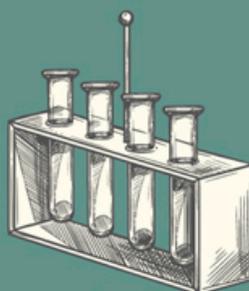
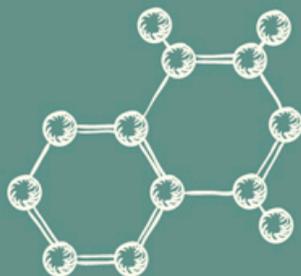
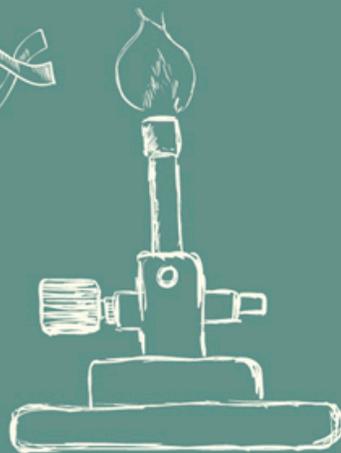


Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022

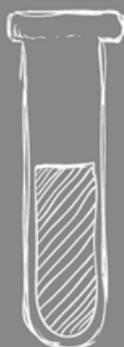
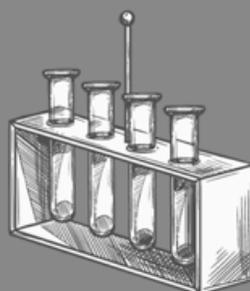
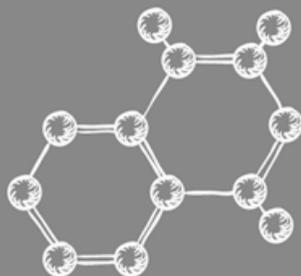
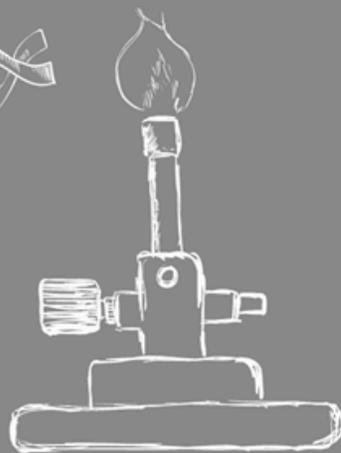


Paulo Afonso Granjeiro
Adriano Guimarães Parreira
Daniel Bonoto Gonçalves
José Antônio da Silva

- organizadores -

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



Paulo Afonso Granjeiro
Adriano Guimarães Parreira
Daniel Bonoto Gonçalves
José Antônio da Silva

- organizadores -

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Edição de arte da capa

Vinícius Souza Tarabal

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à

Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena

Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras

Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade do Estado de Mato Grosso

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados

Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Dr^ª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^ª Dr^ª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Práticas em bioquímica analítica

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Flávia Roberta Barão
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadores: Paulo Afonso Granjeiro
Adriano Guimarães Parreira
Daniel Bonoto Gonçalves
José Antônio da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P912 Práticas em bioquímica analítica / Organizadores Paulo Afonso Granjeiro, Adriano Guimarães Parreira, Daniel Bonoto Gonçalves, et al. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Outro organizador
José Antônio da Silva

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-0709-6
DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.096221411>

1. Bioquímica. I. Granjeiro, Paulo Afonso (Organizador).
II. Parreira, Adriano Guimarães (Organizador). III. Gonçalves,
Daniel Bonoto (Organizador). IV. Título.

CDD 572

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

PREFÁCIO

Medida pelos mais variados parâmetros, é incontestável a expansão das informações científicas produzidas nas últimas décadas. Em particular, a Bioquímica atravessa um período de aumento exponencial de conhecimentos.

Muitos desses conhecimentos têm sido aplicados, com uma velocidade e uma eficiência sem precedentes, na melhoria das condições de vida e bem-estar dos seres humanos. A saúde pública, a produção de alimentos, as matrizes energéticas, o cuidado com o meio ambiente e inúmeros outros setores da vida social têm sido beneficiados pelo contínuo fluxo das informações originadas nos laboratórios de pesquisa.

