

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E
TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA
CÂMPUS JARAGUÁ DO SUL - CENTRO
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA “CONECTANDO
SABERES”**

ANDRESSA COLAÇO

BRUNO HORST DEMATHE

EDUARDO ALEXANDER PICHEIDT

JOÃO PEDRO IGREJAS SIQUARA NÓBREGA

JOHNES ALEXANDRE PASOLD

LUCAS ROPELATO VOLTOLINI

MATHEUS POLLAUFG DA SILVA

**EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA ALBUMINA A PARTIR DA CLARA DE OVO
DE *Gallus gallus domesticus*, COMPARAÇÃO COM A ALBUMINA COMERCIAL E
OBTENÇÃO DO AMINOÁCIDO L-TREONINA**

JARAGUÁ DO SUL

2018

ANDRESSA COLAÇO
BRUNO HORST DEMATHE
EDUARDO ALEXANDER PICHEIDT
JOÃO PEDRO IGREJAS SIQUARA NÓBREGA
JOHNES ALEXANDRE PASOLD
LUCAS ROPELATO VOLTOLINI
MATHEUS POLLAUFG DA SILVA

**EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA ALBUMINA A PARTIR DA CLARA DE OVO
DE *Gallus gallus domesticus*, COMPARAÇÃO COM A ALBUMINA COMERCIAL E
OBTENÇÃO DO AMINOÁCIDO L-TREONINA**

Projeto de pesquisa desenvolvido no eixo formativo diversificado “Conectando Saberes” do Curso Técnico em Química (Modalidade Integrado) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina - Câmpus Jaraguá do Sul.

Orientadoras: Aline Gevaerd Krelling e
Ana Paula Duarte Souza
Coordenador: Júlio Eduardo Bortolini

JARAGUÁ DO SUL
2018

SUMÁRIO

1 TEMA	4
2 DELIMITAÇÃO DO TEMA	4
3 PROBLEMA	4
4 HIPÓTESES	5
5 OBJETIVOS	5
5.1 Objetivo geral	5
5.2 Objetivos específicos	5
6 JUSTIFICATIVA	6
7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	7
7.1 Aminoácidos	7
7.2 Síntese Proteica	8
7.3 Albumina	9
7.2.1 Ovoalbumina	10
7.4 L-Treonina	11
7.5 Adoçantes	12
7.5.1 Aspartame, o adoçante à base de aminoácidos	13
8 METODOLOGIA	14
8.1 Precipitação de proteínas	15
8.2 Purificação da Albumina	16
8.3 Isolamento de aminoácidos	17
8.3.1 Hidrólise ácida	17
8.3.1.1 Evaporação em evaporador rotativo sob vácuo	18
8.3.1.2 Evaporação em dessecador a vácuo	18
8.3.2 Cromatografia de Troca Iônica	18
8.4 Caracterização físico-química e comparação	18
9 CRONOGRAMA	19

1 TEMA

Extração da proteína albumina a partir da clara de ovo de *Gallus gallus domesticus*, comparação com a Albumina comercializada e obtenção do aminoácido L-Treonina.

2 DELIMITAÇÃO DO TEMA

Extração e purificação da albumina a partir da clara de ovo da espécie *Gallus gallus domesticus* e comparação com a proteína comercial. Além da obtenção do aminoácido L-Treonina.

3 PROBLEMA

Atualmente os adoçantes - naturais ou artificiais - se apresentam como substitutos ao açúcar comum, por terem poucas calorias e grande poder edulcorante. Ambos têm benefícios - a exemplo, podem ser usados por pessoas com restrições ao açúcar. Em contrapartida, os adoçantes artificiais, em geral, apresentam malefícios à saúde, enquanto os naturais, por sua vez, têm alto custo ou gosto residual.

É possível encontrar substâncias com potencial edulcorante e que não são maléficas para o organismo, por exemplo, na albumina, uma proteína globular abundante na natureza que está presente no corpo humano e na clara de ovo e também é utilizada na indústria de alimentos, como emulsificante. A albumina corresponde a 54% das proteínas presentes na clara de ovo e contém 386 aminoácidos, dentre esses, a L-Treonina (em quantidade significativa), que possui aroma doce e possível potencial edulcorante. (ABEYRATHNE; LEE; AHN, 2013) A albumina pode ser encontrada comercialmente como suplemento, mas também pode ser obtida através da clara de ovo, um alimento comum e de alto valor nutricional.

Acerca do exposto, indaga-se: é possível obter albumina a partir da clara de ovo e L-Treonina com processos relativamente simples e os procedimentos são viáveis

considerando-se a comparação das características físico-químicas da albumina comercializada e da extraída?

4 HIPÓTESES

- Existem diferenças nas características físico-químicas entre a albumina comercial e na extraída pelo grupo;
- Através da diálise é possível purificar a proteína albumina;
- A albumina é uma fonte viável para a extração de L-Treonina;
- Os equipamentos disponíveis no laboratório do câmpus IFSC- Jaraguá do Sul Centro se mostram suficientes para a obtenção da vigente proteína.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Extrair albumina a partir da clara de ovo de *Gallus gallus domesticus* e comparar as propriedades físico-químicas com a proteína comercializada. Além disso, utilizar a proteína como fonte para obtenção do aminoácido L-Treonina.

5.2 Objetivos específicos

- Realizar a extração da proteína albumina a partir da clara de ovo de *Gallus gallus domesticus*;
- Calcular o rendimento da proteína obtida a partir da clara do ovo da espécie *Gallus gallus domesticus*.
- Analisar as características físico-químicas da albumina extraída e compará-las com as da comercializada;
- Obter o aminoácido L-Treonina.

