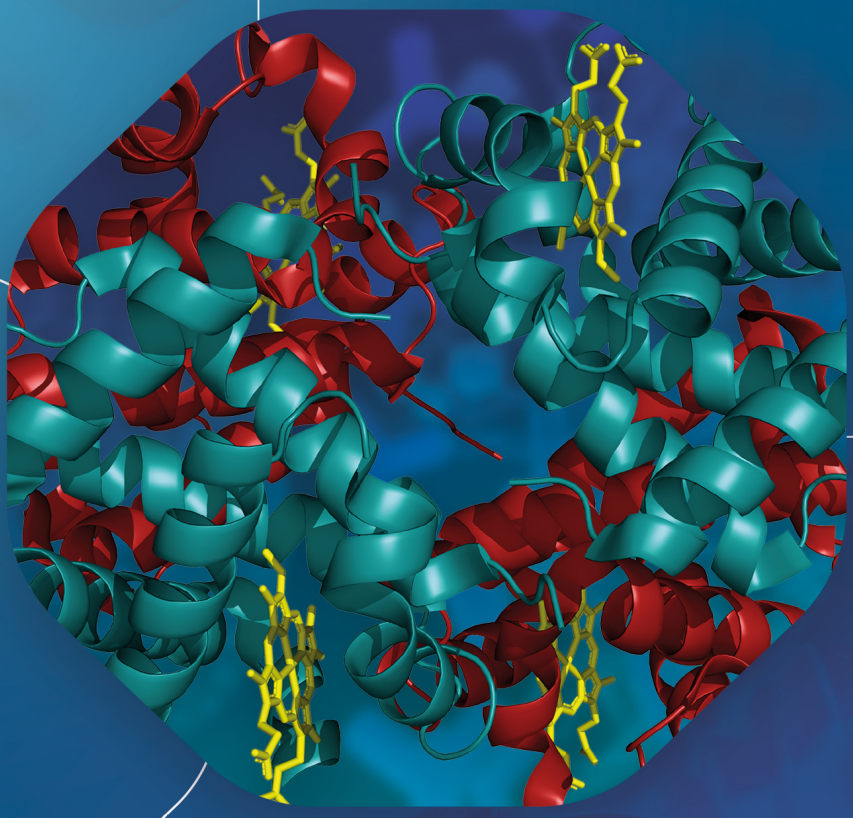
CELENE FERNANDES BERNARDES



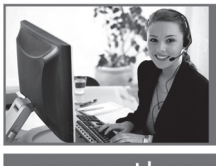
BIOQUÍMICA MOLECULAR

Teoria e Prática

Atheneu

BIOQUÍMICA MOLECULAR

Teoria e Prática



SAL

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO LEITOR

Tel.: 08000267753

www.atheneu.com.br

(21) 99165-6798 Facebook.com/editoraatheneu Twitter.com/editoraatheneu Youtube.com/atheneueditora

BIOQUÍMICA MOLECULAR

TEORIA E PRÁTICA

CELENE FERNANDES BERNARDES

Atheneu
Rio de Janeiro • São Paulo
2026

EDITORA ATHENEU

São Paulo — Rua Maria Paula, 123 – 13º andar
Conjuntos 133 e 134
Tel.: (11) 2858-8750
E-mail: atheneu@atheneu.com.br

Rio de Janeiro — Rua Bambina, 74 – lojas A e B
Tel.: (21) 3094-1295
E-mail: atheneu@atheneu.com.br

Pré-Produção e Produção Gráfica: Equipe Atheneu
Capa: Bruno Eustáquio Bento
Produção Editorial: MKX Editorial

CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO
SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ

B444b

Bernardes, Celene Fernandes
Bioquímica molecular : teoria e prática / Celene Fernandes Bernardes. - 1. ed. – Rio de Janeiro : Atheneu, 2026.
il. ; 24 cm.

Inclui bibliografia
ISBN 978-85-388-1298-2

1. Bioquímica. 2. Biologia molecular. I. Título.

26-105830.0

CDD: 572
CDU: 577.1

Gabriela Faray Ferreira Lopes - Bibliotecária - CRB-7/6643

18/06/2026 19/06/2026

©Direitos reservados à EDITORA ATHENEU – Rio de Janeiro, São Paulo, 2026

capítulo 1

Conceitos Básicos de Química Experimental

Autora: Celene Fernandes Bernardes

Revisor científico: Marcelo José Della Mura Jannini

Objetivos

- Reconhecer os instrumentos comumente empregados em Laboratórios de Bioquímica.
- Descrever a exatidão e a metodologia de emprego dos instrumentos volumétricos.
- Definir soluções e classificar unidades de concentração.
- Explicar os fundamentos essenciais e a maneira de utilização do dispositivo espectrofotômetro.

Experimentos

1. Aplicação de técnicas básicas para a preparação de soluções – utilização de balança de precisão e balão volumétrico.
2. Diluição de soluções – utilização de proveta.
3. Diluição de soluções – utilização de pipetas.
4. Espectro de absorção de corantes na faixa de comprimento de onda da luz visível.
5. Espectro de absorção na faixa de comprimento de onda ultravioleta.
6. Espectrofotometria – curva padrão de permanganato de potássio.
7. Espectrofotometria – curva padrão de glicose – diluição seriada de padrões.

Material de laboratório – vidraria e equipamentos

Os equipamentos volumétricos relacionados a seguir são os comumente utilizados em laboratório de bioquímica e compreendem: balões volumétricos; provetas; pipetas graduadas, volumétricas e micropipetas; buretas; béquer e erlenmeyer.

Os balões volumétricos e provetas são equipamentos volumétricos classificados como TC (*to contain*) e não podem ser utilizados com precisão em transferências de líquidos, pois a solução retida nas paredes internas do frasco não é transferida. As pipetas e buretas são aparelhos volumétricos classificados como TD (*to deliver*) e específicos para transferência de líquidos com precisão, pois apresentam os volumes corrigidos quanto à aderência do líquido às paredes internas do frasco.

Em todos os aparelhos volumétricos os volumes totais são aferidos a uma determinada temperatura, geralmente indicada no frasco. Quando utilizados em temperaturas que diferem em mais de 5 °C da temperatura de aferição, podem acarretar erros significativos na medida do volume. Para melhor precisão do volume medido, indica-se utilizar o aparelho volumétrico com volume total mais próximo do volume a ser medido.

Para a realização de experimentos utilizam-se também condensadores, tubos de ensaio e bico de Bunsen. Os equipamentos de apoio para utilização dos citados anteriormente são os pipetadores, suporte universal, garras de metal, tripé, tela de aquecimento e pisseta (Figuras 1.1 a 1.5).

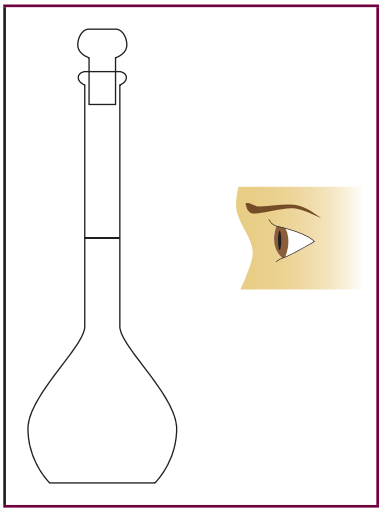


FIGURA 1.1. Balões volumétricos: equipamentos de alta precisão, adequados para se obter soluções líquidas de concentrações conhecidas. Os balões volumétricos apresentam um traço gravado em torno do gargalo que indica o nível do líquido quando preenchido com o volume para o qual foi construído. O nível do líquido deve ser ajustado quando o balão estiver apoiado em uma superfície plana e observado na horizontal.

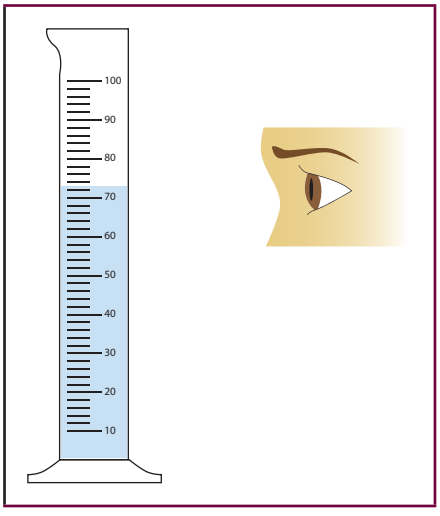


FIGURA 1.2. Provetas: equipamentos utilizados para medir o volume de líquidos e soluções. Apresentam baixa precisão. O nível do líquido deve ser ajustado com a marca da graduação específica para o volume desejado.

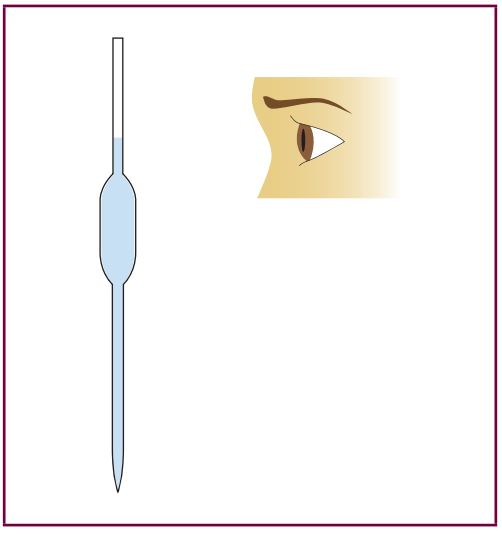


FIGURA 1.3. Pipetas volumétricas: equipamentos utilizados para transferência de volumes fixos de líquidos e soluções. Apresentam um tubo cilíndrico com um bulbo no centro e um traço na parte superior. O número gravado na pipeta corresponde ao volume total que pode ser pipetado dos líquidos e soluções.

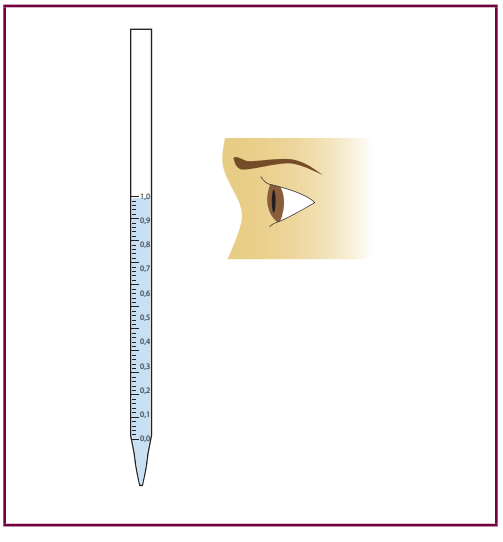


FIGURA 1.4. Pipetas graduadas: equipamentos utilizados para a transferência de frações do volume total de líquidos e soluções, com menor precisão do que a pipeta volumétrica. Apresentam um tubo cilíndrico graduado com inscrições do volume total e do menor volume possível a ser pipetado. Por exemplo: a inscrição 5 em 1/10 mL representa pipetas de 5,0 mL (volume total) calibradas em divisões de 0,1 mL (menor volume).

