubilidade das proteínas em solventes orgânicos é menor do que em água. Isso acontece porque a capacidade de interação com as partículas de soluto é diferente para cada solvente (CARVALHO, 2015).

Os solventes orgânicos apresentam valor de constante dielétrica (medida da polaridade de um solvente) inferior à da água, assim, a interação proteína-proteína tem maior poder de solvatação. Ademais, a precipitação por solventes orgânicos depende inclusive da temperatura. Quando utilizados em temperaturas baixas, são úteis para a separação de misturas, no entanto, com temperaturas mais elevadas esses solventes podem levar à desnaturação por rompimento das pontes de hidrogênio e estabelecimento de interações apolares (CARVALHO, 2015).

2.3.4 PRECIPITAÇÃO PELO CALOR

O tubo “D”, contendo 5 mL de solução de proteína, foi posto em banho-maria por 5 minutos. Deste modo, pôde-se observar turbidez, mudança de cor total da mistura e também maior viscosidade.

O calor fornecido à proteína provoca desestabilização das interações intermoleculares, como por exemplo as ligações de hidrogênio, acarretando em um desarranjo da conformação tridimensional desta estrutura. Esse fenômeno recebe o nome de desnaturação e altera as estruturas tridimensionais das proteínas, sem o rompimento das as primárias (pontes dissulfeto e ligações covalentes).

2.3.5 PRECIPITAÇÃO POR SAIS NEUTROS

Por fim, no tubo de ensaio “E”, foi pipetado 2 mL de solução de ovoalbumina e 2 mL de solução saturada de sulfato de amônia, e, após misturar por inversão, mais 2 mL de água destilada.

Pôde-se observar a formação de espuma, mudança de cor, maior turbidez e ocorrência de precipitado alaranjado.

A precipitação de proteínas por sais é prática frequente no caso de peptídeos que se encontram em solução e ocorre pela neutralização de cargas superficiais da proteína e redução da camada de hidratação (PESSOA e KILIKAN, 2005).

Quando a precipitação se dá por altas concentrações de sais, o procedimento é denominado *salting - out* e neste caso a proteína sofre desidratação por ação salina. A diminuição da solubilidade é verificada em virtude do aumento da força iônica da solução, quando consideramos que a hidratação estabiliza os íons em solução (CARVALHO, 2015)

Por outro lado, sais neutros em menores concentrações (0,5 a 1 mol/L) podem aumentar a solubilidade das proteínas (*salting-in*). A interação com íons diminuem as interações eletrostáticas entre cargas opostas de moléculas “vizinhas”, por exemplo, carbonato de potássio, cloreto de sódio e sulfato de amônio (NELSON; COX, 1970).

2.4 EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DO PONTO ISOELÉTRICO DA CASEÍNA

O leite é uma secreção esbranquiçada com um alto valor nutritivo, sendo constituído por água, carboidratos, gorduras, proteínas, sais minerais e vitaminas, possuindo diversos benefícios por conta desses nutrientes, como no fortalecimento e proteção dos organismos. Como já foi dito, as proteínas são macromoléculas orgânicas constituídas por aminoácidos, as quais apresentam inúmeras funções no organismo, como estrutural, enzimática, imunológica, hormonal e no transporte citoplasmático (Andrade, *et al*, 2012).

As proteínas constituem 3,5% do leite, sendo que 80% destas são pertencentes ao grupo das caseínas. A caseína possui o mesmo número de cargas positivas e negativas num valor de pH em torno de 4,7, essa característica é denominada de ponto isoelétrico (pI) (Trindade, *et al*, 2012).

O pI varia de proteína para proteína, já que depende da polaridade dos radicais dos aminoácidos constituintes, e é nesse ponto que o valor de pH,

apresenta uma solubilidade mínima, pois a carga líquida sendo nula, fica diminuída a repulsão entre as moléculas (Trindade, *et al*, 2012).