6 JUSTIFICATIVA

Substituir a sacarose por outras substâncias edulcorantes é comum atualmente, tanto por motivos estéticos como por uma melhor qualidade de vida. As escolhas mais saudáveis se dão por adoçantes de origem natural, porém, estes constantemente apresentam sabor residual e alto custo. Com isso, há tendência de utilização de adoçantes artificiais, que possuem um sabor doce intenso - portanto utilizam-se poucas quantidades, assim tendo baixo valor calórico. Não são recomendados devido ao aumento no índice glicêmico que ocasionam, entre outros malefícios.

Algumas substâncias com possível potencial edulcorante não malélicas ao organismo são encontradas na albumina, uma proteína globular abundante na natureza. Esta se apresenta com um alto valor nutricional, uma vez que contém todos os aminoácidos essenciais - não sintetizados pelo corpo, logo precisando ser incorporados à dieta. A albumina pode ser encontrada em lugares como: o corpo humano, onde é sintetizada pelo fígado, também exercendo funções como a manutenção da pressão osmótica e transporte de alguns hormônios; a clara de ovos de aves e; o leite. É utilizada também na produção de alimentos.

A albumina pode ser obtida através de uma fonte comum na alimentação - os ovos. Corresponde a 54% das proteínas presentes na clara de ovo e contém 386 aminoácidos, dentre esses, a L-Treonina (em quantidade significativa), que possui aroma doce e possível potencial edulcorante. (ABEYRATHNE; LEE; AHN, 2013) Também pode ser obtida comercialmente, principalmente na forma de suplemento.

Justifica-se a extração da albumina por suas propriedades - benefícios ao organismo e por ser uma fonte de L-Treonina - e abundância. A escolha do ovo como fonte se deu por ser um alimento comum na dieta e ter quantidade significativa de albumina. A comparação das características físico-químicas da proteína extraída com a comercial será realizada para averiguar se há a viabilidade da extração através dos métodos a serem realizados. Por fim, será obtido o aminoácido L-treonina, justificado pelas propriedades edulcorantes do mesmo. A viabilidade será também averiguada através da quantidade aproximada do aminoácido nas proteínas das duas fontes (comercial e extraída pelo grupo).

7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

7.1 Aminoácidos

Segundo Fonseca (2016), os α -aminoácidos são considerados compostos orgânicos, possuem a função mista: amina e ácido carboxílico e as proteínas se originam deles. De acordo com Rogero e Tirapegui (2008), há duas classificações de aminoácidos: os essenciais, que não podem ser sintetizados pelo corpo humano e precisam ser adquiridos através da alimentação, e os não essenciais, que são aqueles que o organismo humano sintetiza. Relativamente ao exposto, a estrutura básica dos aminoácidos pode ser representada da seguinte maneira:

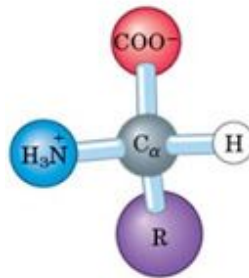


Figura 02: Estrutura básica de um aminoácido. Comum a todos os α -aminoácidos, com exceção da prolina. O Carbono α apresenta quatro ligantes: amina, ácido carboxílico, hidrogênio e um radical (R), diferente em cada aminoácido.

Fonte: NELSON; COX, 2014

Segundo Marchini (2016), há diversas combinações entre 20 aminoácidos (9 essenciais e 11 não essenciais) que formam as proteínas dos organismos vivos. “Os aminoácidos essenciais são isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e, para crianças, histidina” (MARCHINI, 2016, p. 13).

Aminoácidos podem possuir sabor doce, neutro ou *umami*¹. O sabor da L-Treonina é percebido pelo paladar humano como doce (NELSON; *et al*, 2002).

¹ *Umami*: sabor forte que não é doce, azedo, salgado ou amargo, sendo muitas vezes referido como o quinto gosto (Cambridge Dictionary, 2018). É percebido em diferentes alimentos, tais como tomates maduros, carnes, laticínios e cogumelos. Suas substâncias principais são o glutamato, o inosinato e o guanilato (NINOMIYA, 1998).