Para os profissionais envolvidos no ensino de Bioquímica, o crescimento vertiginoso dessa área agravou um crônico paradoxo curricular: o aumento do volume de informações e a manutenção do tempo destinado ao seu ensino.

Uma consequência perceptível desse conflito é a redução das atividades práticas de muitas disciplinas, em franca contradição com o fato de ser a Bioquímica uma ciência experimental. As atividades práticas de laboratório precisam, por isso, ser criteriosamente escolhidas para cumprir seu papel educativo.

A seleção dos experimentos de Bioquímica passa agora a ter um suporte valioso: três docentes da Universidade Federal de São João del Rei e um docente da Universidade Estadual de Minas Gerais, auxiliados por seus estudantes, reuniram, em um *e-book*, **Práticas em Bioquímica Analítica**, um conjunto de experimentos testados, aplicados rotineiramente e minuciosamente descritos.

Cada experimento ou módulo é iniciado com uma introdução teórica, seguida dos objetivos que devem ser alcançados pelos alunos e, naturalmente, pelos materiais e métodos a serem utilizados e o protocolo detalhado da atividade a ser realizada. Quando pertinente, é introduzida uma seção intitulada *Curiosidades*, com informações contextualizadas sobre o assunto em estudo. Para um aprofundamento no assunto, cada experimento é seguido de uma lista de referências bibliográficas. Estão contempladas as unidades programáticas principais do estudo de Bioquímica, precedidas por um excelente capítulo versando sobre segurança e boas práticas de laboratório.

Naturalmente, a totalidade de experimentos apresentados não poderia ser aplicada nas disciplinas comuns de diferentes habilitações – eles foram padronizados para o curso de Bacharelado em Bioquímica. Entretanto, trata-se de um rico repertório de atividades que poderão ser usadas de forma independente ou servir como modelo para adaptações e ajustes às condições de cada instituição e aos objetivos de cada docente.

Os docentes e alunos de Bioquímica ficam agradecidos à equipe autora das **Práticas em Bioquímica Analítica!**

Bayardo Baptista Torres

Professor Sênior - Departamento de Bioquímica. Laboratório de Ensino de Bioquímica. Universidade de São Paulo - USP

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

BIOSSEGURANÇA

Daniel Bonoto Gonçalves
Adriano Guimarães Parreira
Anderson Fernandes de Melo
Wanderson Duarte Penido
Anna Kelly Moura Silva
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Raquel Valinhas e Valinhas
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214111>

CAPÍTULO 2..... 13

PREPARO DE SOLUÇÕES

Daniel Bonoto Gonçalves
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Wanderson Duarte Penido
Júlia Antunes Tavares Ribeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214112>

CAPÍTULO 3..... 18

EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE SEMENTES

Jose Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Klédna Constância Portes Reis
Anna Kelly Moura Silva
Júlia Antunes Tavares Ribeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214113>

CAPÍTULO 4..... 25

PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS DE SEMENTES

José Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Diego Fernandes Livio
Raquel Valinhas e Valinhas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214114>

CAPÍTULO 5..... 32

DOSAGEM DE PROTEÍNAS – MÉTODO BRADFORD

José Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Diego Fernandes Livio
Raquel Valinhas e Valinhas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214115>

CAPÍTULO 6..... 37

MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

José Antonio da Silva
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Priscila Amaral Diniz
Anderson Fernandes de Melo
Diego Fernandes Livio
Anna Kelly Moura Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214116>

CAPÍTULO 7..... 45

DOSAGEM DE INIBIDORES DE PROTEASES

José Antonio da Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Júlia Antunes Tavares Ribeiro
Diego Fernandes Livio
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214117>

CAPÍTULO 8..... 55

ENSAIO DE HEMAGLUTINAÇÃO

José Antonio da Silva
Júlia Antunes Tavares Ribeiro
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Vinícius Souza Tarabal
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves Gonçalves
Anderson Fernandes de Melo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214118>

CAPÍTULO 9..... 63

ELETROFORESE DE PROTEÍNAS EM GEL

José Antonio da Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves

Priscila Amaral Diniz
Anna Kelly Moura Silva
Klédna Constância Portes Reis

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214119>

CAPÍTULO 10..... 73

GRAU DE PURIFICAÇÃO E RENDIMENTO DE PROTEÍNAS

José Antonio da Silva
Paulo Afonso Granjeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141110>