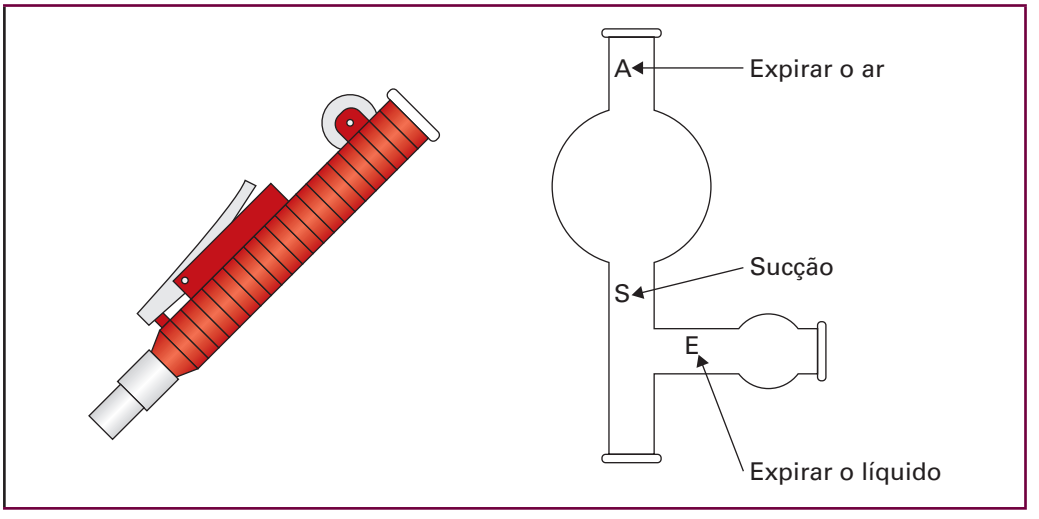


FIGURA 1.5. Pipetadores: equipamentos denominados peras ou bombas de sucção. As bombas de sucção no formato longitudinal são projetadas para a medida de diferentes volumes de solução, conforme a cor. As de cor azul possibilitam a sucção de até 2 mL; as de cor verde, de até 10 mL e as de cor vermelha, de até 20 mL de solução. Os pipetadores no formato de pera têm três válvulas, com funções distintas. A válvula superior permite a retirada de ar do sistema pipeta/bomba; a válvula lateral permite o escoamento do líquido, e a central possibilita a sucção do líquido.

Técnica para utilização de pipetas volumétricas e graduadas utilizando pipetador no formato de pera (Figuras 1.6 e 1.7)

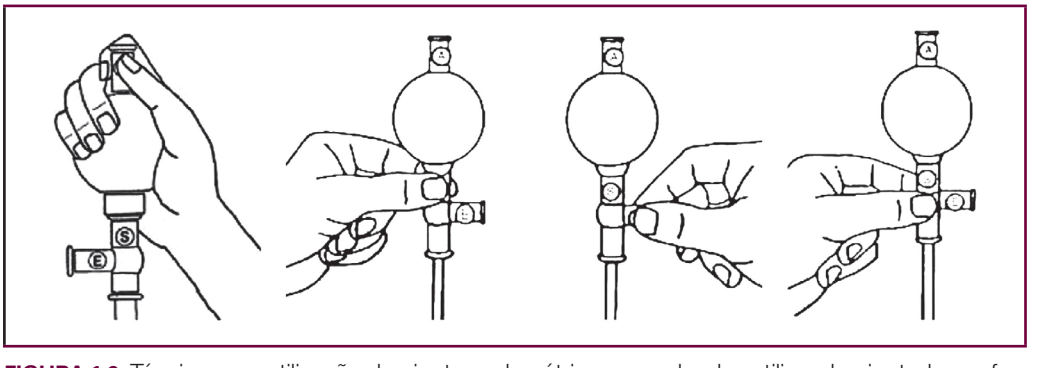


FIGURA 1.6. Técnica para utilização de pipetas volumétricas e graduadas utilizando pipetador no formato de pera. 1. Determinar a pipeta ideal para o volume a ser transferido. 2. Verificar a limpeza do equipamento. 3. Selecionar o pipetador. 4. Eliminar o ar contido dentro do pipetador, pressionando a válvula A. 5. Adaptar a pipeta ao pipetador. 6. Preencher a pipeta com a solução líquida até um nível superior à marca de referência de volume máximo, pressionando a válvula S. 7. Encostar a ponta da pipeta no frasco estoque e escoar, lentamente, até ajustar o líquido com a marca de referência, mantendo a pipeta na posição vertical, pressionando a válvula E. 8. Transferir e escoar a solução líquida dentro do frasco receptor, mantendo a pipeta na posição vertical e pressionando a válvula E. 9. Esperar cerca de 15 segundos para o escoamento total do líquido, que poderá ser completado com o uso adequado do pipetador. 10. Encostar a ponta da pipeta na superfície interna do frasco receptor e retirar a pipeta. Obs.: para maior precisão do volume coletado, recomenda-se preencher a pipeta com a solução líquida e escoar no próprio frasco estoque, formando um filme interno com a solução a ser pipetada, antes de coletar e transferir o líquido para o frasco receptor.

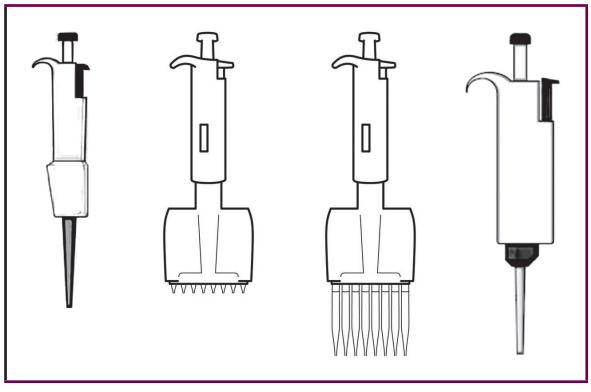


FIGURA 1.7. Micropipetas automáticas: equipamentos de medida normalmente utilizados para transferência, com precisão, de pequenos volumes de soluções líquidas, da ordem de microlitros (μL). O volume pode ser ajustado e o líquido é aspirado em uma ponteira, específica para cada pipeta. As micropipetas automáticas podem ser monocanal ou multicanal, possibilitando a coleta, respectivamente, de uma ou de várias amostras.

Técnica para utilização de pipetas automáticas (Figura 1.8)

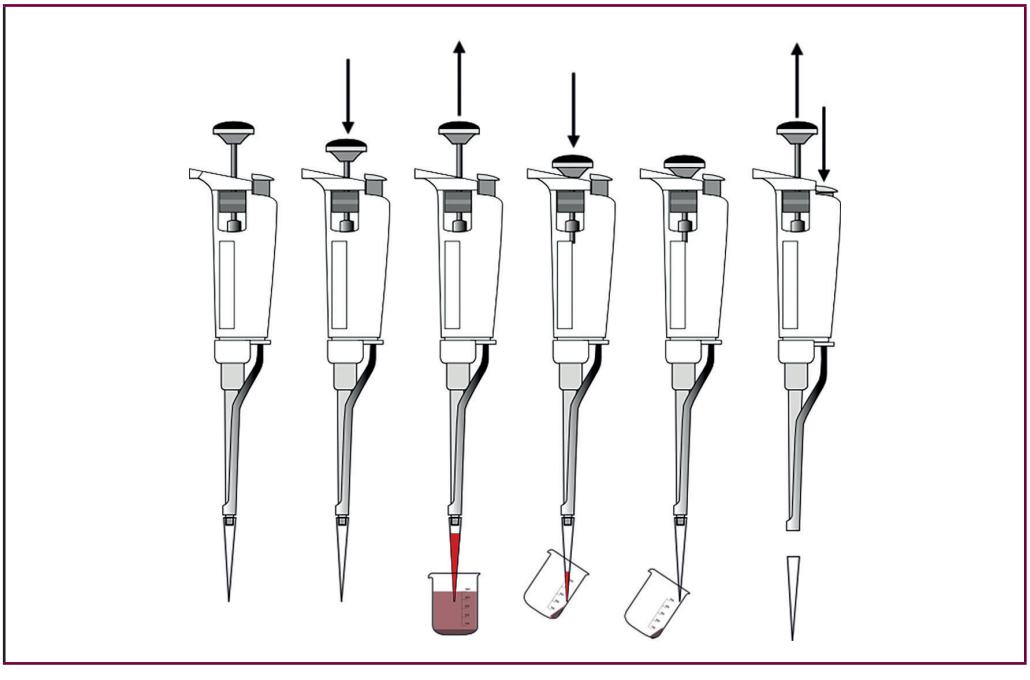


FIGURA 1.8. Técnica para utilização de pipetas automáticas. 1. Determinar a pipeta ideal para o volume a ser transferido. 2. Ajustar o volume desejado. 3. Colocar a ponteira específica (ou ponteiras, quando a pipeta for multicanal). 4. Apertar o botão superior até o primeiro estágio, para eliminar o ar proporcional ao volume desejado. 5. Colocar a ponteira, segurando o botão apertado no primeiro estágio, dentro da solução a ser pipetada. 6. Soltar o botão, de modo que o líquido seja aspirado na ponteira. 7. Transferir a pipeta e encostar a ponteira dentro do frasco receptor, mantendo a pipeta na posição vertical. 8. Apertar o botão até o segundo estágio, garantindo que todo o volume seja escoado para o frasco coletor. 9. Encostar a ponta da ponteira na superfície interna do frasco receptor e retirar a ponteira. Baseado em: http://labiq.iq.usp.br/paginas_view.php?idPagina=13#.YDJW8ehKjIU

Equipamentos (Figuras 1.9 a 1.15)

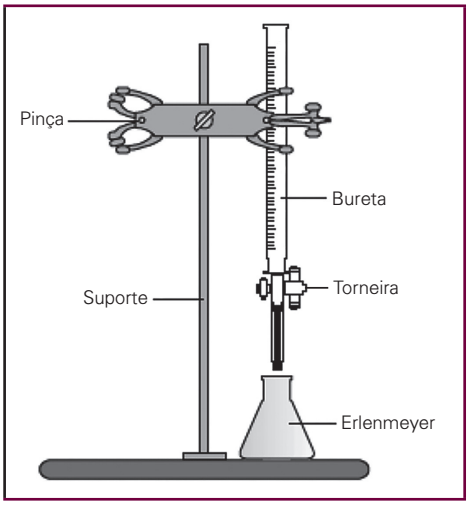


FIGURA 1.9. Buretas: equipamento no formato de um tubo cilíndrico graduado, com uma torneira na parte inferior, que permite o controle do fluxo do líquido transferido. As buretas são utilizadas apoiadas em um suporte universal.

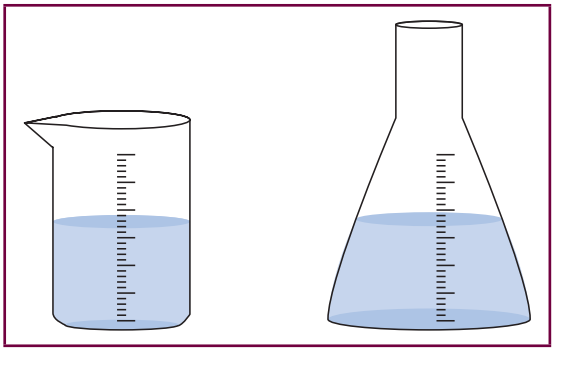


FIGURA 1.10. Béquer e erlenmeyer: frascos graduados utilizados para conter ou aquecer substâncias na forma sólida ou líquida e para transferir volumes de soluções líquidas. Apresentam menor precisão que as buretas, pipetas e provetas. O erlenmeyer também é utilizado em procedimento de titulação.

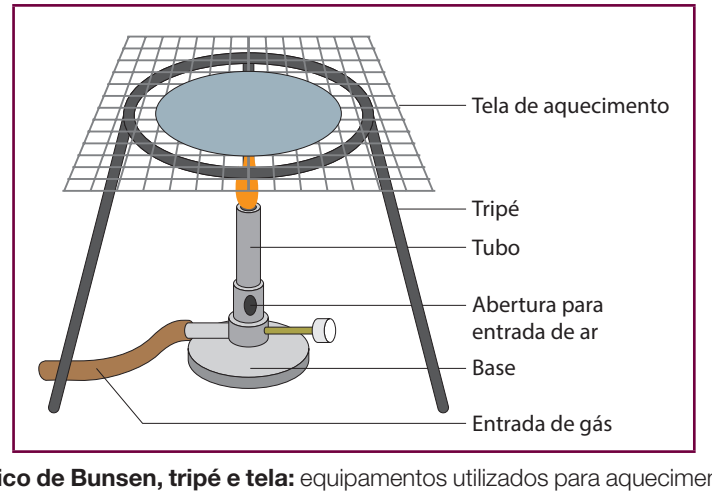


FIGURA 1.11. Bico de Bunsen, tripé e tela: equipamentos utilizados para aquecimento. Para acender o bico de Bunsen, seguir as etapas de (a) abrir a válvula central de gás, (b) acender o fósforo e posicionar na parte superior do tubo, (c) abrir a válvula da base do bico de Bunsen e (d) regular a intensidade da chama abrindo a janela da entrada de oxigênio.