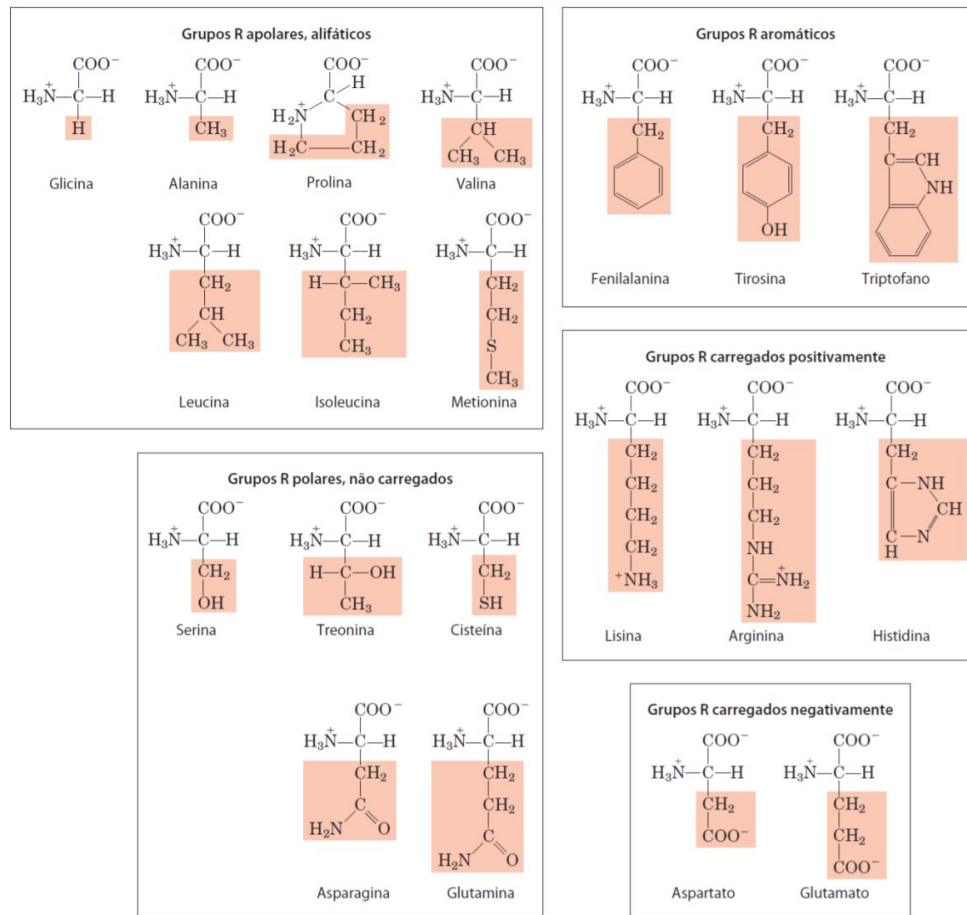


Figura 03: Estrutura química dos 20 aminoácidos comuns nas proteínas.
Fonte: NELSON; COX, 2014.

Sabe-se que há grande importância na averiguação da substância, de modo a estudá-la para perceber se é razoável ingeri-la e a quantidade correta de consumo, na conformidade de não causar efeitos adversos. Porém, segundo Marchini (2016), não há a quantidade necessária de estudos para estabelecer um limite máximo de uso dos aminoácidos. Entretanto, na alimentação ou na suplementação, é relatado há tempo que a ingestão destes compostos é segura.

7.2 Síntese Proteica

O termo síntese proteica, também chamado de tradução, se refere a conversão de informações contidas nas moléculas de RNA (ácido ribonucléico), em proteínas. Para que esse processo se realize é preciso de três tipos de RNA:

Tipo de RNA	Função
rRNA ou RNA ribossômico.	Forma os ribossomos onde ocorrerá a síntese proteica.
mRNA ou RNA mensageiro.	Contém as sequências de base, que são responsáveis por guiar o processo.
tRNA ou RNA transportador.	Tem a função de levar os aminoácidos para formar as nova proteínas.

Tabela 01: Tipos de RNA e suas respectivas funções.

O processo de conversão pode ser dividido em três etapas: iniciação, alongamento e finalização.

Os ribossomos possuem duas subunidades. Na iniciação, a subunidade pequena liga-se ao mRNA, que indica o início da tradução. A partir disso a subunidade grande do ribossomo se liga a subunidade pequena, e os dois formam o ribossomo completo. Em seguida o RNA transportador da metionina se emparelha ao ribossomo, em um lugar conhecido como sítio, tendo 2 tipos, A e P. O sítio serve de ocupação para esse RNA, que leva a cadeia polipeptídica que está transportando o aminoácido que será posto na cadeia polipeptídica em desenvolvimento (LOPES; ROSSO, 2013).

Na etapa de alongamento, após a ligação dos dois primeiros RNA transportadores nos sítios, os aminoácidos se juntam através de ligações peptídicas e o ribossomo se desloca sobre a molécula do RNA mensageiro para as próximas três bases. O RNA transportador que carregava a metionina se solta e o segundo RNA transportador segue em direção ao sítio P, deixando o sítio A livre para outro RNA transportador (ibid).

Por fim, na finalização, o RNA mensageiro é levado de códon para códon pelo ribossomo, até encontrar um códon que tenha a terminação certa para ele (UUA, UAG ou UGA nesse caso), indicando assim o fim da cadeia peptídica (ibid).

7.3 Albumina

A albumina é uma das proteínas mais estudadas. Seu nome provém de *albumen* (do latim *albus*, branco), a clara de ovo das aves.

Para uma melhor compreensão da substância e do conhecimento que se tem sobre ela, é necessário compreender o histórico da evolução dos estudos sobre a mesma.

A sequência peptídica da albumina humana foi descoberta antes mesmo da sequência cDNA (DNA complementar), Com a sequência completa sendo descoberta em Austin, Texas, pelos pesquisadores: Brown, Meloun *et al.* Em 1954, foi reportado o primeiro resultado de classificação, Asp-Ala para a albumina humana e Asp-Thr para a albumina bovina. Já em 1955 foi descoberto uma sequência com carboxipeptidase (sequência original: “four-residue C-terminal”). Ao longo das décadas, novas sequências foram sendo formadas, aumentando a capacidade de utilização da albumina. Como da década de sessenta, em que foi descoberto uma sequência com cisteína simples. Já em 1964, uma nova sequência envolvendo triptofano único foi encontrada.

A composição, tanto nos humanos quanto nos bovinos, dos aminoácidos derivam das sequências de cDNA (DNA complementar), que por sua vez provém do mRNA (DNA mensageiro). Uma das características mais únicas dos aminoácidos formadores da albumina é o baixo teor de triptofano (PETERS, 1996). A albumina é sintetizada no fígado, sem grupos proteicos e nem aditivos. Entretanto, não é uma glicoproteína - é uma das poucas proteínas plasmáticas desprovidas de grupos de carboidratos. Nesse caso, recebe o nome de soroalbumina.

Além da soroalbumina, há a lactoalbumina e a ovoalbumina, está presente na clara de ovo de aves e que permeia o presente trabalho.

