

AULA PRÁTICA

Tema: Enzima invertase e atuação em carboidratos

I – FUNDAMENTAÇÃO

Enzimas são moléculas com capacidade de realizar reações bioquímicas importantes, sendo conhecidas por sua ação catalisadora e especificidade na atuação (Nelson; Cox; Hoskins, 2022). O fungo conhecido popularmente por fermento biológico, espécie *Saccharomyces cerevisiae*, é uma levedura utilizada industrialmente para diversas finalidades, por possuir diversas enzimas de interesse. Dentre elas, a enzima invertase, responsável pela hidrólise da sacarose, resultando na formação de glicose e frutose (Mahendran *et al.*, 2024).

Para confirmação da ação enzimática da invertase, pode-se utilizar o Reativo de Benedict, a base de sulfato de cobre, o qual reage com carboidratos específicos em presença de calor, propiciando uma reação de oxido-redução, a qual é passível de visualização (coloração em tom tijolo). Todos os monossacarídeos são identificados com este reativo, entretanto, nem todos os carboidratos de estrutura maior (dissacarídeos e polissacarídeos) possuem esta reação em contato com o reativo e calor, tal como a sacarose.

Desta maneira, na aula prática a seguir, será feita a extração desta enzima a partir do fungo levedura e averiguação da eficiência do processo de extração e ação enzimática, sobre diferentes carboidratos, em condições específicas propostas, através do uso do Reativo de Benedict.

II – PROCEDIMENTOS PARA TESTE (METODOLOGIA)

1. Medir o pH da água deionizada e anotar, para auxiliar na discussão dos resultados.

2. Extração da enzima invertase

- a) Medir a massa de 1 grama de fermento biológico em bécker de polipropileno.
- b) Adicionar 10 mL de água deionizada e homogeneizar.
- c) Transferir conteúdo, fermento e água, para tubo de ensaio de vidro.
- d) Colocar em banho-maria a 37°C por 30 **minutos**.
- e) Verter o conteúdo em tubo de centrífuga e centrifugar a 1.000 rpm por 15 minutos.
- f) Retirar 1 mL de sobrenadante (o qual contém a enzima invertase) e realizar a diluição em bécker, na proporção de 1:25, com água deionizada.

3. **Preparar soluções de carboidratos a 0,5%:** sacarose, glicose, amido e maltose.

4. **Em 5 tubos de ensaio, colocar as soluções conforme a tabela e seguir o que se pede:**

- Em cada tubo de ensaio adicionar a invertase extraída (1 mL).
- Adicionar os itens conforme a Tabela abaixo e deixar em repouso, em banho maria a 37°C pelo tempo descrito na tabela.

Tubo	Solução (5 mL)	Tempo de repouso
Tubo 1 – controle negativo	Água deionizada	5 minutos
Tubo 2 – controle positivo de carboidratos redutores	Glicose	5 minutos
Tubo 3	Amido	5 minutos
Tubo 4	Maltose	5 minutos
Tubo 5	Sacarose	5 minutos

a) Após o tempo específico de repouso, descrito na tabela, adicionar **1 mL do reativo de Benedict e colocar no Banho-Maria fervente a 90°C ou em Estufa a 130°C, por 10 minutos.** Observar. Caso o tubo 2, controle positivo, esteja vermelho/laranja tijolo, o tempo foi suficiente. Do contrário, deixar mais 10 minutos.

b) Verificar qual tubo obteve reação similar aos grupos (comparar com os tubos 1, 2).

c) Discutir resultados esperados e obtidos.

REFERÊNCIAS

Nelson, David L.; Cox, Michael M.; Hoskins, Aaron A. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre, RS: Grupo A, 2022.

Mahendran, S.; Sankaralingam, S.; Tamilarasi, S. *et al.* Bioactive potential of invertase by yeast *Saccharomyces cerevisiae* from the honey bee gut: isolation and characterization. **Biomass Conv. Bioref.** 14, 4897–4906 (2024). <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02499-w>.