CAPÍTULO 11..... 79

PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS

Paulo Afonso Granjeiro
Diego Fernandes Livio
Maria Auxiliadora de Oliveira
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Tuânia Natacha Lopes Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141111>

CAPÍTULO 12..... 91

CARACTERIZAÇÃO DE LIPÍDIOS

Paulo Afonso Granjeiro
Diego Fernandes Livio
Maria Auxiliadora de Oliveira
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Tuânia Natacha Lopes Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141112>

CAPÍTULO 13..... 103

PRODUÇÃO DE CARBOIDRATOS

Paulo Afonso Granjeiro
Raquel Valinhas
Heloísa Carneiro Colares
Tuânia Natacha Lopes Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Felipe Ferreira Silva
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141113>

CAPÍTULO 14.....	112
CARACTERIZAÇÃO DE CARBOIDRATOS	
Paulo Afonso Granjeiro	
Heloísa Carneiro Colares	
Raquel Valinhas	
Luísa Ferreira da Cruz	
Felipe Ferreira Silva	
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141114	
CAPÍTULO 15.....	121
EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS	
Daniel Bonoto Gonçalves	
Felipe Ferreira Silva	
Priscila Amaral Diniz	
Heloísa Carneiro Colares	
Klédna Constância Portes Reis	
Wanderson Duarte Penido	
Anderson Fernandes de Melo	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141115	
CAPÍTULO 16.....	129
CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS	
Daniel Bonoto Gonçalves	
Felipe Ferreira Silva	
Priscila Amaral Diniz	
Heloísa Carneiro Colares	
Klédna Constância Portes Reis	
Wanderson Duarte Penido	
Anderson Fernandes de Melo	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141116	
RESPOSTAS DAS QUESTÕES.....	137
SOBRE OS ORGANIZADORES	147
SOBRE OS AUTORES	149

Paulo Afonso Granjeiro

Heloísa Carneiro Colares

Raquel Valinhas

Lúisa Ferreira da Cruz

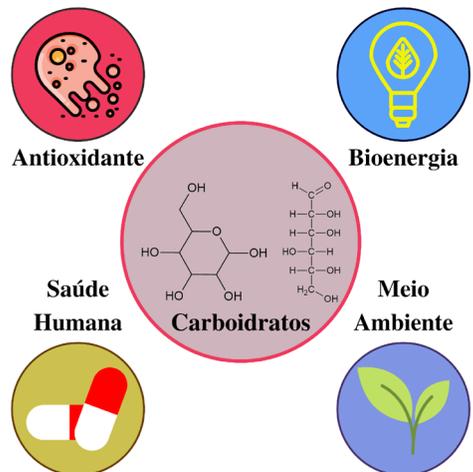
Felipe Ferreira Silva

Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, vários estudos relacionados aos polissacarídeos têm atraído a atenção de químicos e imunobiologistas devido às suas propriedades bioativas, incluindo anticâncer, anti-inflamatório antioxidativo, antitumor e antienvhecimento, conferindo resistência à fadiga física, além de outras propriedades medicinais. A partir de uma variedade de cogumelos, um grande número de polissacarídeos foi isolado, estruturalmente caracterizados e avaliados em termos de funções biológicas e efeitos (GIAVASIS, 2014). Além disso, uma grande quantidade de evidências tem implicado que quantidade excessiva de radicais livres de oxigênio, gerados como subprodutos no processo de metabolismo celular, são considerados importantes agentes causadores de câncer, envelhecimento,

doenças cardiovasculares e aterosclerose (FINKEL; HOLBROOK, 2000). Os carboidratos apresentam inúmeras aplicações, as principais estão demonstradas no esquema 3.



Esquema 3 – Principais aplicações dos carboidratos.

Fonte: do próprio autor (2022).

Atividade antioxidante

Antioxidantes têm sido amplamente utilizados como aditivos alimentares para proteger contra a degradação oxidativa por radicais livres, e ajudar a prevenir espécies reativas de oxigênio prejudiciais no corpo humano (YAN *et al.*, 2011). Assim, o desenvolvimento e utilização de mais antioxidantes eficazes naturais são desejados.