7.2.1 Ovoalbumina

O ovo é constituído, em sua maior parte, por água e proteínas e sua clara corresponde a 60% do mesmo. Do total de proteínas presentes ali (12%), 54% é albumina, que quando encontrada na clara de ovos recebe o nome de ovoalbumina. (ABEYRATHNE *et al*, 2013)

Segundo Abeyrathne *et al* (2013), a ovoalbumina tem massa molecular de 45000 g/mol e é composta por 386 resíduos de aminoácidos. Possui uma glicina acetilada no terminal N e prolina no terminal carboxílico. Sofre desnaturação entre 79°C e 84°C, é solúvel em água e pouco solúvel em soluções salinas. É relativamente estável a tratamento térmico.

A presente proteína é utilizada na produção de alimentos e possui propriedades emulsificantes (MINE; NOUTOMI; HAGA, 1991). A ovoalbumina contém todos os aminoácidos essenciais — o que a confere um alto valor biológico.

7.4 L-Treonina

A L-treonina (ou ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxiбутанóico) de fórmula molecular C_4H_9NO , é um dos 20 aminoácidos codificados pelo código genético, sendo assim um dos 20 aminoácidos pertencentes a composição do grupo das proteínas nos seres vivos, classificado como o grupo polar (ARAÚJO, 2017).

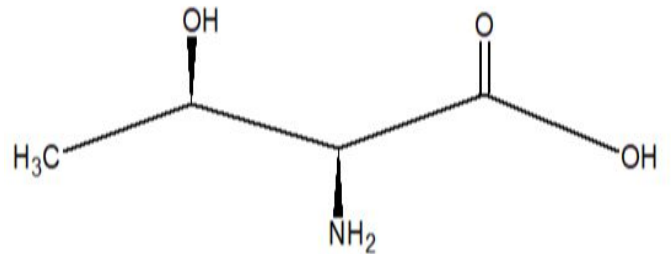


Figura 03: Fórmula estrutural da L- Treonina
Fonte: Elaborado pelo grupo.

Esse modelo traz os diferentes tipos de ligações que existem entre carbonos, sendo assim uma cadeia alifática, acíclica, homogênea e saturada, ressaltando ainda os grupos funcionais presentes cujos são ácido-carboxílico e amina primária, e desta maneira compondo seu nome IUPAC: ácido-2-amino-3-hidroxiбутанóico. Com embasamento na análise de sua estereoquímica pode-se perceber que a substância possui três carbonos com hibridação sp^3 cujos possuem sua geometria tetraédrica com uma angulação de $109^\circ 28'$. Também neste aminoácido há um carbono com hibridação sp^2 participando ao grupo funcional ácido carboxílico, tendo este portanto, uma geometria trigonal plana com duas ligações duplas e duas simples que através da fusão de seus orbitais realiza uma ligação pi (π) e três ligações sigma (σ) sendo, respectivamente, interações menos e mais fortes. (ROSALIN, 2016).

A substância também possui o título de aminoácido essencial (composto qual não é sintetizado pelo corpo humano) e portanto deve-se ingerir a dose diária recomendada de 20 mg/kg (IDR). Pode-se atingir o IDR a partir de alimentos ricos em L-treonina, tais como:

carne de porco, laticínios, clara de ovo, entre outros, ou através de suplementação alimentar com a substância.

A L-Treonina, de acordo com o *Supplements Health Guide*, é de grande importância ao nosso organismo, sendo usada para produzir Glicina, que atua no cérebro reduzindo contrações musculares não desejadas constantes (espasticidades musculares).

De acordo com apuração feita pela U.S. Environmental Protection Agency (s/d), o aminoácido apresenta uma massa molecular de 119,12 g/mol e um índice de solubilidade em água de aproximadamente $9,7 \times 10^4$ mg/L em uma temperatura de 25 °C e sob 1 atm de pressão.

O ponto de fusão médio é de 255 °C a 1 atm de pressão, porém diversas fontes relatam que há degradação do aminoácido a partir dessa mesma temperatura (PUBCHEM, s/d).

O aminoácido L-Treonina possui aroma doce considerável, assim, há contingência de seu uso como adoçante natural. Entretanto, observa-se em sites de vendas online que a L-Treonina não está muito presente e, quando encontrada para compra, apresenta preço elevado e restritividade geográfica, precisando ser importada.

7.5 Adoçantes

Antes da utilização dos adoçantes visando substituir a sacarose, os humanos provavelmente concebiam o sabor doce aos alimentos somente a partir de produtos da natureza. Civilizações antigas como a egípcia e a maia utilizavam o mel em sua alimentação. (KATAOKA; FESTA, 2015) A produção de açúcar remete às lavouras de cana-de-açúcar, que foram responsáveis por um importante ciclo econômico compreendido entre os séculos XVI e XVIII. No mundo contemporâneo, a sacarose continua sendo extraída, em grande parte, da cana-de-açúcar (BRAIBANTE).

Adoçantes são substâncias utilizadas para evocar o gosto doce ou sua percepção. A produção destes compostos pela indústria alimentícia se classifica em adoçantes de origem natural ou artificial. (PRIYA *et al*, 2011)

Adoçantes naturais são substâncias com potencial edulcorante obtidas, em sua maioria, a partir da natureza que não passam por modificações químicas durante o processo de produção e extração. Mono ou dissacarídeos são os principais componentes dessas

substâncias. São usadas há décadas e são comuns no cotidiano: entre elas podemos citar o mel, a estévia, a sacarose, xarope de bordo, alcaçuz e o melado. São considerados nutritivos, uma vez que contém algum tipo de carboidrato (são calóricos). Os artificiais utilizam outras substâncias, não apresentando esse valor calórico e sendo considerados não-nutritivos. (SUDAN; *et al*, 2016).

