

**APÊNDICE II****PREPARO DE REAGENTES****A2.1.Preparo de Reagentes utilizados na determinação do Teor de Proteínas Totais segundo o Método de Lowry****A2.1.1. Preparo das Soluções da Mistura Reativa****A2.1.1.1. Preparo da Solução Alcallina**

A solução é obtida a partir da adição dos seguintes reagentes:

- Carbonato de Sódio \_\_\_\_\_ 20g
- Hidróxido de Sódio (lentilhas) \_\_\_\_\_ 04g
- Água Destilada \_\_\_\_\_ 1000mL

**A2.1.1.2. Preparo da Solução de Sulfato Cúprico**

A solução é obtida a partir da adição dos seguintes reagentes:

- Sulfato Cúprico Anidro \_\_\_\_\_ 02g
- Água Destilada \_\_\_\_\_ 100mL

**A2.1.1.3. Preparo da Solução de Tartarato de Sódio e Potássio**

A solução foi obtida pela adição dos seguintes reagentes:

- Tartarato de Sódio e Potássio \_\_\_\_\_ 04g
- Água Destilada \_\_\_\_\_ 100 mL

A Mistura Reativa será a mistura das 3 soluções na proporção 100:1: 1 ( 100 partes de Solução Alcalina, 1 parte de Solução de Sulfato Cúprico e 1 parte de Solução de Tartarato de Sódio e Potássio).

#### **A2.1.2. Preparo do Reativo de Folin-Ciocalteu diluído**

A solução estoque (SIGMA®) foi diluída em água destilada na proporção 1:3, ou seja, 1 parte de Solução Estoque (frasco original) para 2 partes de Água Destilada.

## A2.2. Preparo de Reagentes utilizados na Contagem Celular e Análise de Viabilidade em Câmara de Neubauer

### A2.2.1. Preparo da Solução de Azul de Metileno 0,025%

A solução foi obtida a partir da adição dos seguintes reagentes:

• Azul de Metileno _____	0,025g
• NaCl _____	0,900g
• KCl _____	0,042g
• CaCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O _____	0,048g
• Glicose _____	1,000g
• NaHCO <sub>3</sub> _____	0,020g
• Água Destilada _____	97,965g

### **A2.3.Preparo de Reagentes utilizados na determinação do Teor de Glicose segundo o Método de Somogyi**

#### **A2.3.1. Preparo das Soluções da Mistura Reativa**

##### **A2.3.1.1. Preparo da Solução Alcallina**

A solução é obtida a partir da adição dos seguintes reagentes:

• NaHCO <sub>3</sub> _____	20,0g
• NaKC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> _____	15,0g
• Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> _____	30,0g
• Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> _____	180g
• Água Destilada (qsp) _____	1000 mL

Dissolveu-se cada sal em separado de forma que a soma dos volumes não excedesse 1000mL. Uma vez dissolvidos, as soluções foram misturadas. Dissolveu-se o sulfato de sódio em, aproximadamente, 800mL de água destilada, aquecendo em bico de bunsen para auxiliar na dissolução. Os demais sais foram dissolvidos em menos de 50mL de água destilada para evitar que de água adicionado não excedesse os 1000mL. Uma vez dissolvidos os sais, as 4 soluções foram então misturadas.

##### **A2.3.1.2. Preparo da Solução Alcalino Cúprica**

A solução é obtida a partir da adição dos seguintes reagentes:

• Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> _____	46,0g
• CuSO <sub>4</sub> . 5 H <sub>2</sub> O (40g/L) _____	100 mL
• Água Destilada (qsp) _____	200 mL

Dissolveu-se 46,0g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  em 100mL de uma solução de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  de concentração 40,0g/L. Uma vez concluída a dissolução, completou-se o volume a 200mL com água destilada.

### A2.3.1.3. Preparo da Solução Arseno-Molíbdica

A solução foi obtida pela adição dos seguintes reagentes:

• $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	_____	26,32g
• $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	_____	3,16g
• $\text{H}_2\text{SO}_4$ (d = 1,84)	_____	22,10 mL
• Água Destilada (qsp)	_____	500mL

Dissolveu-se o molibdato de amônio em 400 mL de água destilada. A seguir, dissolveu-se o arseniato de sódio em 25mL de água destilada e, então, adicionou-se o ácido sulfúrico à solução de molibdato. Após o término da adição do ácido sulfúrico à solução de molibdato, esta era adicionada à solução de arseniato. O volume foi, então, completado a 500mL. (obs: qsp = quantidade suficiente para).

A Mistura Reativa será a mistura da solução alcalina e da solução alcalino-cúprica de forma que tenhamos 4 partes de solução alcalina para 1 parte da solução alcalino-cúprica.