Para iniciar o procedimento, foi necessário realizar a extração da caseína e foi feito o aquecimento de 450 mL de água destilada a 38°C, lembrando que foi realizada em uma escala tripla, e em seguida foi adicionado 300 mL de leite. Então foi gotejado ácido acético até o aparecimento de muito precipitado (Figura 8) e deixando descansar por 20 minutos cronometrados, para o sedimentar a proteína (Figura 9). Logo após isso, o sobrenadante foi separado por decantação.

Ao precipitado foram adicionados 60 mL de etanol e muito bem misturado, e então filtrado, que só foi possível na centrífuga, com foco total no precipitado. Para finalizar foram adicionados 15 mL de éter etílico, misturar, e esperar novamente decantar o sobrenadante.

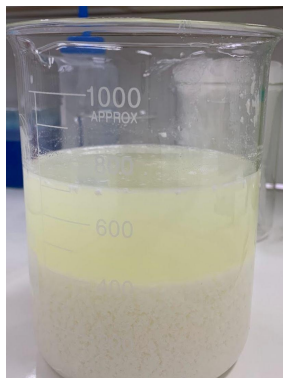
Após a extração da caseína, foi pesado 1,08 g da proteína, adicionando 50 mL de água destilada, e logo em seguida, também foi adicionado 25 mL de NaOH, agitando lentamente, para evitar a formação de espuma. Adicionando também, 25 mL de ácido acético 1 M. Enumeraram-se nove tubos de ensaio nos quais foram adicionadas quantidades de ácido diferentes, podendo visualizar de forma clara, no Quadro 2, e então comparar os resultados obtidos da da caseína pura denominada P.A em comparação com a caseína extraída.

Figura 8 - Gotejando ácido acético até o aparecimento de muito precipitado



Fonte - Elaborado pelas alunas

Figura 9 - Após descansar por 20 minutos, a proteína sedimentada



Fonte - Elaborado pelas alunas

Quadro 2 - Procedimento realizado

SUBSTÂNCIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Água destilada	4	4,4	4,3	3,7	3,5	2,5	0,5	3,9	3,7
Ácido acético 0,01 M	0,5	x	x	x	x	x	x	x	x
Ácido acético 0,1 M	x	0,1	0,2	0,8	x	x	x	x	x
Ácido acético 1 M	x	x	x	x	1	2	3	x	x
Ácido acético 2 M	x	x	x	x	x	x	x	0,8	1

Fonte - Relatório

Quadro 3 - Caseína P.A

RESULTADOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
pH	6	5	5	4	3	3	3	3	3
Turbidez	0	0,5	1	4	3	2	1	3	2

Fonte - Obtido pelas alunas

Quadro 4 - Caseína

RESULTADOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
pH	6	5	5	4	3	3	3	3	3
Turbidez	0	0	1	4	1	0,5	0	0	1

Fonte - Obtido pelas alunas

Sendo analisado então, que no tubo 4, a caseína turvou solução com maior intensidade. Já que as proteínas apresentam soluções variadas em função do pH e cada uma delas possui ponto isoelétrico próprio, no qual a estrutura apresenta a menor solubilidade em água.

Pelos resultados obtidos, até este momento, pode-se afirmar que o ponto isoelétrico da caseína encontra-se entre o pH 4, e caso comparado com o valor citado anteriormente da literatura, com o pH de 4,7, acaba sendo comprovando a eficiência das etapas de separação descritas pelo método. Fora desta região a caseína é solúvel, devido a polarização da sua estrutura.

3. CONCLUSÃO

Nesta aula, com os experimentos realizados, foi possível colocar em prática algumas reações que determinam a presença de certos aminoácidos em amostras devido a formação de precipitados ou mudança de coloração, mostrando ser uma forma fácil e eficiente de visualizar esses compostos proteicos.

Além disso, com os resultados obtidos, observou-se a relação existente entre solubilidade em função do pH das proteínas, observando que as mesmas possuem um ponto isoelétrico próprio, ou seja, uma região em que apresenta-se uma solubilidade menor em água.

Nesse contexto, pode-se concluir ainda que o ponto isoelétrico da caseína encontra-se na faixa de pH 4, estando em um valor próximo ao encontrado na literatura (4,7), ficando claro que as etapas de separação descritas pelo método foram realizadas corretamente, e fora dessa região, essa proteína é solúvel em água.