Os adoçantes artificiais, por sua vez, tem um grande poder edulcorante - o que faz com que pequenas quantidades deles bastem para o gosto doce, fornecendo poucas calorias. Por essa razão, eles têm um Índice Diário Recomendado (IDR). São derivados da síntese de substâncias orgânicas que podem ou não ter origem natural. Alguns dos adoçantes artificiais mais conhecidos são aspartame, acesulfame-K, ciclamato, sacarina, sucralose e o neotame (derivado do aspartame). (CHATTOPADHYAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2011).

Originalmente estas substâncias e os produtos dietéticos foram criados visando atender as necessidades de grupos específicos com restrição a ingestão de açúcares, mas atualmente o perfil dos consumidores do produto é dos mais diversos. (OLIVEIRA, 2010).

Segundo Priya, Gupta e Kalakoti (2011), os adoçantes naturais são preferíveis aos artificiais por não apresentarem malefícios à saúde, sendo utilizados por diabéticos como substitutos aos açúcar. Os artificiais, por sua vez, geram controvérsias em relação a seus efeitos no corpo e metabolismo.

Suez (2014) do *Weizmann Institute of Health* afirma que os mamíferos não são capazes de digerir adoçante, mas as bactérias que vivem em seus corpos sim, gerando açúcar a partir da energia adquirida pelo adoçante digerido. Com isso, quando são ingeridos adoçantes, a população microbiana do organismo cresce para consumir a substância e, conseqüentemente, os níveis de glicose no organismo também aumentam.

7.5.1 Aspartame, o adoçante à base de aminoácidos

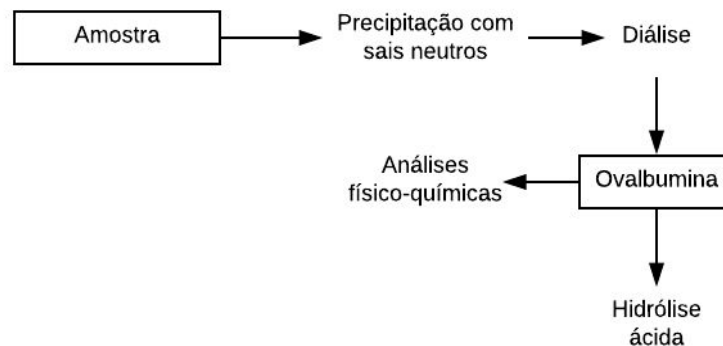
O aspartame é derivado de metil éster, sendo a junção dos aminoácidos aspartato e fenilalanina, o potencial edulcorante da substância é aproximadamente 200 vezes maior do que a sacarose (BETTELHEIM, 2012), sendo um adoçante sintético, é muito utilizado em

bebidas industrializados. Mesmo sendo um composto à base de aminoácidos, ele é polêmico relativamente aos seus efeitos à saúde humana.

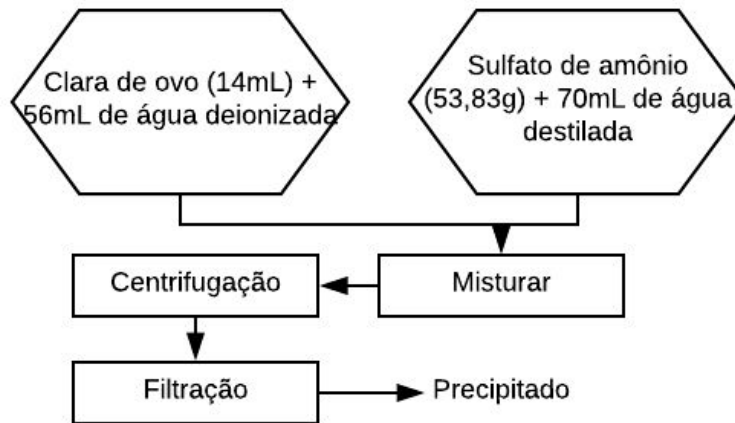
Quando o aspartame é metabolizado pelo organismo humano, os dois aminoácidos e a molécula de metanol que os unem separam-se, assim, há controvérsias acerca do álcool metílico por conta de sua toxicidade. Outro fator a ser considerado é o aminoácido fenilalanina, contraindicado para pessoas portadoras de fenilcetonúria (TORLONI; NAKAMURA, 2007).

8 METODOLOGIA

Para realizar as análises físico-químicas na proteína obtida e na comercial, objetivamente, serão utilizadas como matéria prima a clara do ovo de *Gallus gallus domesticus* e albumina comercializada (clara de ovo pasteurizada). Nestas se encontram a proteína ovalbumina. Portanto, os processos laboratoriais serão realizados como mostra o fluxograma:



8.1 Precipitação de proteínas



Antes da proteína da clara do ovo ser purificada, é necessária uma primeira obtenção da albumina, ou seja, um preparo de amostra. Será realizada a precipitação de proteínas por adição de sais neutros por meio de efeito de força iônica que funciona da seguinte maneira:

As moléculas de água [da solução], interagem mais fortemente com os íons provenientes da dissociação do sal, promovendo desta forma, a desidratação das proteínas. Durante esse processo, a interação inter-proteínas se torna mais forte, diminuindo a solubilidade das mesmas em meio aquoso e, conseqüentemente, a ocorrência de precipitação das proteínas. Esse processo é também conhecido por *salting-out*. (LIMA, 2007, p. 1).