O estudo realizado por Zhang e colaboradores (2016) teve por objetivo contribuir para a efetiva exploração e utilização do composto residual de cogumelo (SMC) produzido pela espécie *Ganoderma lucidum* (SMC-G). Foi extraído um polissacarídeo solúvel em água (GPS) e depois purificadas duas frações (GPS-1 e GPS-2). As condições ótimas para a extração do GPS foram otimizadas pelo delineamento fatorial do composto central (CCD), e o rendimento de GPS atingiu 3,84% com uma proporção de água para material de 34,5, um tempo de precipitação de 19,82 h e pH de 7,88. A análise característica mostrou que o GPS-1 e o GPS-2 eram heteropolissacarídeos e possuíam estruturas glicosídicas (-OH, C-H, C-O e C-O-C). Tanto o GPS quanto as suas frações mostraram atividades antioxidantes potenciais através da remoção de radicais hidroxilo e 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), e aumentando o poder redutor *in vitro*; e melhorando as atividades de CAT e baixando os conteúdos LPO e MDA *in vivo*, respectivamente. Os resultados forneceram uma referência para a exploração do SMC-G que seria significativa para o desenvolvimento sustentável da indústria e da agricultura, a proteção do ambiente e a plena utilização dos recursos.

Bioenergia

O bioetanol tem atraído cada vez mais atenção como estratégia para redução de gases de efeito estufa (GEE) e para a segurança energética global. Atualmente, a produção comercial de etanol depende principalmente da fermentação de sacarose e glicose. O Brasil e os Estados Unidos juntos representaram cerca de 84% da produção mundial de etanol, usando cana-de-açúcar e milho como matéria-prima, respectivamente (EIA, 2020). A crescente produção deste combustível no Brasil e mundo é, entre outros fatores, devido à alta demanda de mercado. Só no Brasil, no ano de 2019, o consumo total de etanol foi de 32,8 bilhões de litros, apresentando um aumento de 11,1% em relação ao ano de 2018 (UDOP, 2020).

Nos últimos anos, muitos cientistas e organizações forneceram algum debate sobre a indústria de etanol à base de milho ou de cana-de-açúcar, com relação a preocupações de segurança alimentar (DALBIANCO *et al.*, 2020), degradação ambiental e outras questões (ZHAO *et al.*, 2020). Para superar essas limitações, muitos cientistas estão se concentrando no desenvolvimento de processos que utilizem matérias-primas novas ou mais baratas para substituir o milho ou a cana-de-açúcar pela produção de bioenergia no futuro (DILÁSCIO *et al.*, 2020). O substrato mais atraente é a biomassa lenhosa, a partir da qual o bioetanol ou outros produtos de valor agregado podem ser produzidos via bioconversão (BARBOSA *et al.*, 2020; TOOR *et al.*, 2020; CHATTOPADHYAY *et al.*, 2018). Nas últimas décadas, algumas culturas energéticas, como a erva-gramínea (ALEXANDER *et al.*, 2020), aquáticas *Eichhornia crassipes* (TEIXEIRA *et al.*, 2019) e resíduos agrícolas ou florestais, atraíram cada vez mais atenção para a bioenergia (CARRILLO-NIEVES *et al.*, 2020). Embora a biomassa lignocelulósica seja uma fonte abundante e renovável para a produção de bioetanol, o processo em escala comercial ainda é limitado devido aos

gargalos existentes no pré-tratamento, hidrólise enzimática, microrganismos robustos, etc. Os desafios enfrentados pela sociedade devido à dependência dos recursos baseados no petróleo estão relacionados com a diminuição das reservas de combustíveis fósseis. Como alternativa à substituição de recursos fósseis limitados há, atualmente, um grande interesse em desenvolver estratégias para a utilização de matérias-primas renováveis. A biomassa vegetal é geralmente vista como uma das fontes sustentáveis, uma vez que é renovável, abundante e amplamente distribuída na natureza. A conversão efetiva da biomassa em biocombustíveis, produtos químicos e biomateriais tem recebido atenção crescente (KOGUT *et al.*, 2021; DILÁSCIO *et al.*, 2020; REZANIA *et al.*, 2020).

