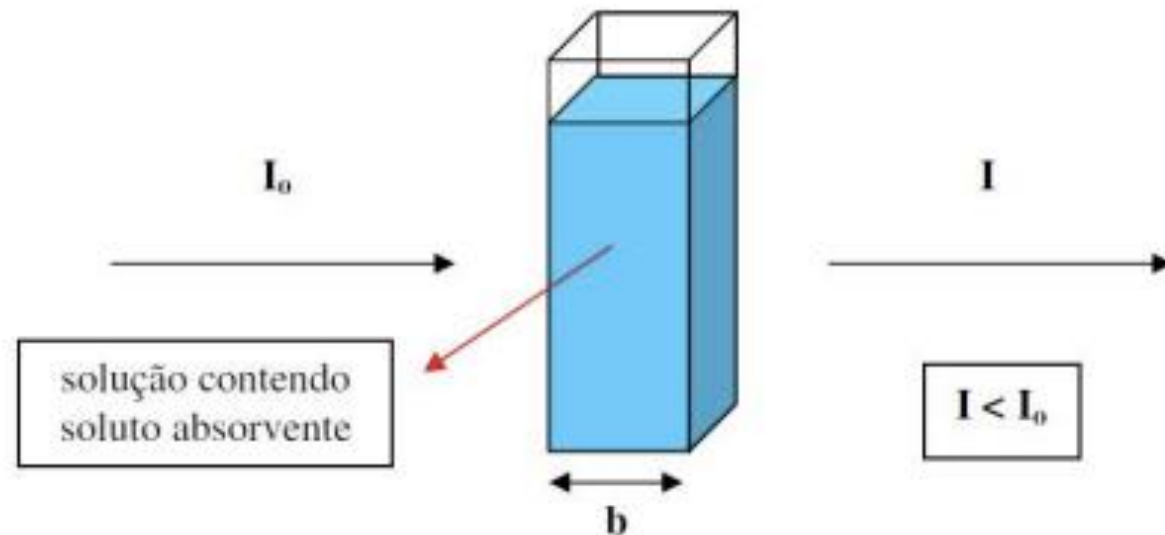


Prática 1: Espectrofotometria e Colorimetria

Prof. Henning Ulrich

QBQ230N
2023

A Lei de Lambert-Beer: a absorvância é proporcional à concentração da espécie química absorvente, sendo constante o comprimento de onda, a espessura atravessada pelo feixe luminoso e demais fatores. Verifica-se uma relação linear entre absorvância ou densidade ótica e concentração, e de uma relação logarítmica entre transmitância e concentração.



c = concentração da espécie química absorvente
 b = espessura atravessada pelo feixe luminoso
 I_0 = intensidade de luz incidente
 I = intensidade de luz emergente (transmitida)

c = concentração da espécie química absorvente
 b = espessura atravessada pelo feixe luminoso
 I_0 = intensidade de luz incidente
 I = intensidade de luz emergente (transmitida)

$$I < I_0$$

$$Ab = D.O. = K.b.c = \log \frac{I_0}{I} \quad (\text{absorbância ou densidade ótica})$$

A Transmitância ou Transmissão (T%) corresponde a:

$$\frac{I_0}{100} \frac{I}{T} \quad T = 100 \times \frac{I}{I_0}$$

como, $\frac{I}{I_0} = \frac{T}{100}$, temos que: $\frac{I_0}{I} = \frac{100}{T}$

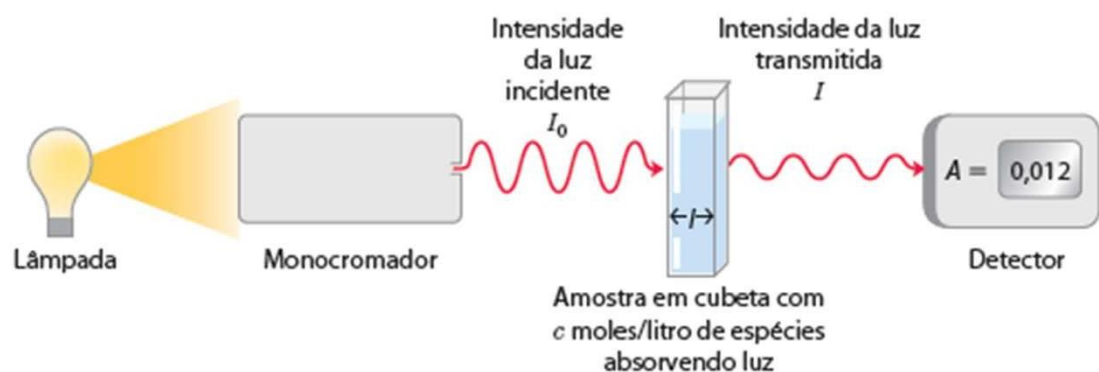
portanto, $\log \frac{I_0}{I} = \log \frac{100}{T}$