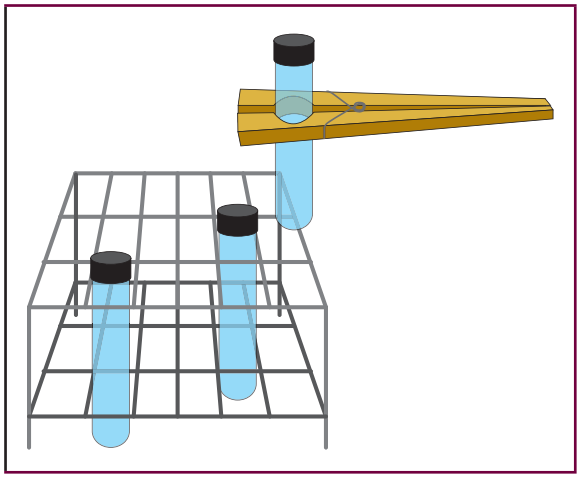


FIGURA 1.12. **Tubos de ensaio:** equipamentos utilizados para conter líquidos ou sólidos e realização de experimentos em pequena escala. Normalmente ficam apoiados em **estantes** específicas ou transportados com **pinça de madeira.**

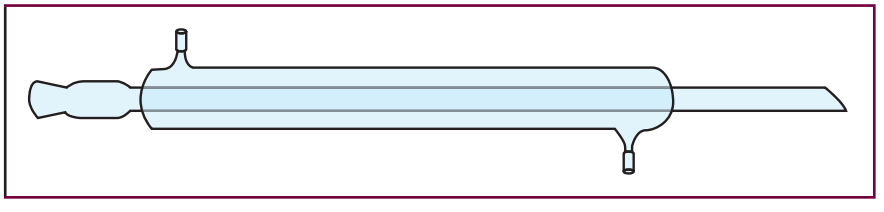


FIGURA 1.13. **Condensador**: equipamento utilizado no processo de destilação, possibilitando a condensação de vapor decorrente de um líquido aquecido. O tubo central pode ser reto, conforme a figura, ou de bola ou de serpentina.



FIGURA 1.14. **Suporte universal** e **garras e mufas específicas:** equipamentos utilizados para fixação, por exemplo, de bureta e condensador ou para apoio de funil.

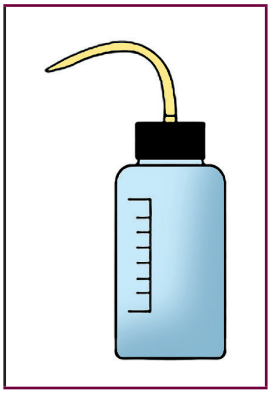


FIGURA 1.15. **Pisseta**: frasco de polietileno utilizado para conter água ou outros solventes. Apresenta uma tampa com bico que permite escoar o líquido na forma de jatos, ao ser pressionado com as mãos.

Os equipamentos elétricos/eletrônicos normalmente utilizados no laboratório de bioquímica são: **agitadores magnéticos e de tubos, banho de água (banho-maria) termostatizado, centrífuga, balança de precisão, eletroforese, espectrofotômetro e peagâmetro.**

- **Agitadores magnéticos e de tubos:** equipamentos utilizados para agitar e misturar substâncias. O agitador de tubos é utilizado para quantidades pequenas de substâncias contidas em um tubo de ensaio. O agitador magnético baseia-se no movimento de um ímã (peixinho) colocado dentro de um recipiente que contém as substâncias a serem misturadas.
- **Balança de precisão:** equipamento utilizado para medida de massa. As substâncias são pesadas em recipientes apropriados, previamente tarados, com precisão de, no mínimo 0,001 g.
- **Banho-maria:** equipamento utilizado para aquecer substâncias líquidas ou sólidas, a uma temperatura máxima constante. O recipiente contendo a substância é mergulhado na água, na temperatura estipulada e mantida por termostato.
- **Centrífuga:** equipamento utilizado para separar substâncias com densidades diferentes. Baseia-se na separação decorrente da força centrífuga, em que as substâncias com maior densidade são sedimentadas mais rapidamente. As substâncias são colocadas em tubos específicos e a velocidade de sedimentação é medida em rotação por minuto (r.p.m.) ou força gravitacional (**g**). Para obter a força centrífuga relativa (FCR), expressa em números de **g**, considera-se a distância do eixo do rotor ao fundo do tubo, em cm (Rmax), de acordo com a fórmula: $FCR = 11{,}17 . Rmax . (rpm/1000)^2$.
- **Eletroforese:** equipamento utilizado para separar substância com cargas, em um campo elétrico. A cuba de eletroforese, que pode ser vertical ou horizontal, é conectada a uma fonte de energia elétrica. A amostra com a substância a ser separada é colocada em um suporte, que fica em contato com uma solução ou gel com pH específico, contida dentro da cuba. Detalhes do processo serão apresentados nos experimentos específicos que utilizam a técnica de eletroforese.
- **Espectrofotômetro:** instrumento de análise utilizado em laboratório de bioquímica principalmente para identificar e quantificar componentes de uma amostra. Baseia-se no princípio da interação da energia luminosa com a matéria e mede a intensidade de

luz absorvida ou transmitida pelas moléculas. Detalhes do processo serão apresentados nos experimentos específicos que utilizam o aparelho espectrofotômetro.

- **Peagâmetro:** aparelho utilizado para determinação do valor do potencial hidrogeniônico (pH) de soluções. Detalhes do processo serão apresentados nos experimentos específicos que utilizam o aparelho peagâmetro.

Soluções e Unidades de Concentração

1. **Soluções:** misturas homogêneas de duas ou mais substâncias.
   - **Soluções líquidas:** subdivididas de acordo com o estado físico original e puro de seus componentes. Por exemplo, a mistura de água e álcool, ou de oxigênio dissolvido em água, ou ainda de glicose dissolvida em água.
   - **Soluto e solvente:** o solvente é considerado a parte líquida de soluções constituídas de gás e líquido ou de sólido e líquido. Em soluções constituídas de líquido/líquido, o solvente é considerado o componente em maior quantidade.
2. **Concentração** – quantidade relativa de soluto e solvente presente em uma solução**.**
   - **Concentração massa por massa:** indica a massa do soluto em relação ao peso da solução.
   - **Porcentagem em massa (g%):** indica o peso em gramas de um soluto em 100 gramas de solução.
   - **Concentração massa por volume:** indica o peso do soluto em relação ao volume da solução.
   - **Concentração massa volume (g/dL):** indica o peso em gramas de um soluto em 100 mL (1 dL) de solução. Embora não adequadamente, muitas vezes a porcentagem em volume é expressa em g%.

$$\text{Concentração massa volume (g/dL)} = \frac{\text{gramas do soluto}}{\text{100 mL de solução}}$$

   - **Concentração massa por volume em litros (g/L):** indica o peso em gramas do soluto em 1 litro de solução.
3. **Sistema molar (mol/L):** indica a quantidade de matéria de soluto, em mol, em 1 litro de solução. Esta unidade de concentração é frequentemente utilizada em bioquímica como a molaridade (M) de uma solução, embora o mais indicado seja utilizar a expressão mol/L.

$$\text{Concentração em mol/L} = \frac{\text{Número de mol do soluto}}{\text{Litros de solução}}$$

$$\text{Número de mol} = \frac{\text{Massa (g)}}{\text{Mol (massa molar em gramas)}}$$

Solução milimolar (mM = mmol/L) corresponde a 0,001 mol/L e micromolar (μM = μmol/L) corresponde a 0,001 mmol/L.

4. **Sistema osmolar (osmol/L):** representa a pressão osmótica exercida pela solução, que é proporcional ao número total de partículas em solução. A osmose, que constitui a translocação do solvente através da membrana, ocorre em resposta à pressão osmótica dos dois lados da membrana.
   - A osmolaridade é a forma de expressar o número de osmol por litro de solução, e a osmolalidade, o número de osmol por quilo de solução.
   - Soluções constituídas de partículas não dissociáveis, como a glicose, apresentam a unidade de concentração osmolar igual à molar.
   - Soluções de substâncias dissociáveis, como a de cloreto de sódio, apresentam a osmolaridade igual ao número de partículas com atividade osmótica. Portanto, 1 mol/L de NaCl corresponde a 2 osmolar, devido uma solução 1 mol/L de NaCl, que contém 58,5 g de NaCl dissolvido em 1 litro de solução, apresentar o sal dissociado em duas partículas com atividade osmótica, o Na^+ e o Cl^-. Em medicina é frequentemente utilizado o termo miliosmol/L (mOsmol/L), que corresponde a 0,001 osmolar.

5. **Normalidade (N):** indica o número de equivalente grama do soluto em 1 litro de solução.

$$\text{Concentração em Normalidade} = \frac{\text{Número de equivalente grama do soluto}}{\text{Número de litros da solução}}$$

$$\text{Equivalente grama (E)} = \frac{\text{Massa molar em gramas}}{\text{Valência}}$$

Ex.: E do hidrogênio = 1 g/1 E do oxigênio = 16 g/2 = 8 E do sódio = 22/2 = 11
Solução 1 N equivale a solução que contém 1 equivalente grama por litro.

Diluição de soluções

Quantidade relativa de uma substância em uma solução, obtida a partir da adição de um solvente a uma solução previamente preparada, mais concentrada.

1. Expressa em proporção

Para uma solução diluída preparada a partir de uma solução original, mais concentrada, a proporção da diluição é indicada por dois números. O menor número (normalmente o primeiro) indica o número de partes da substância que está sendo diluída e o maior número refere-se ao total de partes que constitui a solução final.

Exemplo: Diluição na proporção 1:10 corresponde a uma parte da solução estoque, mais concentrada, para um total de 10 partes da solução final. Não indica volume nem concentração da solução. Indica a proporção da diluição.

Pode ser expressa das seguintes formas: 1:10, 1/10, 1 para 10 e 1 em 10.

Para uma solução diluída preparada com mais de duas soluções originais mais concentradas, representa-se a proporção pelos números relativos aos volumes utilizados das soluções estoques.

Exemplo: Diluição na proporção 2:5:1 corresponde à mistura de 2 partes de uma solução A, com 5 partes de uma solução B mais uma parte da solução C.

