

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS CO KIT FOTOMETRIX

AL-SOUFI, WAJIH

BARCIA VIÉITEZ, RAMIRO

NOVO RODRÍGUEZ, MERCEDES

Universidade de Santiago de Compostela

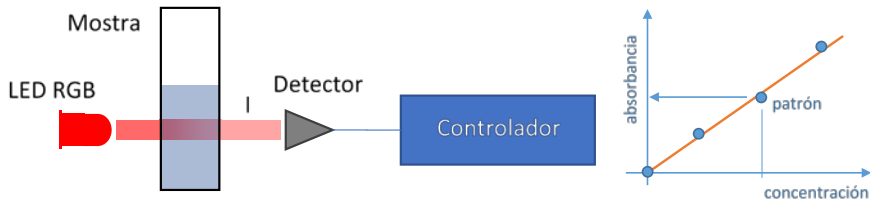
O kit **Fotometrix**, desenvolvido por membros do grupo XuvenCiencia no marco do proxecto *XuvenCiencia. Fago, logo aprendo!* financiado pola Fundación para la Ciencia y la Tecnología (FECYT), ten como obxectivo familiarizar ao alumnado coa **análise química e bioquímica** utilizando unha ferramenta de amplo uso como é o fotómetro e aplicándoa á **determinación analítica da proteína contida nun alimento**. Este kit pódese aplicar en prácticas regulares pero tamén en prácticas de investigación de clubs de ciencia ou do bacharelato STEM.

A elección das **proteínas** como obxecto de análise baseouse fundamentalmente en dous feitos: por unha banda, a importancia destas macromoléculas na alimentación e por outra, a existencia de diferentes métodos colorimétricos específicos para proteínas que permiten aplicar o fotómetro deseñado polo noso equipo.

A **fotometría** baséase no feito que as substancias coloreadas absorben a luz en proporción á súa concentración. Canta máis substancia está disolta máis luz absorbe. Entón se medimos canta luz absorbe a disolución podemos determinar canta substancia hai nela. Se o analito que nos interesa non ten cor temos que engadir outras substancias que o tingan. Moitas veces son substancias que ao reaccionar co analito cambian a súa cor, como é o caso da determinación de proteínas.

Entre os métodos que se poden empregar para determinar proteínas, talvez o máis coñecido é o método de Lowry (Lowry et al. 1951), que ademais se axusta perfectamente ás condicións para as que está orientado este traballo: ten unha sensibilidade adecuada para as mostras a analizar, é alcanzable tanto pola súa sinxeleza como polo seu custo e pode ser abordado sen problemas polo alumnado de ESO ou de BAC. O método de Lowry baséase na unión de ións Cu^{2+} no medio alcalino ao enlace péptico (que é a unión entre os aminoácidos para formar as proteínas); seguida pola reacción do reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton et al. 1999) cos aminoácidos que conteñan grupos fenólicos na súa estrutura, producindo unha coloración azul da mostra proporcional á concentración de proteína presente nela.

O kit **Fotometrix** consta de **dúas partes**: (1) un **fotómetro**, baseado no microcontrolador Arduino e a impresión 3D, que foi deseñado e construído de maneira que permita a realización de medidas de absorbancia coa precisión adecuada, pero tamén sirva para mostrar os fundamentos da fotometría, así como (2) os **reactivos e material necesarios** para a valoración cuantitativa da proteína presente nun alimento utilizando o método de Lowry. Pódense utilizar diversos alimentos, como pode ser leite, bebidas vexetais, zumes ou clara de ovo, pero tamén extractos de alimentos triturados e filtrados.



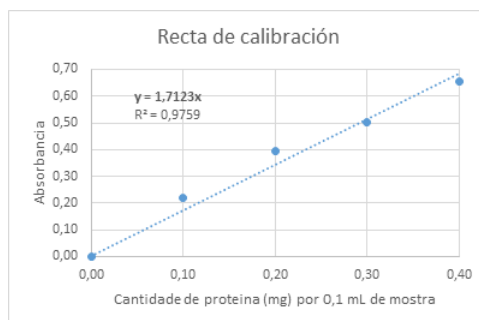
O kit Fotometrix inclúe o material docente, ficha de actividades e notas para o profesorado, para realizar as actividades que se describen a continuación. Estas actividades serven así mesmo para traballar co alumnado o método científico e a análise cuantitativa de datos experimentais.

1. exame do fotómetro para comprender os seus **fundamentos**
2. comprensión da **proporcionalidade entre a absorbancia e a concentración (lei de Lambert-Beer)**
3. **preparación dos reactivos** para aplicar o método de Lowry

Reactivo A: o seu compoñente fundamental é o CuSO_4 . Os ións Cu^{2+} no medio alcalino reaccionan con moléculas que conteñan na súa estrutura varias **enlaces pépticos** consecutivos (péptidos e proteínas) dando lugar a uns complexos solubles que presentan unha cor azul pouco intensa.

Reactivo B: tamén coñecido como reactivo de **Folin-Ciocalteu** ou reactivo de fenóis. Este reactivo reacciona con aqueles **aminoácidos da proteína** que leven na súa estrutura grupos fenólicos (por exemplo: tirosina) dando lugar a cor final dun azul intenso.

4. realización dunha **recta de calibración** utilizando unha proteína patrón



5. **determinación da concentración de proteína** nas mostras de alimentos elixidas.

Enlace: XuvenCiencia: Kit Fotometrix:

Páxina web: <https://xuvenciencia.org/portal/xc-na-aula/fotometrix/>

Blog: <https://xuvenciencia.org/blog/fotometrix-o-novo-fotometro-para-a-clase-pequeno-pero-maton/>