Para a aplicação do método de precipitação de albumina fundamentada pelo processo exposto, é necessário seguir o seguinte roteiro: serão misturados 14 mL de clara de ovo em 56 mL de água destilada e 53,83 g de sulfato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ em 70 mL de água deionizada. Em um béquer, será despejada a solução de proteínas (clara de ovo) e adicionada, deixando escorrer pelas paredes do béquer, a solução de sulfato de amônio (MOURA, 2013, p. 5). A mistura será centrifugada em 3000 rpm por 20 minutos (UFF, 2017, p. 14).

Visando a precipitação da ovalbumina comercial, se dissolverá 2,4 g de clara da ovo pasteurizada em 70 mL de água deionizada, continuando o processo do mesmo modo do exposto acima.

Ao ser obtido o precipitado de proteínas, será realizada a filtração simples para separar o sólido visando melhores condições para a diálise. A solução com o precipitado será

despejada no sistema de filtração e recolhido o resíduo sólido do filtro de papel. Realizados os procedimentos expostos, pode-se seguir para a purificação da Albumina.

8.2 Purificação da Albumina

Para dar continuidade aos processos de análises físico-químicas na ovalbumina, é necessária a purificação da proteína albumina. Devido ao tamanho maior das proteínas comparada com outras moléculas, optou-se o método da diálise. Através de uma membrana semipermeável será feita, de acordo com sua massa molecular, a separação da albumina dentre outras partículas em solução.

O aparato instrumental a ser utilizado se compõe de: membrana semipermeável para diálise; tubos para diálise e; grampos para vedação.

Para se obter a albumina purificada com precisão é necessário utilizar o MWCO (*Molecular Weight Cut Off*), um tamanho classificado da membrana semipermeável para a passagem de determinada proteína e assim sua obtenção purificada. O MWCO é classificado como o tamanho da molécula a ser submetida à diálise que é 90% retida na membrana semipermeável, ainda que também leve em consideração a estereoquímica e polaridade da molécula. É levado em conta que é recomendado que seja utilizada uma membrana com metade do MWCO da Albumina, para minimizar as chances de falha. (UNISCIENCE, s.d.).

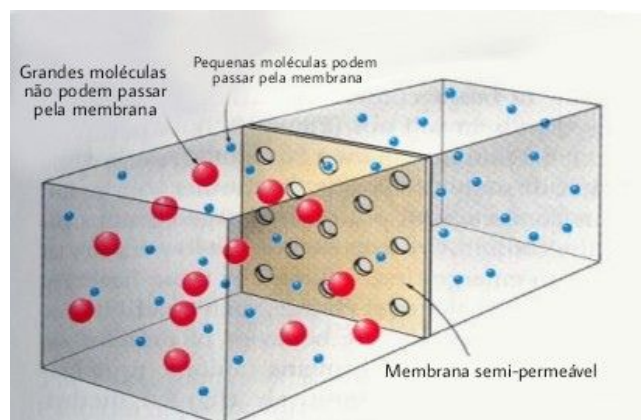


Figura 04: Seleção por Massa Molecular (MWCO). Adaptado de: <http://graduacao.iqsc.usp.br/files/Aula05BioqI-PurProteinas.pdf>

Como pode-se observar na imagem abaixo, após a membrana ser colocada em solução ela atinge um nível de equilíbrio - que ocorre por conta de a proteína ter sido separada das demais partículas e estar purificada. Desta maneira, ela se transforma em uma bolsa de diálise

na qual a solução concentrada ficará envolta a proteína que será selecionada pela membrana (ibid.)

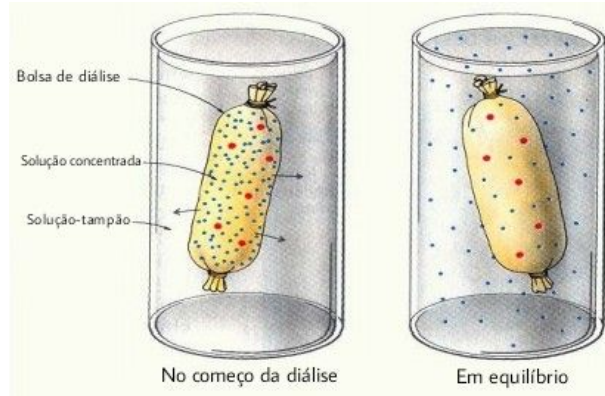


Figura 05: Seleção proteica com formação da bolsa de diálise (MWCO). Adaptado de <http://graduacao.iqsc.usp.br/files/Aula05BioqI-PurProteinas.pdf>

8.3 Isolamento de aminoácidos

Para a realização da cromatografia de troca iônica, visando o isolamento dos aminoácidos em questão, é necessária antes a realização de um processo denominado hidrólise ácida. Nesta etapa, as ligações peptídicas que mantêm os aminoácidos unidos como proteínas serão quebradas, possibilitando o isolamento de um desses aminoácidos.

8.3.1 Hidrólise ácida

Para realizar tal procedimento, é necessário que a proteína, seja hidrolisada em ácido clorídrico com concentração de 6M com uma concentração de 3 a 5 mg de proteína para 1 ml de ácido e aquecida na estufa até uma temperatura de 110°C por 22 horas. (SPITZ *apud* BERNARDI, 2000).

Para a retirada do ácido clorídrico, existem diversos métodos para evaporação da substância em questão. Porém, as mais adequadas para o propósito visando são a evaporação em evaporador rotativo ou a evaporação em dessecador a vácuo. A seguir, apresentar-se-ão todas as vantagens de cada processo.