2. Expressa em concentração

Fórmula padrão utilizada para cálculo de concentração de soluções diluídas:

$$Ci \times Vi = Cf \times Vf$$

Ci = concentração inicial = concentração da solução estoque;

Vi = volume inicial = volume utilizado da solução estoque para preparo da solução diluída;

Cf = concentração final = concentração da solução diluída;

Vf = volume final = volume total da solução diluída (volume inicial + volume do solvente)

As unidades de medida utilizadas na Bioquímica podem ser vistas na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 Unidades de medidas utilizadas em Bioquímica

	Unidades derivadas do sistema internacional de medidas		
	Nome	**Símbolo**	
Massa	Quilograma	kg	
	Grama	g	10^{-3} kg
	Miligrama	mg	10^{-3} g
	Micrograma	μg	10^{-3} mg
Volume	Litro	L, l	1 dm^3, 10 m^3
	Decilitro	dL	10^{-1} L
	Mililitro	mL	10^{-3} L
	Microlitro	μL	10^{-3} mL
Tempo	Segundo	s	
	Minuto	min	60 s
Temperatura	Kelvin	k	
	Celsius	°C	273,15 K = 0 °C
Comprimento	Metro	m	
	Nanômetro	nm	10^{-9} m
Quantidade de matéria	Mol	mol	Matéria = átomos, moléculas, íons, elétrons, partículas
	Equivalente grama	E, Eq	Relação da massa molar em grama e a valência
Concentração	Molaridade	M, mol/L	G de um mol do soluto em 1 L de solução
	Osmol/L	Osmol/L	G de partículas (íons) de 1 mol de soluto em 1 L de solução
	Massa/massa	g%, g/100 g	g de soluto em 100 g de solução
	Massa/volume	g/100 mL, g/dL	G de soluto em 100 mL de solução
	Normalidade	N	Número de equivalente grama do soluto em 1 L de solução

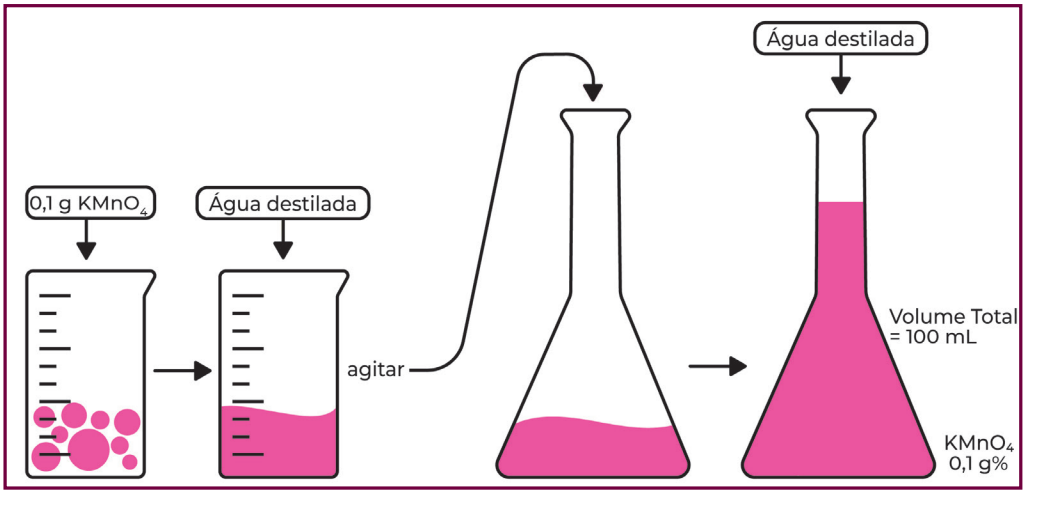
Experimentos – Preparação e diluição de soluções

Experimento 1: Aplicação de técnicas básicas para a preparação de soluções – utilização de balança de precisão e balão volumétrico

Procedimento

1. Pesar uma massa de 0,1 g de permanganato de potássio ($KMnO_4$);
2. Transferir para um béquer
3. Dissolver em aproximadamente 50,0 mL de água destilada;
4. Transferir a solução para um balão volumétrico de 100 mL;
5. Completar o volume com água destilada;
6. Homogeneizar por inversão (mínimo 5 vezes), preparando, desta forma, uma solução na concentração 0,1 g% ou 0,1 g/dL ou 1 g/L.

Diagrama



Experimento 2: Diluição de soluções – utilização de proveta

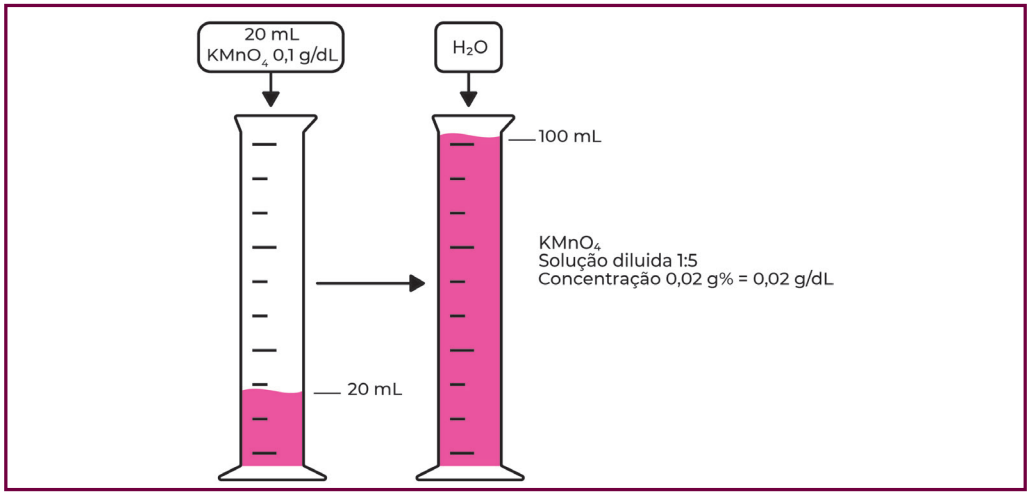
O objetivo do experimento é inserir o uso de proveta como material volumétrico; entretanto, a utilização de balão volumétrico possibilitaria maior precisão na diluição da solução.

Procedimento e resultados

1. Transferir 20 mL da solução de permanganato de potássio 0,1 g%, preparada no experimento anterior, para uma proveta de 100 mL;
2. Completar o volume com água destilada, utilizando uma pisseta;
3. Homogeneizar com bastão de vidro;

4. Determinar a proporção da diluição e a concentração (g%) da solução diluída.
   Proporção da diluição = _____
   Concentração da solução diluída = _____

Diagrama



Experimento 3: Diluição de soluções – utilização de pipetas

Procedimento

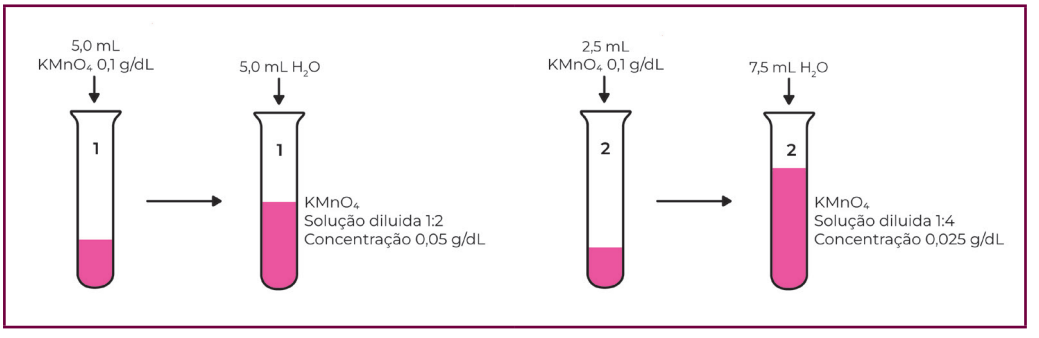
1. Identificar 5 tubos de ensaio;
2. Transferir a solução de permanganato de potássio 0,1 g%, preparada no primeiro experimento, para os respectivos tubos de ensaio, considerando os volumes indicados na tabela a seguir .

Tubos	$KMnO_4$ Solução estoque 0,1g/100 mL	Água destilada
1	5,0 mL	5,0 mL
2	2,5 mL	7,5 mL
3	7,5 mL	2,5 mL
4	1,0 mL	9,0 mL
5	0,5 mL	4,5 mL

3. Adicionar água destilada para diluir as soluções, conforme volume indicado na tabela, e homogeneizar.
   Obs.: Utilizar a pipeta mais adequada para o volume proposto para cada solução.

4. Determinar a concentração das soluções diluídas em g/%, g/L, mg/L e mg/mL e a proporção das diluições. Obs.: nos dois últimos tubos, verifica-se que a concentração e a proporção da diluição são iguais, independentemente do volume de solução preparada.

Diagrama



Resultados

Tubos	$KMnO_4$ Solução estoque 0,1g/100 mL	Água destilada	Proporção da diluição	Concentração de $KMnO_4$ nas soluções diluídas			
				g/dL	g/L	mg/L	mg/mL
1	5,0 mL	5,0 mL					
2	2,5 mL	7,5 mL					
3	7,5 mL	2,5 mL					
4	1,0 mL	9,0 mL					
5	0,5 mL	4,5 mL					

Fundamentos Teóricos – Espectrofotometria

A espectrofotometria emprega a propriedade dos átomos e moléculas de absorverem e emitirem energia eletromagnética. A espectrofotometria possibilita a identificação e a quantificação de substâncias através da medida de energia absorvida pelos componentes em solução (fotocolorimetria de absorção), utilizando a interação de energia e matéria.

Comprimento de onda - A energia eletromagnética é propagada em forma de ondas. Comprimento de onda corresponde à distância entre as cristas adjacentes da onda em um feixe de radiação. É dado pela razão entre a velocidade e a frequência. Quanto maior a frequência, maior será a energia de propagação e menor o comprimento de onda. O com-

primento de onda (λ) pode ser expresso em ångstrom (1×10^{-10} metros) ou nanômetros (1×10^{-9} metros).

A luz branca poli ou heterocromática contém todas as frequências do espectro da luz visível, abrangendo todas as cores fundamentais, de 400 a 750 nm. Cada cor tem um comprimento de onda específico (Tabela 1.2).

Tabela 1.2. Espectro da luz visível – comprimento de onda e cores absorvidas e refletidas (valores aproximados)

λ (nm)	Cor absorvida (fundamental)		Cor refletida e aparente (complementar)
180-400 – ultravioleta			
400-430	Violeta		Amarelado
430-480	Azul		Amarelo
480-490	Azulado		Laranja
490-510	Esverdeado		Vermelho
510-530	Verde		Púrpura
530-570	Amarelado		Violeta
570-580	Amarelo		Azul
580-600	Laranja		Azulado
600-680	Vermelho		Esverdeado
680-750	Púrpura		Verde
750-∞ – infravermelho			

A cor aparente de um objeto é decorrente da absorção, com maior intensidade, de determinada faixa do espectro visível. A cor aparente (cor complementar) é sempre o complemento da cor absorvida (cor fundamental). Um objeto que aparenta a cor amarela absorve em diferentes intensidades os comprimentos de onda relativos a todas as cores do espectro da luz visível. Absorve com maior intensidade a faixa de comprimento de onda da cor azul (cor absorvida) e reflete com maior intensidade, a cor amarela (cor complementar) (Figura 1.16).

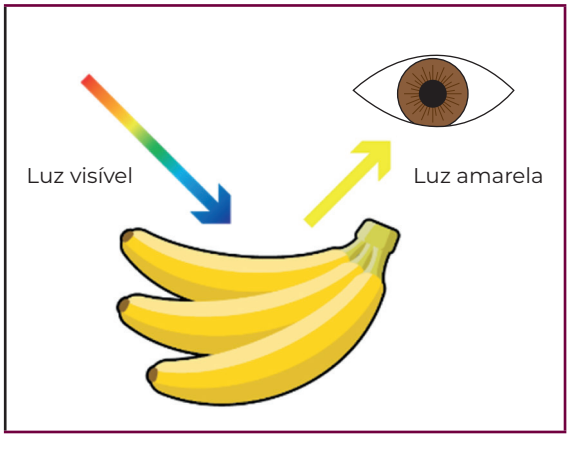


FIGURA 1.16. A cor do objeto corresponde à energia luminosa refletida.