Saúde Humana

Fungos, microalgas e bactérias podem sintetizar uma grande variedade de Exopolissacarídeos (EPSs), que são polímeros de carboidratos de cadeia longa. Particularmente, bactérias lácticas os sintetizam extracelularmente a partir de sacarose por glucano-sacarases ou intracelularmente por glicosiltransferases de precursores de nucleotídeos de açúcar para formar unidades de repetição, que são então montadas e exportadas para o espaço extracelular e tipicamente presentes em produtos lácteos fermentados (AYYASH *et al.*, 2020). Digno de nota, o EPS-DB compreende apenas polissacarídeos extracelulares compostos de unidades repetitivas (incluindo aquelas com modificações pós-polimerização. Além das propriedades texturais em produtos lácteos fermentados, as EPSs podem conferir efeitos benéficos à saúde em humanos, incluindo efeito antitumoral, imunomodulação, propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (HASHMINYA; DEGHANNYA, 2020), redução dos níveis de colesterol e controle de pressão sanguínea. Além de recentemente ter sido aplicado para obtenção de matrizes tridimensionais para o cultivo de tecidos humanos (ALCIDES; OLIVEIRA; BAGAGLI, 2020). Foi estabelecido que as propriedades intrínsecas dos EPSs (por exemplo, composição, ramificação, carga, massa molar) são cruciais para a interação de proteínas (ORTEGA *et al.*, 2020; BIRCH *et al.*, 2017) e suas complexações com células bacterianas são de grande importância em (i) propriedades reológicas de produtos lácteos fermentados; (ii) interações pró e pré-bióticas; e (iii) formação de biofilme (KIELAK *et al.*, 2017). Essas associações intermacromoleculares são altamente específicas e impulsionadas por ligações de hidrogênio, forças eletrostáticas e iônicas (AYYASH *et al.*, 2020; ORTEGA *et al.*, 2020). Isso enfatiza a importância do conhecimento estrutural do EPS para a adequada descrição e compreensão das propriedades de tais complexos.

Meio ambiente

Os EPEs apresentam inúmeras aplicações ambientais, tais como formação e estabilização de biofilmes, principalmente devido às suas propriedades interessantes e tecnofuncionais (ORTEGA *et al.*, 2020). No estudo realizado por Kielak e colaboradores

(2017), os EPS acidobacterianos das cepas WH15 e 5B5 pertencentes a *Granulicella sp.* foram caracterizados como heteropolissacarídeos contendo manose, glicose, galactose e xilose como principais componentes monossacarídeos. Além disso, os EPSs apresentaram melhores propriedades bioemulsificantes em relação a xantana. A alta estabilidade das duas EPS em relação à exposição à temperatura e ao tempo demonstra claramente o seu potencial para aplicações em condições ambientais extremas.

2 . OBJETIVOS

- a) Quantificar o Exopolissacarídeo extraído a partir de microrganismos.
- b) Quantificar o etanol produzido pelos microrganismos
- c) Determinar a estequiometria do processo de produção de etanol conduzido

3 . MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- a. Erlenmeyer (250 mL)
- b. Beckers (25, 50 mL e 100 mL)
- c. Levedura comercial
- d. Fermentômetro
- e. Balão de fundo redondo (500 mL)
- f. Tubos de Ensaio
- g. Tubos Eppendorf e Falcon
- h. Tubo cônico de 50 mL
- i. Centrífuga para tubo Eppendorf e Falcon
- j. Espectrofotômetro
- k. Pipetas (1000mL)
- l. Ponteiras (1000mL)
- m. Balança semianalítica
- n. Manta aquecedora
- o. Termômetro
- p. Coluna de destilação fracionada
- q. Condensador
- r. Alcoômetro
- s. Banho-maria
- t. Vortex

4 . SOLUÇÕES

- a. Solução de glicose

5 . PROCEDIMENTOS

Parte 1. Determinação de açúcares (Exopolissacarídeo)

1. Centrifugar o mosto a 5000 g por 10 minutos;
2. Adicionar em um microtubo de 2 mL, 100 μ L de amostra centrifugada, em triplicata;
3. Adicionar ao tubo com as amostras, 200 μ L do reagente DNS;
4. Fazer a curva padrão do DNS, conforme Quadro 15.
5. Incubar em banho-maria a 100°C, por 5 minutos, as amostras e a curva padrão;
6. Adicionar 1,5 mL de água;
7. Homogeneizar em vórtex;
8. Fazer a leitura em espectrofotômetro a 540 nm;
9. Construir a curva de calibração a partir da leitura da curva padrão, lançando nas abscissas as concentrações de glicose e os valores de absorbância nas ordenadas.
10. Utilizar a equação da reta ($Abs = a \times [glicose]$) para calcular a quantidade de Açúcares Redutores (exopolissacarídeo).

