

Técnicas Espectroscópicas em Biofísica Molecular, 4300435, 2015

5ª lista de exercícios – Fluorescência

1. Diga o que são: luminescência, fluorescência e fosforescência.
2. Faça um esquema do Diagrama de Jablonski, deixando bem claro o seu significado.
3. O que é o chamado “deslocamento de Stokes”. A que ele pode ser atribuído?
4. Por que a posição espectral de emissão fluorescente pode não depender do comprimento de onda de excitação?
5. Quais os processos que contribuem para a “desexcitação” de um fluoróforo? Como é definido o rendimento quântico de um fluoróforo? Por quê? Como é possível medir experimentalmente o rendimento quântico de uma molécula?
6. Vamos considerar o experimento de fluorescência pulsada: é dado um pulso de luz, e medido a Intensidade de luz emitida ao longo do tempo, em um certo λ , $I(t) = I_0 e^{-t/\tau}$, sendo τ chamado tempo de vida do estado excitado. Caso você faça um experimento de fluorescência do estado estacionário, com a mesma molécula, calcule a Intensidade da luz emitida, que será medida no mesmo λ , em função de I_0 e τ .
7. Se o tempo de vida medido experimentalmente para o Trp é 2,7 ns, e o seu rendimento quântico vale 0,14, qual o tempo de vida de decaimento por emissão de fluorescência? Qual a taxa de emissão espontânea do Trp?
8. discuta, qualitativamente, o efeito que o solvente produz sobre a fluorescência, de acordo com o modelo de Lippert.
9. Considere um fluoróforo que apresenta 20 D de diferença entre os dipolos elétricos do estado fundamental e do estado excitado, e que, aproximadamente, ocupa o espaço de uma esfera de raio 4Å. Considerando somente o efeito geral do solvente, calcule o deslocamento espectral esperado (em cm^{-1}), quando este fluoróforo estiver em metanol ($\epsilon = 33,1$ e $n = 1,326$) e em hexano ($\epsilon = 1,874$ e $n = 1.326$). (Resp.: 9740 cm^{-1} em metanol e 35 cm^{-1} em hexano). Considerando a absorção em 350 nm, calcule o máximo de emissão para o fluoróforo nos dois solventes. (Resp. 531,1 nm em metanol e 350,4 nm em hexano).
10. O espectro de fluorescência de uma molécula geralmente é mais sensível aos efeitos do solvente do que seu espectro de absorção óptica. Como isto é explicado no modelo de Lippert?
11. A que está relacionada a constante dielétrica de um meio? E seu índice de refração? Discuta a resposta comparando os valores obtidos para água e hexano.
12. Em experimentos realizados, verifica-se que, para o Trp, $\lambda_{\text{abs}} = 280 \text{ nm}$ (absorção) e $\lambda_{\text{em}} = 360$ (emissão). Estime a diferença entre os dipolos elétricos do estado excitado e do estado fundamental do Trp, ($\mu^* - \mu$). Considere a água como solvente, $\epsilon = 78,3$ e $n = 1,33$. Qual o efeito de maior importância na posição espectral das bandas de emissão fluorescente: a reorientação eletrônica no solvente ou a reorientação das moléculas do solvente? Em sua resposta descreva qualitativamente o modelo de Lippert, deixando claro esses efeitos.
13. Definindo a anisotropia de fluorescência como $A = \frac{I_{//} - I_{\perp}}{I_{//} + 2I_{\perp}}$, mostre que o valor máximo medido em uma solução é $= 0,4$, para a solução congelada. Entretanto, você fez uma medida de anisotropia de fluorescência com um fluoróforo em uma dispersão de vesículas lipídicas e obteve o valor 0.5. Como você poderia explicar esse dado experimental?
14. O que mede a anisotropia de fluorescência? Explique um experimento para medir a anisotropia de fluorescência do triptofano em solução aquosa. Que valor você espera encontrar? Por quê? Caso este triptofano esteja em um peptídeo que interage com a membrana de uma célula, sendo que ele penetra na membrana, que valor você espera encontrar? Por quê?