Pigmentos fotorreceptores – Os pigmentos fotorreceptores do olho humano correspondem às moléculas de rodopsina, encontradas nos bastonetes, e às de iodopsinas, encontradas nos cones. As iodopsinas constituem os pigmentos vermelho, verde e azul. A **rodopsina** absorve os fótons luminosos correspondentes à faixa de 400 a 600 nm (luz visível), com pico de absorção em **498 nm**. O pigmento fotorreceptor **azul** apresenta pico de absorção em **420 nm**, que corresponde à cor azul/violeta do espectro de luz visível. O pigmento fotorreceptor denominado **verde** apresenta absorção máxima em **534 nm**, que corresponde à cor verde/amarela do espectro visível, e o pigmento fotorreceptor **vermelho** apresenta máxima absorção de luz na faixa de **564 nm**, que corresponde à cor amarela.

Espectro de absorção – Espectro de absorção é a curva que reflete os valores de absorbância numa determinada região espectral. O espectro de absorção é utilizado para determinar a faixa de espectro em que a energia radiante absorvida pelas moléculas em solução é máxima. Nessa faixa, o grau de sensibilidade de absorção é maior, observando maiores valores de absorbância para pequenas variações de concentração (Figura 1.17).

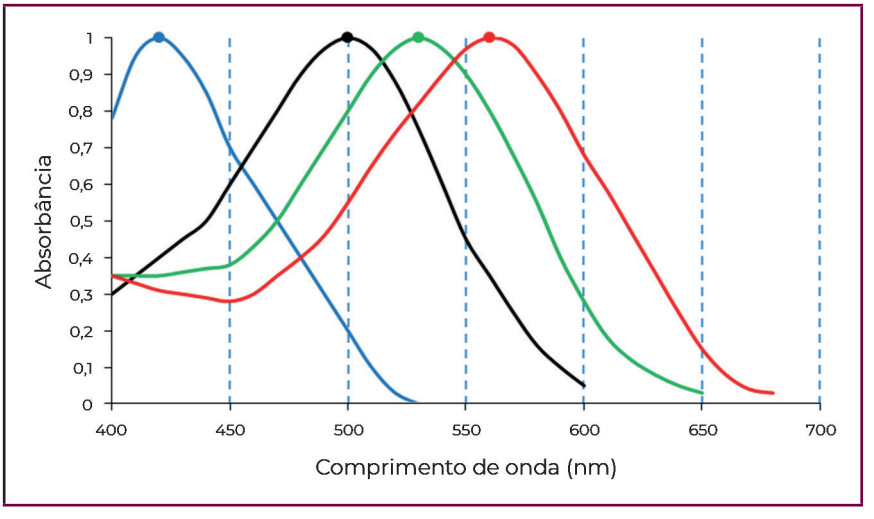


FIGURA 1.17. Espectro de absorção dos pigmentos fotorreceptores do olho humano.

A Figura 1.18 representa os espectros de absorção de soluções coloridas em amarelo, rosa ou púrpura e azul-esverdeado. O comprimento de máxima absorção de energia luminosa para a solução com cor aparente amarela corresponde a 460 nm, indicando que a energia luminosa correspondente aos outros comprimentos de onda do espectro da luz visível foi absorvida e, em maior intensidade, o correspondente à cor violeta. Da mesma forma, a solução colorida em rosa, com máxima absorbância em 520 nm, absorve em maior intensidade a energia luminosa correspondente aos comprimentos de onda da cor verde. A solução com cor aparente azul-esverdeado, com máxima absorbância em 590 nm, absorve em maior intensidade a energia radiante da faixa da cor amarelo/laranja.

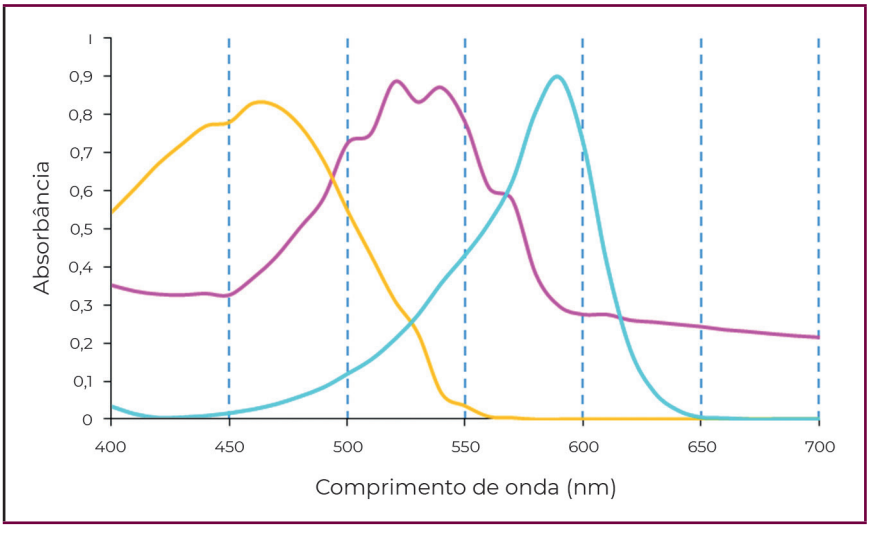


FIGURA 1.18. Espectro de absorção de soluções coloridas em rosa, amarelo e azul-esverdeado.

Leis da fotometria – Quando um raio de luz radiante atravessa uma solução de substância que absorve luz, a energia Incidente (Io) é sempre mais intensa que a energia Emergente (I). Essa atenuação da intensidade da energia pode ser atribuída à: (1) reflexão nas interfaces entre o ar e a parede do tubo, (2) reflexão entre a solução e a parede do tubo, (3) dispersão das partículas presentes na solução, (4) absorção da energia pela solução. (Figura 1.19)

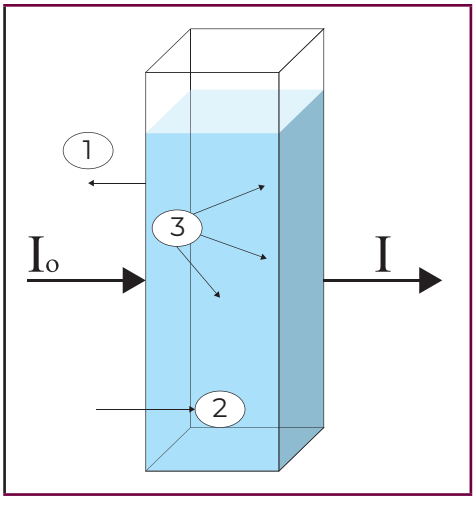


FIGURA 1.19. Energia Incidente e emergente – fatores que interferem.

Lei de Lambert-Beer – quando uma energia radiante monocromática atravessa uma solução, a quantidade de energia transmitida diminui exponencialmente com o aumento da espessura atravessada (Lei de Lambert) e diminui com o aumento da concentração ou intensidade de cor da solução (Lei de Beer). (Figura 1.20)

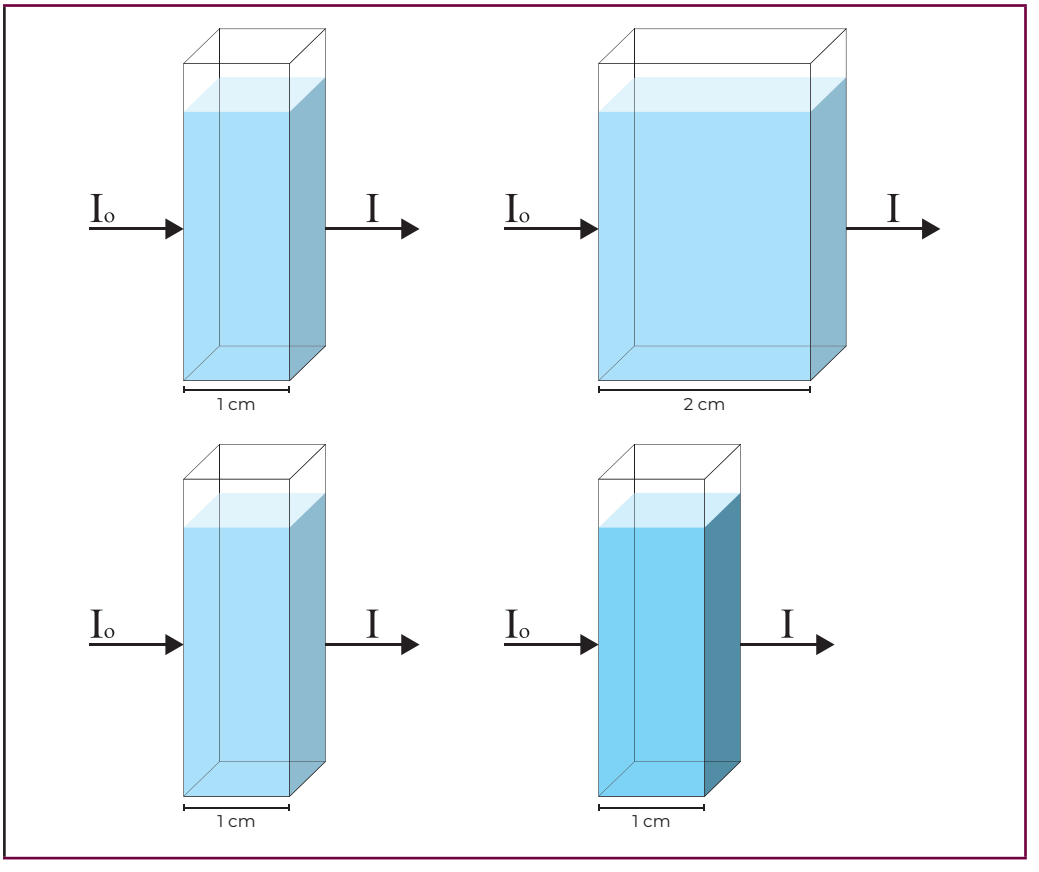


FIGURA 1.20. Relação da espessura do tubo e da concentração da solução com a energia Emergente.

De acordo com a Lei de Lambert-Beer, a transmitância (T) de uma solução que absorve luz depende da: (1) natureza da substância, representada pelo coeficiente de extinção molar, que é uma constante característica da solução (ε); (2) concentração da substância em solução (c); e (3) espessura da solução atravessada pela luz (e). Considerando a transmitância a razão entre a intensidade de luz emergente (I) e de luz incidente (Io), que são inversamente proporcionais, a transmitância (T) poderia ser representada por:

$T = 10^{-\varepsilon ce}$	$-\log T = \varepsilon ce$	$\text{Log}\, T = -\varepsilon ce$	$-\log T = \text{Absorbância} = \varepsilon ce$

Segundo a Lei de Lambert-Beer, uma solução de substância que absorve luz de determinado comprimento de onda apresenta a absorbância diretamente proporcional à concentração e à espessura da solução atravessada pela luz.

A = Absorbância = εce		
Considerando: e = 1 cm	c = concentração mol/L	ε = coeficiente de extinção molar

Para quantificar uma substância em solução, utiliza-se a relação da absorbância em função da concentração da substância em solução, de forma comparativa com uma solução padrão da mesma substância. Compara-se a absorbância da solução padrão, que é uma solução que apresenta uma concentração conhecida da substância em análise, com a absorbância da solução que contém a mesma substância, com concentração desconhecida. Desta forma, elimina-se a necessidade de considerar o ε (coeficiente de extinção molar) na fórmula e a absorbância passa a ser diretamente proporcional à concentração da substância em solução.

A **absorbância (absorção de luz) é inversamente proporcional à transmitância (transmissão de luz) e diretamente proporcional à concentração da solução (A ≅ c)**. A maior exatidão nesses parâmetros ocorre nos valores da faixa de espectro em que a energia radiante absorvida pelas moléculas em solução é máxima. A Figura 1.21 representa o espectro de absorção e o de transmissão de uma mesma solução. A Figura 1.22 representa o espectro de soluções de uma mesma substância em diferentes concentrações, como a mais concentrada (linha a), concentração intermediária (linha b) e mais diluída (linha c).