Amostra	[Glicose] g/L	Glicose 0,5 g/L (μ L)	Água (μ L)
1	0,0	0	100
2	0,1	20	80
3	0,2	40	60
4	0,3	60	40
5	0,4	80	20
6	0,5	100	0

Quadro 20 - Quantidades de água e D-glicose para curva de calibração do DNS.

Fonte: do próprio autor, 2022.

Parte 2. Produção de etanol

A. Destilação

1. Montar o sistema de destilação composto por: manta aquecedora, balão de fundo redondo de 500 mL, termômetro, coluna de destilação fracionada, condensador e frasco receptor.
2. Transferir o mosto fermentado, com volume previamente determinado, para o balão.
3. Manter a temperatura da manta ajustada em 90°C para possibilitar a destilação da mistura azeotrópica (etanol-água).
4. Medir, após a destilação, o volume recuperado de solução alcoólica.
5. Determinar o teor alcóolico.
6. Calcular o rendimento do processo de destilação (Quadro 15).
7. Determinar o rendimento alcóolico do processo global (Quadro 15).

B. Determinação do etanol produzido

1. Utilizar os valores obtidos de CO₂ para estimar o etanol produzido através do cálculo baseado na estequiometria do processo fermentativo, onde para cada mol de glicose consumido são produzidos dois mols de etanol e dois mols de CO₂ (Quadro 16).
2. Quantificar novamente, ao final do processo fermentativo, a concentração de açúcares
3. Determinar o teor alcóolico através da leitura do alcoômetro.

CO ₂ Desprendido	381,4 - 378,9 = 2,5
CO ₂ (g/L)	(1000 x CO ₂ desprendido) ÷ Vol. Total mosto (1000 x 2,5) ÷ 200 = 12,5 g/L
Etanol teórico (g/L)	(CO ₂ g/L x 0,511) ÷ 0,489 (12,5 x 0,511) ÷ 0,489 = 13,06 g/L
Etanol % (v/v)	13,06 ÷ 10 = 1,31 1,31 ÷ 0,789 = 1,66

Quadro 21 - Cálculo de etanol equivalente.

Fonte: do próprio autor (2022).

6. QUESTÕES

1. Qual a importância de o processo ser realizado na ausência de oxigênio?
2. Por que é importante pesar todo o sistema fermentativo em intervalo de tempo?

3. Qual a relação da quantidade de glicose consumida com o rendimento da reação?
4. Qual a função do reagente DNS?
5. Qual aplicação prática da produção de carboidratos por leveduras?

7. CURIOSIDADES

Que as guloseimas, balas, pudim, milkshake, sorvete, geleias, são deliciosas ninguém pode negar e apresentam textura macia, cremosa e leve. A indústria de alimentos possui um grande arsenal de aditivos que são usados para melhorar a sensação na boca, textura, sabor e a vida útil dos produtos, muitos desses aditivos são de origem bacteriana, sendo os mais utilizados os exopolissacarídeos. Os exopolissacarídeos são semelhantes às geleias. A indústria os chama de geleias bacterianas. São eles que dão a textura nessas guloseimas, incrível não é mesmo!

REFERÊNCIAS

ALCIDES, M.; OLIVEIRA, L. A.; BAGAGLI, M. P. Estudo da produção exopolissacarídeo solúvel de Kefir de água. *Revista Brasileira de Iniciação Científica*, v. 7, n. 4, p. 87-106, 2020.

ALEXANDER, L.; HATCHER, C.; MAZAREI, M.; HAYNES, E. Development and field assessment of transgenic hybrid switchgrass for improved biofuel traits. *Euphytica*, v. 216, n. 25, 2020.

AYYASH, M.; JDAYIL, B. A.; ITSARANUWAT, P.; GALIWANGO, E.; ROSA, C. T.; ABDULLAH, H.; ESPOSITO, G.; HUNASHAL, Y.; OBAID, R. S.; HAMED, F. Characterization, bioactivities, and rheological properties of exopolysaccharide produced by novel probiotic *Lactobacillus plantarum* C70 isolated from camel milk. *International Journal of Biological Macromolecules*, n. 144, p. 938-946, 2020.

