

**Técnicas Espectroscópicas em Biofísica Molecular, 4300435, 2015**  
**4ª lista de exercícios – Absorção óptica**

1. Dê a definição de Absorbância e Transmitância
2. Explique porque a melhor sensibilidade do espectrofotômetro é encontrada para valores de absorbância entre 0,1 e 2,0. Deixe claro o que isto significa com relação à fração de luz absorvida pela amostra.
3. Considerando que em uma amostra incide uma radiação com intensidade  $I_0$ . Discuta e deduza a lei de Lambert-Beer. O que você observa diretamente no espectrofotômetro?
4. Sabendo que o Trp apresenta coeficiente de extinção molar em 280 nm igual a  $5700 \text{ (Mcm)}^{-1}$ , que valor de absorbância, neste comprimento de onda, você espera encontrar para uma amostra  $10^{-3} \text{ M}$ , caso use um caminho óptico de 1 cm? O caminho óptico usado foi adequado? Por quê?
5. Uma solução  $2 \times 10^{-5} \text{ M}$  de uma proteína que contém 1 resíduo de triptofano apresenta absorbância em 290 nm igual a 0,042 (em uma cubeta de 1 cm de caminho óptico). Qual o coeficiente de extinção para essa proteína nesse comprimento de onda?
6. Considere um peptídeo contendo uma molécula de Abz (ácido amino benzoico), sendo que este cromóforo tem coeficiente de extinção em 310 nm igual a  $2,9 \times 10^3 \text{ (Mcm)}^{-1}$ . Qual a concentração de peptídeo contendo Abz necessária para que sua absorbância em 310 nm (cubeta de 1 cm) seja igual à absorbância em 290 nm da proteína do exercício anterior?
7. Uma proteína contém 1 resíduo de Trp e 3 de Tyr. Os coeficientes de extinção do Trp e da Tyr em 280 nm, em água são, respectivamente,  $5700 \text{ (Mcm)}^{-1}$  e  $2100 \text{ (Mcm)}^{-1}$ . Qual a concentração de uma solução desta proteína quando sua absorbância em 280 nm é igual a 0,060, em uma cubeta de 1 cm de caminho óptico?
8. Considere um peptídeo formado por 15 aminoácidos, contendo dois resíduos de triptofano. Sabendo que o coeficiente de extinção do Trp é  $5700 \text{ (Mcm)}^{-1}$ , calcule a concentração ( $M = \text{mols/litro}$ ) que você deve usar para obter uma absorbância em torno de 1.0 com uma cela de 0,5 cm de caminho óptico.
9. Cite alguns cromóforos encontrados em proteínas. Em que região eles absorvem radiação? A solução de Trp que você usou no laboratório é colorida? Por quê? Por que soluções de Trp, a diferentes valores de pH, podem apresentar diferentes espectros de absorção óptica?