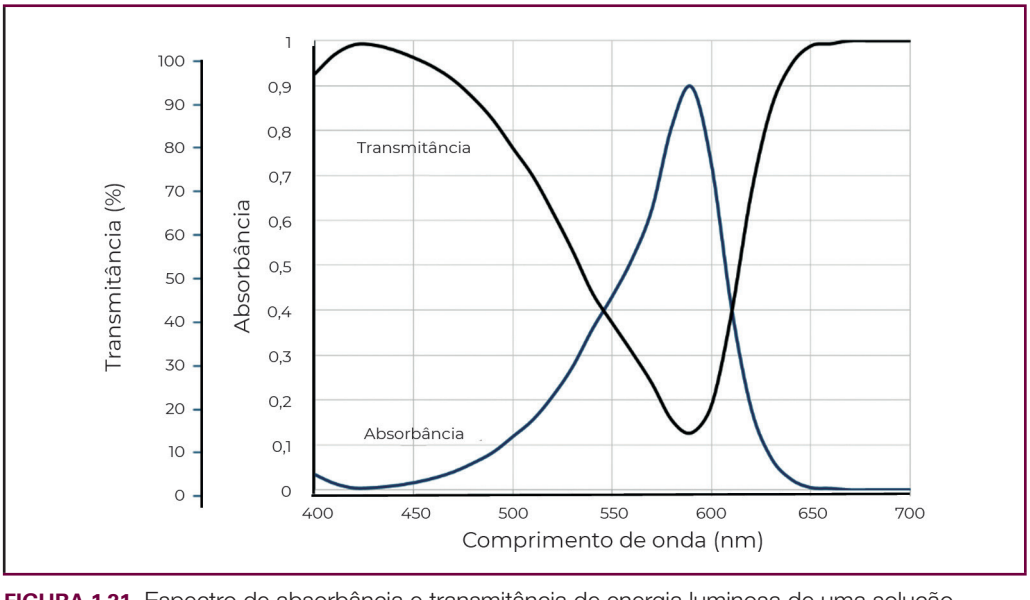


FIGURA 1.21. Espectro de absorbância e transmitância de energia luminosa de uma solução.

Absortividade molar – A absortividade molar, também denominada coeficiente de extinção molar, representa uma característica específica para cada substância em um determinado comprimento de onda. É uma constante expressa em molar/cm e representa a absorção de luz incidente, por um mol de determinada substância, em um comprimento de onda específico. (Figura 1.22)

Por exemplo, o β-caroteno dissolvido em éter apresenta o coeficiente de extinção molar (ε) de 0,122 molar, determinado em 478 nm de comprimento de onda e em uma cubeta de 1 cm de espessura, indicando que o feixe de luz atravessou uma espessura de 1 cm.

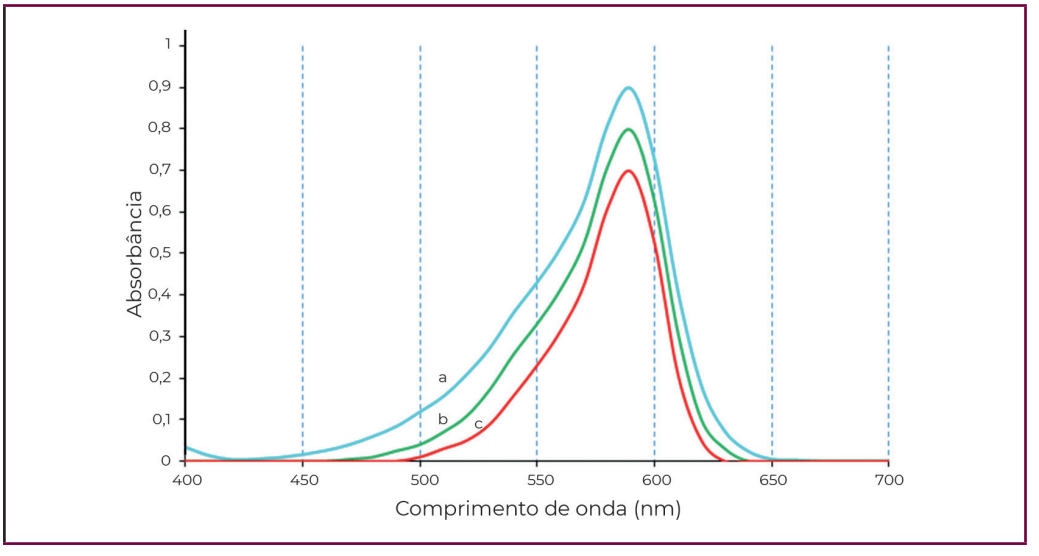


FIGURA 1.22. Relação da concentração da solução e a absorbância da energia luminosa. (a) Solução mais concentrada, (b) com concentração intermediária e (c) menos concentrada.

A relação que exprime a absortividade molar (Tabela 1.3) e a diretriz da Lei de Lambert-Beer, que considera a absorbância da luz diretamente proporcional à concentração da substância em solução, possibilita a determinação da concentração de uma substância em solução, desde que a espessura atravessada pela luz seja de 1 cm.

Portanto, uma solução de β-caroteno, na concentração de 1 molar, apresenta absorbância de 0,122 medida em 478 nm de comprimento de onda.

Se uma amostra de β-caroteno apresentar a absorbância de 0,500, medida em 478 nm, pode-se concluir que a concentração da solução é de 4,1 molar de β-caroteno.

Tabela 1.3. Absortividade molar

Substância	Solvente	λ (nm)	Absortividade molar (M/cm)
ADP	Água	259	$1{,}54 \times 10^4$
ATP	Água	259	$1{,}54 \times 10^4$
Clorofila a	Etanol	430	$1{,}21 \times 10^5$
Clorofila b	Etanol	455	$1{,}55 \times 10^5$
Fenilalanina	Água	258	$1{,}95 \times 10^2$
NAD^+	Água	260	$1{,}78 \times 10^4$
NADH	Água	340	$6{,}22 \times 10^3$
$NADP^+$	Água	340	$6{,}22 \times 10^3$
Riboflavina	Água	266	$3{,}25 \times 10^4$
Triptofano	Água	218	$3{,}35 \times 10^4$
Tirosina	Água	223	$8{,}20 \times 10^3$
Retinol	Etanol	325	$5{,}24 \times 10^4$

Instrumentos de medida de transmitância e absorbância

Fotocolorímetros ou fotômetros – aparelhos de construção simples que utilizam filtros compostos para selecionar porções do espectro. Utilizam somente a porção visível do espectro, com pequena sensibilidade na determinação quantitativa de absorbância e transmitância.

Espectrofotômetros - aparelhos que utilizam grade de difração ou prisma na seleção da porção desejada do espectro. Apresentam maior sensibilidade ao sinal de absorbância e transmitância quando comparados com os fotocolorímetros. (Figura 1.23)

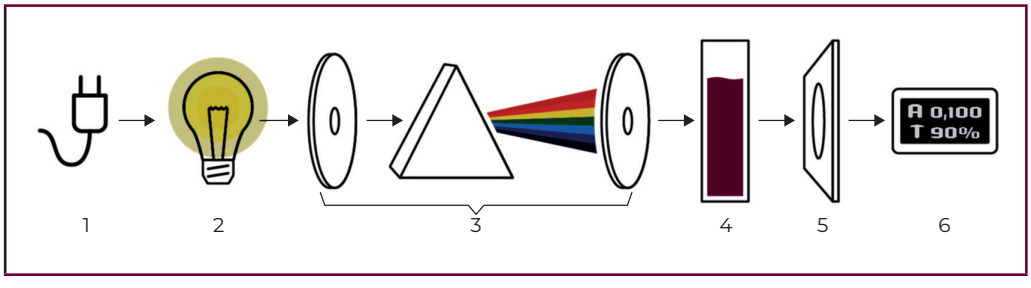


FIGURA 1.23. Esquema simplificado de um aparelho espectrofotômetro. (1) Fonte de energia elétrica, (2) fonte de energia radiante, (3) monocromador, (4) célula analítica, (5) detector, e (6) circuito medidor.

Componentes básicos

1. **Fonte de energia elétrica**
2. **Fonte de energia radiante** – luz, capaz de transmitir uma mistura de comprimentos de onda;
3. **Monocromador** – seleciona o comprimento de onda desejado
4. **Fotômetros de filtro**: a luz policromática atravessa filtros que absorvem todos os comprimentos de onda, exceto aquele que será empregado nas leituras;
   Espectrofotômetros: utilizando um prisma ou grade de difração, a luz policromática é desdobrada em um espectro e a faixa desejada é isolada através de uma fenda;
5. **Célula analítica** – recipiente para conter a solução a ser analisada. A célula analítica pode ser no formato de um tubo cilíndrico ou quadrado ou no formato de placas com múltiplas células ou poços.
6. **Detector** – utilizado para transformar a energia radiante transmitida através da solução em energia elétrica. Pode ser célula fotoelétrica ou fototubo.
   Célula fotoelétrica: composta de placa de ferro recoberta de selênio. A energia do fóton é transmitida para os elétrons do selênio que passam para a placa de ferro e atingem o circuito medidor ligado à célula fotoelétrica;
   Fototubo: contém um cátodo recoberto por uma substância que emite elétrons proporcionalmente à energia radiante recebida.
   A intensidade da luz é determinada fotoeletricamente pelo uso de células fotoelétricas ou fototubos que produzem uma corrente elétrica proporcional à intensidade da luz, gerando uma força eletromotriz.

7. **Circuito medidor** - amplificador do sinal da energia elétrica emitido pelo detector e apresentação na forma de absorbância ou transmitância.

Calibração do aparelho – A calibração do aparelho, que consiste na absorbância zero ou 100% de transmitância, é realizada através do TUBO CALIBRADOR, originalmente denominado TUBO BRANCO. O TUBO CALIBRADOR é utilizado para eliminar a absorbância dos reagentes e da cubeta, as perdas por reflexão e refração, e para compensar o efeito de lente produzido pelas cubetas redondas.

Curva padrão – A curva ou reta padrão corresponde ao gráfico que representa a relação da absorbância em função da concentração de uma substância em solução.

Segundo a Lei de Lambert-Beer, a absorbância de uma solução de substância que absorva luz em um determinado comprimento de onda é diretamente proporcional à concentração da solução, considerando: (a) valores constantes de coeficiente de extinção molar, com a mesma substância em todas as soluções analisadas, e (b) caminho ótico, que corresponde à espessura da solução atravessada pela luz, contida em tubos com mesma largura para todas as medidas de absorbância. Desta forma, o gráfico de curva padrão (Figura 1.24) representa a equação de uma reta.