BARBOSA, S. L.; FREITAS, M. S.; SANTOS, W. T. P.; NELSON, D. L.; MARQUES, M. B. F.; KLEIN, S. I.; CLOSOSKI, G. C.; CAIRES, F. J.; NASSAR, E. J.; ZANATTA, L. D.; AGBLEVOR, S. A.; AFONSO, C. A. M.; BARONI, A. C. M. Preparation of activated charcoal from *Acrocomia aculeata* for purification of pretreated crude glycerol. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2020.

BIRCH, J., CALSTEREN, M. V., PÉREZ, S., SVENSSON, B. The exopolysaccharide properties and structures database: EPS-DB. Application to bacterial exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, n. 205, p. 565–570, 2019.

CARRILLO-NIEVES, D.; SALDARRIAGA-HERNANDEZ, S.; GUTIÉRREZ-SOTO, G.; ROSTRO-ALANIS, M.; HERNÁNDEZ-LUNA, C.; ALVAREZ, A. J.; IQBAL, H. M. N.; PARRA-SALDÍVAR, R. Biotransformation of agro-industrial waste to produce lignocellulolytic enzymes and bioethanol with a zero waste. *Biomass conversion and Biorefinery*, 2020.

CHATTOPADHYAY, P.; BANERJEE, G.; SEN, S. K. Cleaner production of vanillin through biotransformation of ferulic acid esters from agroresidue by *Streptomyces sannanensis*. *Journal of Cleaner Production*, n. 182, p. 272-279, 2018.

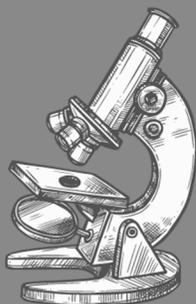
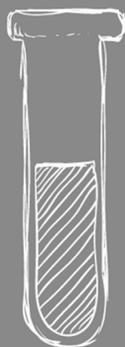
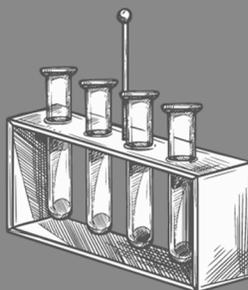
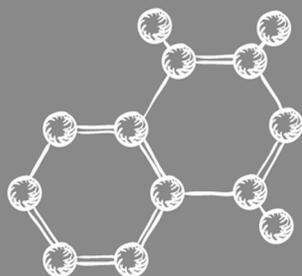
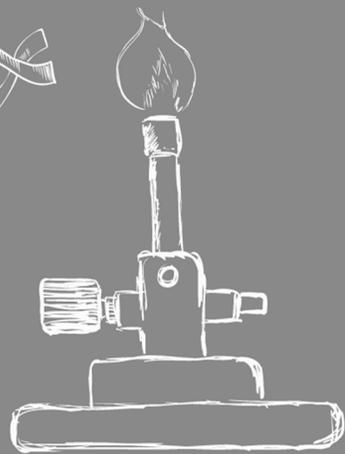
- DALBIANCO, A. B.; SEABRA JÚNIOR, S.; SANTI, A.; TRENTO, D. A.; DIPPLE, F. L.; VENDRUSCULO, M. C.; VENDRUSCULO, M. V. A crise dos alimentos e o preço dos produtos agrícolas. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 11, 2020.
- DILÁSCIO, M. B.; BARBOSA, C. M.; JARDIM, A. T. P. S.; DILÁSCIO, B. B.; SIQUEIRA, P. H. L.; DINIZ, D. M. Monitoramento tecnológico das patentes de etanol de segunda geração. *Revista GEINTEC*, v. 10, n. 3, p. 5553-5566, 2020.
- FINKEL T.; HOLBROOK N. J. Oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, v. 408, n. 6809, 239–247, 2000.
- GIAVASIS, I. Bioactive fungal polysaccharides as potential functional ingredients in food and nutraceuticals. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 26, 162–173, 2014.
- HASHEMINYA, S. M.; DEGHANNYA, J. Novel ultrasound-assisted extraction of kefirian biomaterial, a prebiotic exopolysaccharide, and investigation of its physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties. *Materials Chemistry and Physics*, v. 243, n. E0934A, 2020.
- IEA, 2020. International Energy Agency. Disponível em: <https://afdc.energy.gov/data/>. Acesso em: 24/09/2021.
- KIELAK, A. M.; CASTELLANE, T. C. L.; CAMPANHARO, J. C.; COLNAGO, L. A.; COSTA, O. Y. A.; SILVA, M.L.C.; VAN, VEEN, J. A.; LEMOS, E. G. M.; KURAMAE, E. E. Characterization of novel *Acidobacteria* exopolysaccharides with potential industrial and ecological applications. *Scientific Reports*, v. 7, n. 41193, p. 01-11, 2017.
- KOGUT, M. S.; KOGUT, T.; MARKIEWICZ, R.; SŁOWIK, A. Use of machine learning methods for predicting amount of bioethanol obtained from lignocellulosic biomass with the use of Ionic liquids for pretreatment. *Technologies for Biofuels and Energy*, v. 14, n. 1, p. 243, 2021.
- ORTEGA, M. A. L.; HERNÁNDEZ, A. I. R.; RUÍZ, R. S. C.; CÓRDOVA, J.; CUELLAR, M. R. L.; HERNÁNDEZ, N. C.; GARCÍA, Y. G. Physicochemical characterization and emulsifying properties of a novel exopolysaccharide produced by haloarchaeon *Haloferax mucosum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 142, p. 152-162, 2020.
- REZANIA, S.; ORYANI, B.; CHO, J.; TALAIEKHOZANI, A.; SABBAGH, F.; HASEMI, B.; RUPANI, P.F.; MOHAMMADI, A.A. Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: An overview. *Energy*, v. 199, n.117457, 2020.
- TEIXEIRA, D. A.; SANTOS, A. S.; PANTOJA, L. A.; BRITO, P. L.; COSTA, A. S. V. Produção de etanol de segunda geração a partir de Aguapé: Uma revisão. *Revista Virtual de Química*, v. 11, n. 1, 2019.
- TOOR, M.; KUMAR, S. S.; MALYAN, S. K.; BISHNOI, N. R.; MATHIMANI, T.; RAJENDRAM, K.; PUGAZHENDHI, A. An overview on bioethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Chemosphere*, v. 242, n. 125080, 2020.
- UDOP, 2020. Etanol registra recorde histórico de consumo no Brasil. Disponível em: www.udop.com.br. Acesso em: 24/09/2021.
- Yan, Y. L.; Yu, C. H.; Chen, J.; Li, X. X.; Wang, W.; Li, S. Q. *Carbohydrate Polymers*, v. 83, p. 217–224, 2011.