8.3.1.1 *Evaporação em evaporador rotativo sob vácuo*

Por tratar-se de uma solução ácida com alta concentração (6M), a possibilidade de recuperar esse ácido pode parecer viável e por se tratar de um método simples, o sistema de evaporação em evaporador rotativo é bastante viável. Neste método, o ácido seria evaporado da albumina hidrolisada em um sistema de evaporação em evaporador rotativo sob vácuo a uma temperatura de 50°C. (MARCONI *et al*, 1995)

8.3.1.2 *Evaporação em dessecador a vácuo*

O ácido, neste sistema, é evaporado da solução com albumina utilizando-se um dessecador a vácuo em presença de 15g de NaOH em pastilhas até a evaporação completa do ácido (MARQUEZ *apud* BERNADI, 2000).

Após realizada a hidrólise, será dado início ao próximo passo: a cromatografia de troca iônica.

8.3.2 Cromatografia de Troca Iônica

A cromatografia é um processo que serve para separar componentes de uma mistura em duas fases. Este processo baseia-se no princípio de se ter uma fase móvel (líquido ou gás) que flui por uma fase estacionária (líquida ou sólida), utilizando-se da diferença entre a velocidade das duas. Na cromatografia em coluna, a fase móvel passa por uma coluna oca preenchida com resina composta de partículas microscópicas. Já, no método por troca iônica, a fase estacionária é altamente carregada, o que ocasiona que os solutos com cargas de sinais contrários sejam seletivamente adsorvidos da fase móvel. (ARAÚJO; ASSIS; SOBREIRA, 2007).

8.4 Caracterização físico-química e comparação

Antes de realizar as comparações de propriedades físico-químicas da Albumina comercial com a extraída, é necessário obter os resultados por meio de processos laboratoriais (que serão realizados acerca das duas fontes de albumina), assim, serão caracterizadas as seguintes propriedades: estado físico em temperatura ambiente, cor (em fundo branco), pH, ponto de fusão e densidade.

Para proceder com a medição do pH, se utilizará 12,5 mL de solução saturada de ovalbumina (500 mg). A solução será colocada em um béquer e se realizará a medição acerca do pHmetro calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0 e eletrodos anteriormente lavados com água deionizada (GUBERTT; *et al*, 2014).

O ponto de fusão será determinado pelo aparelho medidor com um capilar preenchido com amostra de albumina. Pode-se determinar a densidade da albumina da seguinte maneira: inserir 500 mg de albumina em uma proveta com 2 mL de água, calcular a diferença do volume inicial com o final e, acerca do resultado obtido, utilizar a fórmula da densidade:

$$d = \frac{m}{v} .$$

Os processos serão realizados em triplicata e os resultados obtidos serão organizados - considerando cada propriedade analisada - em uma tabela comparativa entre as duas amostras de proteína, possibilitando assim as discussões dos resultados.

9 CRONOGRAMA

Atividade 2018/2	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
Revisão Literária	X	X	X	X	
Preparo das amostras	X				
Processos		X	X	X	
Tabulação dos dados			X	X	
Análise dos dados			X	X	
Elaboração do banner				X	X

Apresentação					X
--------------	--	--	--	--	---

REFERÊNCIAS

ABEYRATHNE, E; LEE, H.; AHN, D. Egg white proteins and their potential use in food processing or as nutraceutical and pharmaceutical agents — A review. **Poultry Science**, v. 92, ed. 12, dez. de 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ps/article/92/12/3292/1584028>>. Acesso em 27 mai. 2018.

ARAÚJO, Roniel de Lima. **Propriedades estruturais, eletrônicas, ópticas e vibracionais do cristal l-treonina: Simulações computacionais no formalismo DFT**, Mar. de 2017. Disponível em: <http://www.repositorio.ufrn.br:8080/jspui/bitstream/123456789/23422/1/RonielDeLimaAraujo_DISSERT.pdf> Acesso em: 30 de mar 2018.

ARAÚJO, Wagner A. Garcia; ASSIS, Félix Inácio de. Jr; SOBREIRA, Gabriel Fonseca. Fundamentos e métodos para análise de aminoácidos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.4, n°2, p. 395-404, Março/Abril 2007. Disponível em: <http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/042V4N2P395_404_MAR2007.pdf> Acesso em: 18 mai. 2018.

BERNARDI, Carlos Roberto. **Preparo de hidrolisados protéicos e análise de aminoácidos por duas metodologias**. 2000. 156 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

BETTELHEIM, Frederick A; *et al.* **Introdução à bioquímica**. Tradução de: Mauro de Campos Silva, Gianluca Camillo Azzellini; revisão técnica: Gianluca Camillo Azzellini. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

BRAIBANTE, Mara Elisa; *et al.* A Cana-de-Açúcar no Brasil sob um Olhar Químico e Histórico: Uma Abordagem Interdisciplinar. **Química nova na escola**, v. 35, n° 1, p. 3-10, fev. 2013. Disponível em: <http://qnesc.s bq.org.br/online/qnesc35_1/02-PIBID-38-12.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2018.

CHATTOPADHYAY, Sanchari; RAYCHAUDHURI, Utpal; CHAKRABORTY, Runu. Artificial sweeteners — a review. **J Food Sci Technol**, v. 51 (4), abr. de 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3982014/>>. Acesso em: 22 mar. 2018.

FONSECA, Martha Reis Marques da. **Química: ensino médio**. v. 3, 2. ed. São Paulo: Ática, 2016.

GUBERTT, Leticia; *et al.* Determinação do pH de amostras de águas subterrâneas do Instituto Federal Catarinense - campus Camboriú. **VFICE**, 11-12/09/2014. Disponível em: <<http://www.camboriu.ifc.edu.br/vfice2014/anais/uploads/trab13.pdf>>. Acesso em: 05 jun. 2018.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY and INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY - IUPAC-IUB. **Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides: 3AA-1 and 3AA-2**. Disponível em: <<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iupac/AminoAcid/AA1n2.html>>. Acesso em 02 abr. 2018.