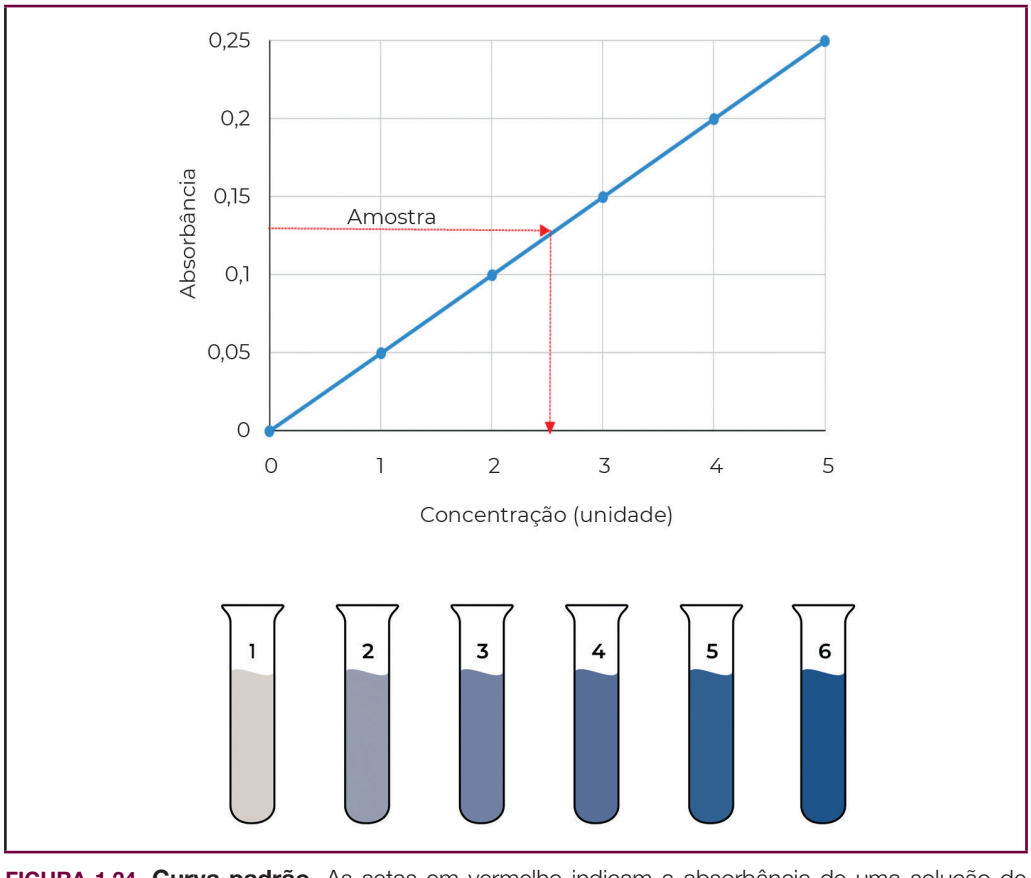


FIGURA 1.24. Curva padrão. As setas em vermelho indicam a absorbância de uma solução de concentração desconhecida (amostra) e a respectiva concentração. Os tubos representam as soluções utilizadas para determinação dos valores de absorbância, sendo que o tubo 1 é o calibrador.

O fundamento da Lei de Lambert-Beer possibilita a determinação da concentração de uma determinada substância em uma amostra. A absorbância da amostra pode ser extrapolada na curva padrão elaborada com concentrações conhecidas da mesma substância (linha em vermelho no gráfico da Figura 1.24).

A relação diretamente proporcional de absorbância e concentração possibilita ainda que a concentração da amostra seja determinada por um simples cálculo de regra de três direta.

Concentração da solução Padrão ~ Absorbância da solução Padrão
Concentração da Amostra ~ Absorbância da Amostra

$$\text{Concentração da Amostra} = \frac{\text{Concentração do Padrão x Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

Experimentos – Espectrofotometria

Experimento 4: Espectro de absorção na faixa de comprimento de onda da luz visível

Procedimento

1. Identificar quatro tubos específicos para espectrofotômetro e colocar 2,0 mL das soluções indicadas a seguir:

	Tubos	Componentes
Calibrador	1	2,0 mL de água destilada
Amostras	2	2,0 mL de solução de permanganato de potássio
	3	2,0 mL de solução de azul de metileno
	4	2,0 mL de solução de alaranjado de metila

2. Calibrar (zero de absorbância e 100% de transmitância) o aparelho espectrofotômetro em 400 nm de comprimento de onda com a solução do TUBO denominado CALIBRADOR (cubeta contendo o solvente dos corantes que é água destilada).
3. Verificar a absorbância e a transmitância das soluções.
4. Variar o comprimento de onda, conforme tabela a seguir, percorrendo o espectro da luz visível (de 400 a 750 nm), e determinar a absorbância e a transmitância das soluções das amostras. Calibrar o aparelho com o TUBO CALIBRADOR a cada mudança de comprimento de onda.
5. Construir um gráfico relacionando os valores de absorbância das amostras com os respectivos comprimentos de onda.
6. Verificar o comprimento de onda que corresponde ao valor de máxima absorbância para cada amostra.

7. Relacionar, no comprimento de onda de máxima absorbância, específico para cada amostra, a cor complementar (refletida) com a cor fundamental (absorvida).
8. Construir um gráfico relacionando os valores de absorbância e de transmitância para a solução da amostra de permanganato de potássio. Comparar o espectro de absorbância com o de transmitância.

Resultados

λ (nm)	Tubo 1 Solução de $KMnO_4$ (cor rosa)		Tubo 2 Solução de azul de metileno (cor azul)		Tubo 3 Solução de alaranjado de metila (cor amarela)	
	Transmitância	Absorbância	Transmitância	Absorbância	Transmitância	Absorbância
400						
420						
440						
460						
480						
500						
520						
540						
560						
580						
600						
620						
640						
660						
680						
700						

Experimento 5: Espectro de absorção na faixa de comprimento de onda ultravioleta

Procedimento

1. Preparar as soluções dos solventes e amostras conforme indicação a seguir:

1s = solvente	3,0 mL de hexano
1a = amostra	3,0 mL de solução de acetona em 100 mL de hexano
2s = solvente	3,0 mL de água destilada
2a = amostra	3,0 mL de solução de anilina em 100 mL de água destilada
3s = solvente	3,0 mL de ciclohexano
3a = amostra	3,0 mL de solução de benzeno em 100 mL de ciclohexano
4s = solvente	3,0 mL de água destilada
4a = amostra	3,0 mL de solução de fenol em 100 mL de água destilada
5s = solvente	3,0 mL de etanol
5a = amostra	3,0 mL de solução de naftaleno em 100 mL de etanol

2. Determinar o espectro de absorção dos solventes, na faixa de 210 a 400 nm de comprimento de onda.
3. Determinar o espectro de absorção das soluções das amostras de acetona, anilina, benzeno, fenol e naftaleno, nas mesmas condições utilizadas para os solventes.
4. Diluir, se necessário, as soluções das amostras, com o mesmo solvente originalmente utilizado, e determinar o espectro de absorção.
5. Construir os gráficos de espectro de absorção, relacionando os valores de absorbância dos solventes e das amostras com os respectivos comprimentos de onda.
6. Comparar os espectros de absorção dos solventes com os das amostras.
7. Desconsiderar os picos de absorbância das amostras que coincidem com os dos solventes.
8. Verificar o comprimento de onda que corresponde ao valor de máxima absorbância para cada amostra, comparar com os dados teóricos e avaliar o grau de pureza do composto analisado.

Resultados

Amostras	Comprimentos de onda de máxima absorbância	
	Valores teóricos	Resultados experimentais
Acetona	188, 279, 329	
Anilina	230	
Benzeno	198, 278	
Fenol	210	
Naftaleno	220, 275, 314	

Experimento 6: Espectrofotometria - Curva padrão de permanganato de potássio

Procedimento

1. Identificar 7 tubos de ensaio e proceder conforme esquema a seguir.

	Tubos	$KmnO_4$ Solução padrão 10,0 mg/dL	Água destilada	$KmnO_4$ Solução com concentração desconhecida
Calibrador	1	0,0 mL	5,0 mL	-
Controles	2	1,0 mL	4,0 mL	-
	3	2,0 mL	3,0 mL	-
	4	3,0 mL	2,0 mL	-
	5	4,0 mL	1,0 mL	-
	6	5,0 mL	0,0 mL	-
Amostra	7	-	-	5,0 mL

2. Verificar os valores de absorbância das soluções padrões de $KMnO_4$, em 540 nm de comprimento de onda, ajustando o zero de absorbância com o tubo 1 (CALIBRADOR).
3. Verificar o valor de absorbância da amostra que contém uma solução de $KMnO_4$ com concentração desconhecida.
4. Construir o gráfico de curva padrão, relacionando os valores de absorbância (eixo y) com os respectivos valores de concentração de $KMnO_4$ padrões (eixo x). O gráfico corresponde a uma reta partindo do eixo zero de absorbância por zero de concentração, considerando que, de acordo com a Lei de Lambert-Beer, a concentração de uma solução é diretamente proporcional à absorbância.
5. Localizar o valor de absorbância da amostra no eixo Y do gráfico da curva padrão.
6. Extrapolar o valor de absorbância da amostra no eixo X do gráfico de curva padrão e obter a concentração correspondente de $KMnO_4$.
   Obs.: fórmula utilizada para determinar a concentração de $KMnO_4$ nas soluções padrões:

$$Ci \times Vi = Cf \times Vf$$

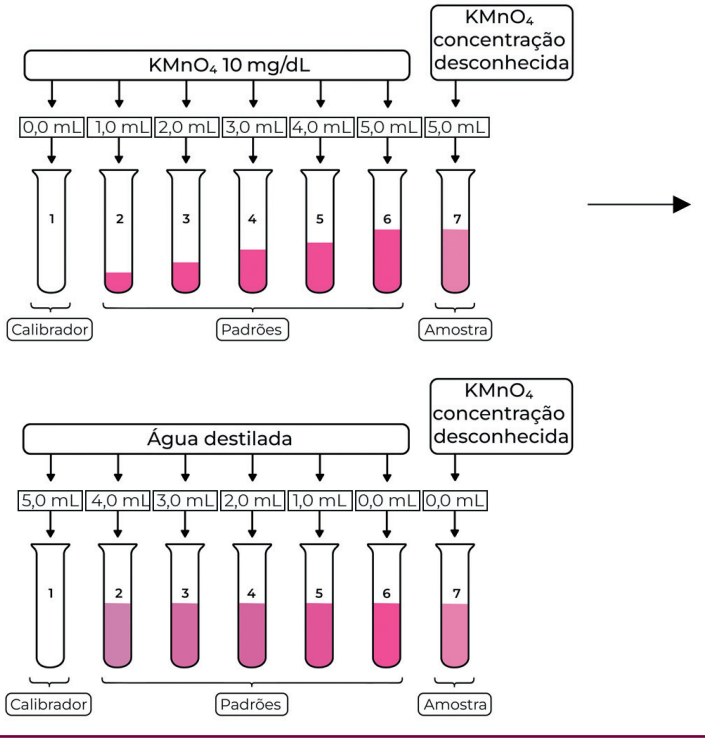
Ci = concentração inicial = concentração da solução estoque de $KMnO_4$ = 10 mg/dL

Vi = volume inicial = volume (mL) de solução estoque de $KMnO_4$ colocado em cada tubo

Cf = concentração final = concentração de $KMnO_4$ (mg/dL) nas diluídas

Vf = volume final = volume (mL) de água + volume (mL) de solução estoque de $KMnO_4$ = 5,0 mL

Diagrama



Resultados

	Tubos	Concentração de $KmnO_4$ Soluções diluídas (mg/dL)	Absorbância
Calibrador	1	0	0,00
Controles	2	2,0	
	3	4,0	
	4	6,0	
	5	8,0	
	6	10,0	
Amostra	7		

Determinação da concentração da amostra através de cálculos

Calcular a média dos valores de absorbância e dos valores de concentração de permanganato de potássio das soluções diluídas. Excluir os valores que não coincidirem com a reta padrão.

$$[KMnO_4] \text{ na amostra} = \frac{\text{Média das concentrações das soluções padrões de } KMnO_4 \times \text{absorbância da amostra}}{\text{Média dos valores de absorbância das soluções padrões de } KMnO_4}$$

Experimento 7: Espectrofotometria - Curva padrão de glicose

A glicose pode ser quantificada através da determinação dos valores de absorbância de uma solução contendo antipirilquinonimina, composto resultante da oxidação da glicose a ácido glucônico e peróxido de hidrogênio, numa reação catalisada pela enzima glicose-oxidase (GOD), com posterior decomposição do peróxido de hidrogênio, catalisada pela enzima peroxidase (POD) e oxidação da 4-aminoantipirina a 4-antipirilquinonimina. A intensidade da coloração vermelha da solução contendo 4-antipirilquinonimina é diretamente proporcional à concentração de glicose na solução. Na reação a seguir, os componentes do reativo de cor estão destacados em vermelho.

$$\text{Glicose} + O_2 + H_2O \xrightarrow{GOD} \text{Ácido glucônico} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-Aminoantipirina} + \text{Fenol} \xrightarrow{POD} \text{4-Antipirilquinonimina} + 4H_2O$$