ZHANG, J.; MENG, G.; ZHAI, G.; YANG, Y.; ZHAO, H.; JIA, L. Extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides of spent mushroom compost of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 82, p. 432–439, 2016.

ZHAO, Y.; DAMGAARD, A.; LIU, S.; CHANG, H.; CHRISTENSEN, T. H. Bioethanol from corn stover – Integrated environmental impacts of alternative biotechnologies. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 155, n. 1, p.104652, 2020.

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



www.atenaeditora.com.br 

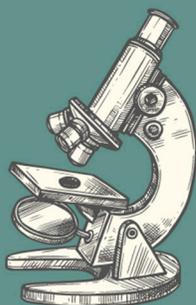
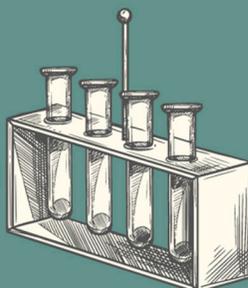
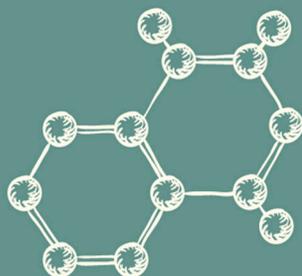
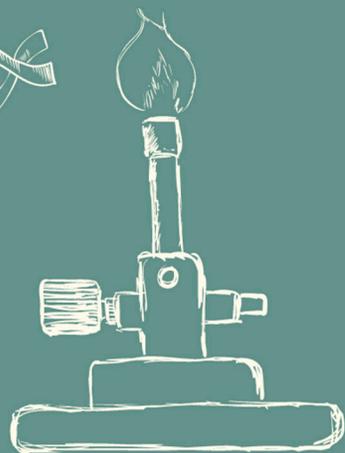
contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 