Por fim, fica evidente a importância dessa aula prática para visualizar e obter um entendimento melhor acerca de certas características apresentadas por certas proteínas, podendo relacionar conceitos teóricos na prática em laboratório.

REFERÊNCIAS

AMINOÁCIDOS e Proteínas. 2017. UNESP. Disponível em:

<http://www2.fct.unesp.br/docentes/edfis/ismael/nutricao/Amino%E1cidos%20e%20prote%EDnas%20pgs%209%20a%2013%20e%2017.pdf>. Acesso em: 20 out. 2022.

ANDRADE, J *et al.* **Extração, Purificação e Determinação do Ponto Isoelétrico da Caseína do Leite.** 2012. ÁREA: FEPROQUIM - Feira de Projetos de Química. Disponível em:

<http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/14/557-14229.html#:~:text=RESULTADOS%20E%20DISCUSS%C3%83O%3A%20No%20ponto,sejam%20m%C3%ADnimas%2C%20favorecendo%20sua%20separa%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 20 out. 2022.

BARREIROS, André Luís Bacelar Silva; BARREIROS, Marizeth Libório.

AMINOÁCIDOS, PEPTÍDEOS E PROTEÍNAS EXPERIMENTAL. São Cristóvão: 2012. Color. Disponível em:

https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/12221710072012Quimica_Biomoleculas_aula_5.pdf. Acesso em: 20 out. 2022.

CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS VIA MÉTODO DE BIURETO COMO PROPOSTA INTERDISCIPLINAR PARA O ENSINO DE QUÍMICA DE COORDENAÇÃO. Nilópolis: Experiências em Ensino de Ciências, v. 13, 2018. Disponível em: https://if.ufmt.br/eenci/artigos/Artigo_ID524/v13_n5_a2018.pdf. Acesso em: 22 out. 2022.

CARVALHO, Kamilla Alves. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA AVALIAÇÃO DO USO DE SAIS NA PRECIPITAÇÃO DE UMA PROTEÍNA EMPREGADA COMO AGENTE ANTIVIRAL.** Uberlândia-MG, 2015. [s.l: s.n.]. Disponível em:

<<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/15259/1/AvaliacaoUsoSais.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2022.

NELSON, D. L. & COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** 6ª Edição, 2014. Ed. Artmed.

PINHEIRO, Alanne *et al.* **Aminoácidos e Proteínas.** Teresina - Piauí: Novafapi, 2012. 19 slides, color. Disponível em:

<https://pt.slideshare.net/flavinhafd/relatrio-de-bioquimica>. Acesso em: 22 out. 2022

PESSOA ,A.R; KILIKIAN, B.V. **Purificação de produtos biotecnológicos.** Barueri. São Paulo, Manole, 2005, 444 p.

Precipitação por sais de metais pesados e por ácidos fortes. Disponível em: <<http://plone.ufpb.br/ldb/contents/paginas/precipitacao-por-sais-de-metais-pesados-e-por-acidos-fortes>>.

RIBEIRO, Natália Joenck. **Análise de Proteínas**. Florianópolis: Anp, 2004. 5 p.
Disponível em:
https://moodle.ifsc.edu.br/pluginfile.php/592113/mod_resource/content/1/Relatorio%2004%20An%C3%A1lise%20de%20Prote%C3%ADnas.pdf. Acesso em: 22 out. 2022.

SOLOMONS, T.W.G. *Fundamentals of Organic Chemistry*. 4ª edição.

TRINDADE, Vera Maria Treis *et al.* **AVALIAÇÃO VIRTUAL DO PONTO ISOELÉTRICO DA CASEÍNA**. 2012. Disponível em:
https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/71155/Ensino2012_Resumo_26130.pdf?sequence=1. Acesso em: 20 out. 2022.

IMAGEM

MAGALHÃES, Lana. **Proteínas**. 2022. Disponível em:
<https://www.todamateria.com.br/proteinas/>. Acesso em: 21 out. 2022.