Procedimento

a. Diluição seriada dos padrões

1. Identificar 5 tubos de ensaio e proceder à diluição seriada das soluções padrões de glicose, conforme descrito a seguir:

Tubos	Solução de glicose	Água destilada	Concentração de glicose nas soluções diluídas
1a	5,0 mL de solução de glicose 200 mg/dL	-	200 mg/dL
2a	4,0 mL da solução de glicose do tubo 1a	1,0 mL	160 mg/dL
3a	3,0 mL da solução de glicose do tubo 2a	1,0 mL	120 mg/dL
4a	2,0 mL da solução de glicose do tubo 3a	1,0 mL	80 mg/dL
5a	1,0 mL da solução de glicose do tubo 4a	1,0 mL	40 mg/dL

2. Homogeneizar as soluções e reservar para utilização na etapa seguinte.

3. A concentração de glicose nas soluções diluídas foi determinada seguindo a relação:

$$Ci \times Vi = Cf \times Vf$$

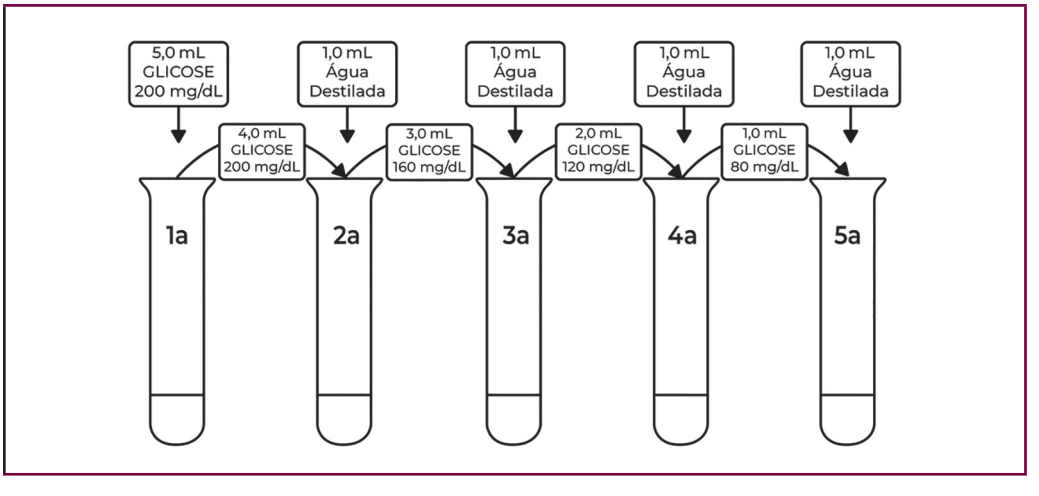
Ci = concentração inicial = concentração da solução estoque de glicose do tubo preliminar

Vi = volume inicial = volume (mL) de solução estoque de glicose colocado em cada tubo

Cf = concentração final = concentração de glicose nas soluções diluídas

Vf = volume final = volume (mL) de água + volume (mL) de solução de glicose

Diagrama



b. Reação colorimétrica – Curva padrão e quantificação de glicose em amostra

Procedimento:

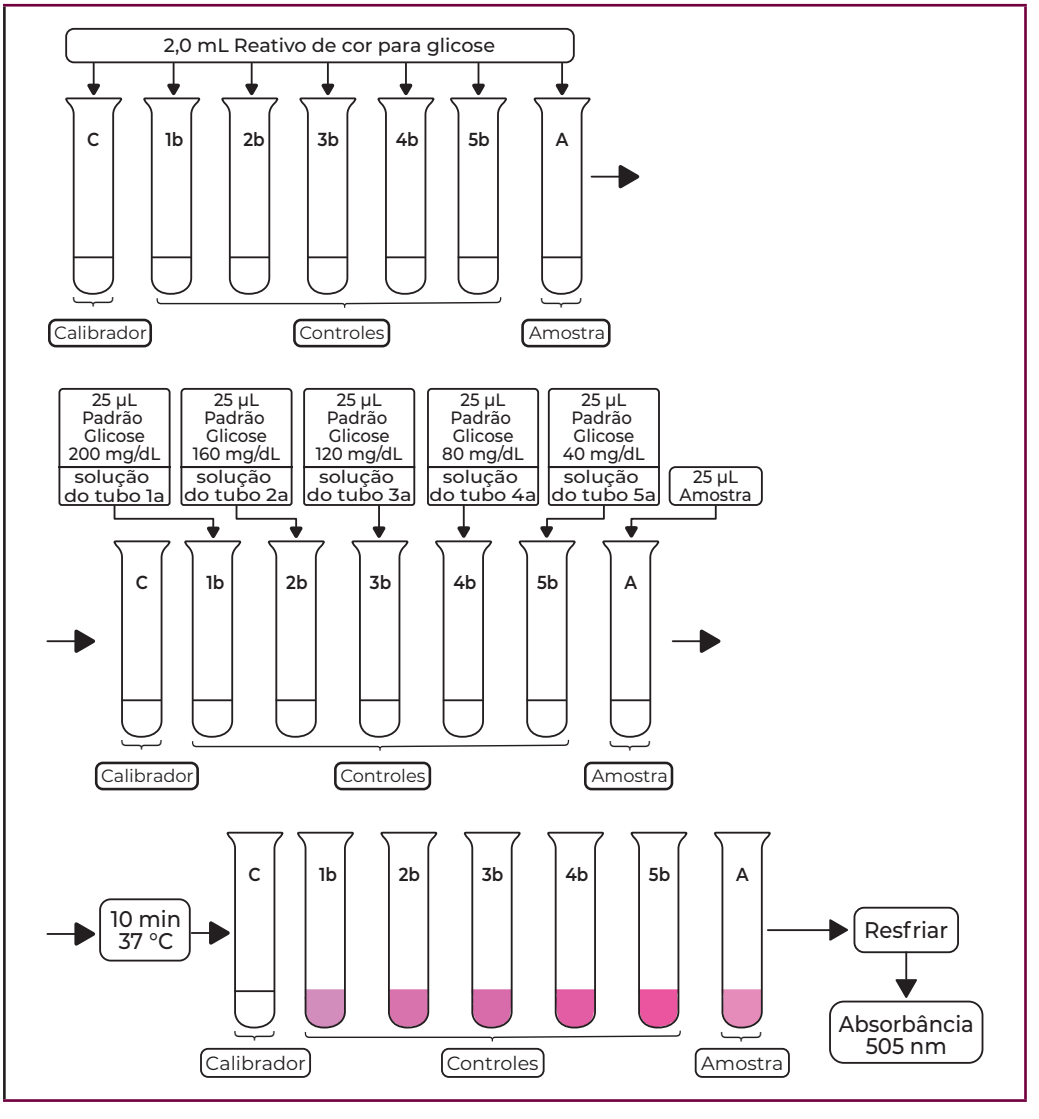
1. Identificar 7 tubos de ensaio e proceder conforme descrito a seguir, utilizando os tubos da etapa anterior, contendo as soluções diluídas de glicose como soluções padrões.

	Tubos	Reativo de cor para glicose	Padrões e amostra
Calibrador	C	2,0 mL	-
Controles (Padrões de glicose)	1b	2,0 mL	25 µL da solução de glicose do tubo 1a
	2b	2,0 mL	25 µL da solução de glicose do tubo 2a
	3b	2,0 mL	25 µL da solução de glicose do tubo 3a
	4b	2,0 mL	25 µL da solução de glicose do tubo 4a
	5b	2,0 mL	25 µL da solução de glicose do tubo 5a
Amostra	A	2,0 mL	25 µL da solução de glicose com concentração desconhecida

2. Homogeneizar as soluções.
3. Incubar por 10 minutos em banho-maria a 37 °C.
4. Resfriar em água corrente.
5. Verificar os valores de absorbância das soluções padrões de glicose e da amostra em 505 nm de comprimento de onda, ajustando o zero de absorbância no aparelho espectrofotômetro com o tubo C (CALIBRADOR).
6. Construir um gráfico de curva padrão, relacionando os valores de absorbância (eixo y) com os respectivos valores de concentração das soluções padrões de glicose (eixo x). O gráfico corresponde a uma reta partindo do eixo zero de absorbância por zero de concentração, considerando que, de acordo com a Lei de Lambert-Beer, a concentração de uma solução é diretamente proporcional à absorbância.
7. Localizar o valor de absorbância da amostra no eixo Y do gráfico da curva padrão.
8. Extrapolar o valor de absorbância da amostra no eixo X do gráfico de curva padrão e obter a concentração correspondente de glicose.
9. A concentração de glicose na amostra também pode ser determinada através da relação:

$$[\text{GLICOSE}]\ \text{na amostra} = \frac{\text{Média dos valores de concentração de glicose padrões x absorbância da amostra}}{\text{Média das absorbâncias das soluções padrões}}$$

Diagrama


2,0 mL Reativo de cor para glicose
C
1b
2b
3b
4b
5b
A
Calibrador
Controles
Amostra
25 µL Padrão Glicose 200 mg/dL solução do tubo 1a
25 µL Padrão Glicose 160 mg/dL solução do tubo 2a
25 µL Padrão Glicose 120 mg/dL solução do tubo 3a
25 µL Padrão Glicose 80 mg/dL solução do tubo 4a
25 µL Padrão Glicose 40 mg/dL solução do tubo 5a
25 µL Amostra
C
1b
2b
3b
4b
5b
A
Calibrador
Controles
Amostra
10 min 37 °C
C
1b
2b
3b
4b
5b
A
Resfriar
Absorbância 505 nm
Calibrador
Controles
Amostra

Resultados

	Tubos	Concentração de glicose (mg/dL)	Absorbância
Calibrador	C	0	0
Controles (Padrões de Glicose)	1b	200	
	2b	160	
	3b	120	
	4b	80	
	5b	40	
Amostra	A		

Referências bibliográficas

Bernardes CF. Bioquímica. Apostilas de aulas práticas com conteúdo específico para as Faculdades de Química e Medicina com ilustrações no formato de diagramas experimentais. PUC-Campinas, 2020.

Bernardes CF. Bioquímica Estrutural e Funcional. Apostilas de aulas práticas para a Faculdade de Biologia. PUC-Campinas, 2016.

Bernardes CF. Bioquímica Experimental. Apostilas de aulas práticas de Bioquímica – PUC-Campinas, CREUPI, Espírito Santo do Pinhal e UNIARARAS. 2000.

Bernardes CF. Bioquímica Experimental aplicada à Odontologia. Apostila de aulas práticas de Bioquímica – PUC-Campinas e UNIARARAS. 2000.

Bracht A, Ishii-Iwamoto EL. Métodos de laboratório em Bioquímica. São Paulo: Manole, 2010.

Compri-Nardy M, Stella MB, Oliveira C. Práticas de Laboratório de Bioquímica e Biofísica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

Hirano ZMB, Silva Filho HHS, Muller GCK, Schmidt SR. Bioquímica – Manual Prático. Blumenau-SC: EDIFURB, 2001. 174 p.

Leite F. Práticas de Química Analítica. 6. ed. Campinas-SP: Átomo, 2020.

Mastroeni MF, Gern RMM. Bioquímica: Práticas Adaptadas. São Paulo: Atheneu, 2008.

Nelson DL, Cox M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2022. 1248 p.

Nichele A, Araújo As, Streit C, Funchal C, Mascarenhas M, Segala M, Bock P, Santos P. Manual Prático de Bioquímica. Porto Alegre: Editora Universitária Metodista IPA, 2008.

Remião JOR, Siqueira AJS, Azevedo AMP. Bioquímica: guia de aulas práticas. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. 214 p.

Tasic L. org. Química em 50 ensaios. Campinas, SP: Átomo, 2017. 445 p.