KATAOKA, Fábio; FESTA, Nilson. Civilizações Antigas. **Discovery Publicações**. n. 01, 1. ed. CRIATIVO MERCADO EDITORIAL: São Paulo, 2015.

LIMA, Mayrla Rocha; *et al.* **Purificação de ricina a partir de saturação com sulfato de amônio**. Universidade Estadual do Ceará. 2007. Universidade Estadual do Ceará, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/publicacoes/cbm3/trabalhos/OLEO%20E%20CO-PRODUTOS/OCP%2007.pdf>>. Acesso em: 31 mai. 2018.

LOPES, Sônia; ROSSO, Sérgio. **Bio - Volume único**. v.3a ed. Saraiva 2013. Disponível em: <<https://pt.slideshare.net/rassilon13/bio-vol-nico-snia-lobes-46783493>> Acesso em: 17 abr. 2018.

MARCHINI, Júlio Sérgio; *et al.* **Aminoácidos**. São Paulo: ILSI Brasil-International Life Sciences Institute do Brasil, 2016. Disponível em:

<http://ilsibrasil.org/wp-content/uploads/sites/9/2016/08/Aminoacidos_versão-online.pdf>.

Acesso em: 23 mar. 2018.

MARCONI, E.; *et al.* **Comparative study on microwave and conventional methods for protein hydrolysis in food.** *Amino Acids*. Vol. 8, no. 2, pg. 201-208, 1995.

MINE, Yoshimori; NOUTOMI, Tatsushi; HAGA, Noriyuki. Emulsifying and structural properties of ovalbumin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Volume 39 (3), pg. 443-446, mar. de 199. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf00003a003>> .

Acesso em: 27 mai. 2018.

MOURA, Ilana Farias Andrade de. **Aula prática I: relatório de precipitação de proteínas.**

Fortaleza/Ceará: 20 mai. 2013. Disponível em:

<<https://pt.slideshare.net/ilanafmoura/relatrio-precipitao-das-protenas>>. Acesso em: 28 mai. 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2014.

NELSON, Greg; *et al.* An amino-acid taste receptor. **NATURE**, v. 416 14/03/2002.

Disponível em:

<http://www.columbia.edu/cu/zukerlab/Publications_files/2002%20Nature%20Nelson.pdf>.

Acesso em: 03 jun. 2018.

NINOMIYA, Kumiko. <<Natural occurrence>>. **Food Reviews International**. v. 14, p. 177–211, 1998. Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129809541157>>. Acesso em: 27 mai. 2018.

OLIVEIRA, P.B.; FRANCO, L.J. Consumo de adoçantes e produtos dietéticos por indivíduos com diabetes melito tipo 2, atendidos pelo Sistema Único de Saúde em Ribeirão Preto, SP.

Rev. Arq Bras Endocrinol Metab Arq Bras Endocrinol Metab., v.54, n.5, p.455-462,

2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v54n5/05.pdf>> Acesso em: 23 mar. 2018.

PETERS, Theodore. **All about Albumin**: biochemistry, genetics and medical applications. San Diego, Califórnia: Academic Press, 1996.

PRIYA, Keerthi; GUPTA, Dr. Vankadari R. M.; KALAKOTI, Srikanth. Natural sweeteners: a complete review. **Journal of Pharmacy Research**, jun. de 2011. Disponível em: <<http://jprsolutions.info/newfiles/journal-file-56e3aa1b78a4b5.63523461.pdf>>. Acesso em: 22 mar. 2018.

ROGERO, Marcelo Macedo; TIRAPEGUI, Julio. Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, out./dez., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v44n4/v44n4a04>>. Acesso em: 03 mar. 2018.

ROSALIN, Cibele; *et al.* **Aminoácidos**: estrutura e propriedades. USP: Ciências farmacêuticas, São Paulo, nov/2016. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2274200/mod_resource/content/0/pdf_Apresent_10_Gr04.pdf>. Acesso em: 17 mai. 2018.

SUDAN, Puneet; *et al.* A critical review on natural and artificial sweeteners. **The Pharmaceutical and Chemical Journal**. 2016, 3(1):2. Disponível em: <<http://tpcj.org/download/vol-3-iss-1-2016/TPCJ2016-03-01-21-29.pdf>>. Acesso em: 13 abr. 2018.

SUEZ, et al. **Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota**. Segal lab, 2014. Disponível em: <https://genie.weizmann.ac.il/pubs/2014_nature.pdf>. Acesso em 02 abr. 2018.

TORLONI, Maria Regina; NAKAMURA, Mary Uchiyama. **O uso de adoçantes na gravidez: uma análise dos produtos disponíveis no Brasil**, maio de 2007. Disponível em: <<http://vml029.epm.br/handle/11600/3689>> Acesso em: 13 abr. 2018.

UFF. Roteiro de aulas práticas. **Universidade Federal Fluminense - Instituto de biologia**, 2017. Disponível em:

<<http://gcm.sites.uff.br/wp-content/uploads/sites/95/2017/02/Apostila.pdf>>. Acesso em: 31 mai. 2018.

UMAMI. In: Cambridge Dictionary. **Cambridge University Press**, 2018. Disponível em:

<<https://dictionary.cambridge.org/pt/dicionario/ingles/umami>>. Acesso em: 27 mai. 2018.

UNISCIENCE. Diálise. **Uniscience**, s.d. Disponível em:

<<https://uniscience.com.br/produto/dialise/>>. Acesso em: 28 mai. 2018.

U.S. Environmental Protection Agency. Chemistry Dashboard; **L-Threonine**. Disponível em

<<https://comptox.epa.gov/dashboard/DTXSID2046412>> Acesso em: 29 mar. 2018.