logo, $Ab = \log 100 - \log T$

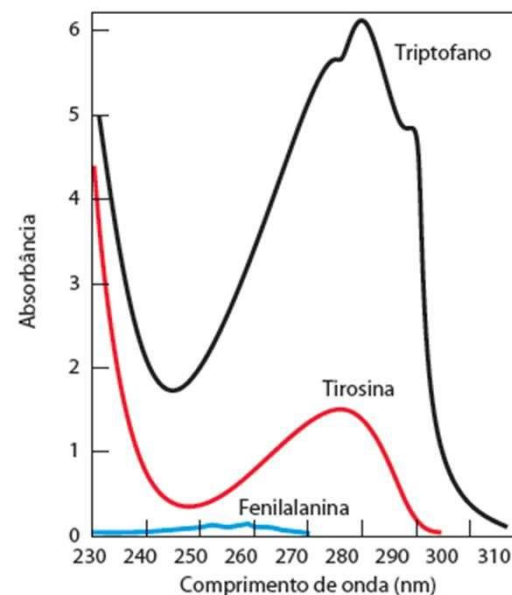
$Ab = 2 - \log T$

COLORIMETRIA/ESPECTROSCOPIA

PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS



Quantidades Equimolares



LEI DE LAMBERT-BEER

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon c l$$

Absorbância (A)

- I_0 intensidade de luz incidente
- I intensidade de luz transmitida
- ϵ coeficiente de extinção molar ou absorvidade molar (L/mol/cm) (característico de cada substância)
- c concentração da substância (mol/L)
- l comprimento do caminho de luz ou caminho óptico (em cm)

Espectroscopia de Absorção

Pela Lei de Lambert- Beer podemos concluir que a absorbância de uma solução é diretamente proporcional à concentração da espécie absorvente quando se fixa o comprimento

AMINOÁCIDOS AROMÁTICOS

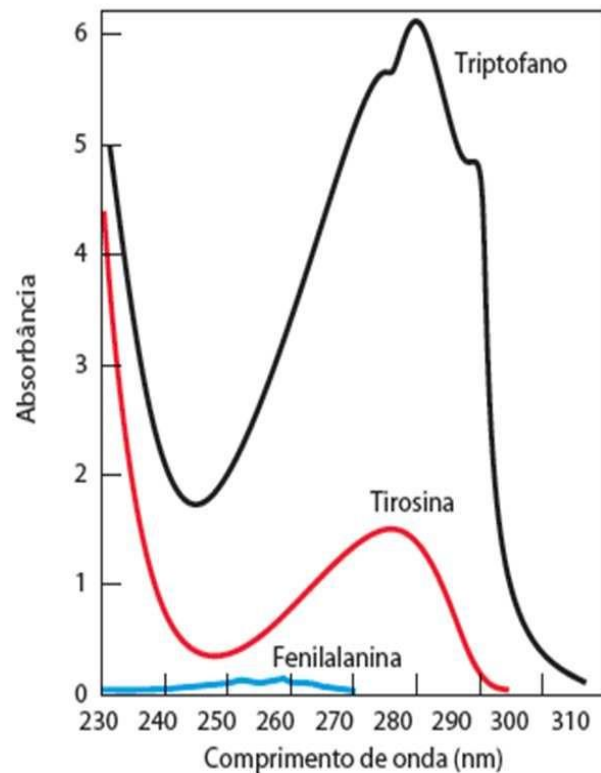
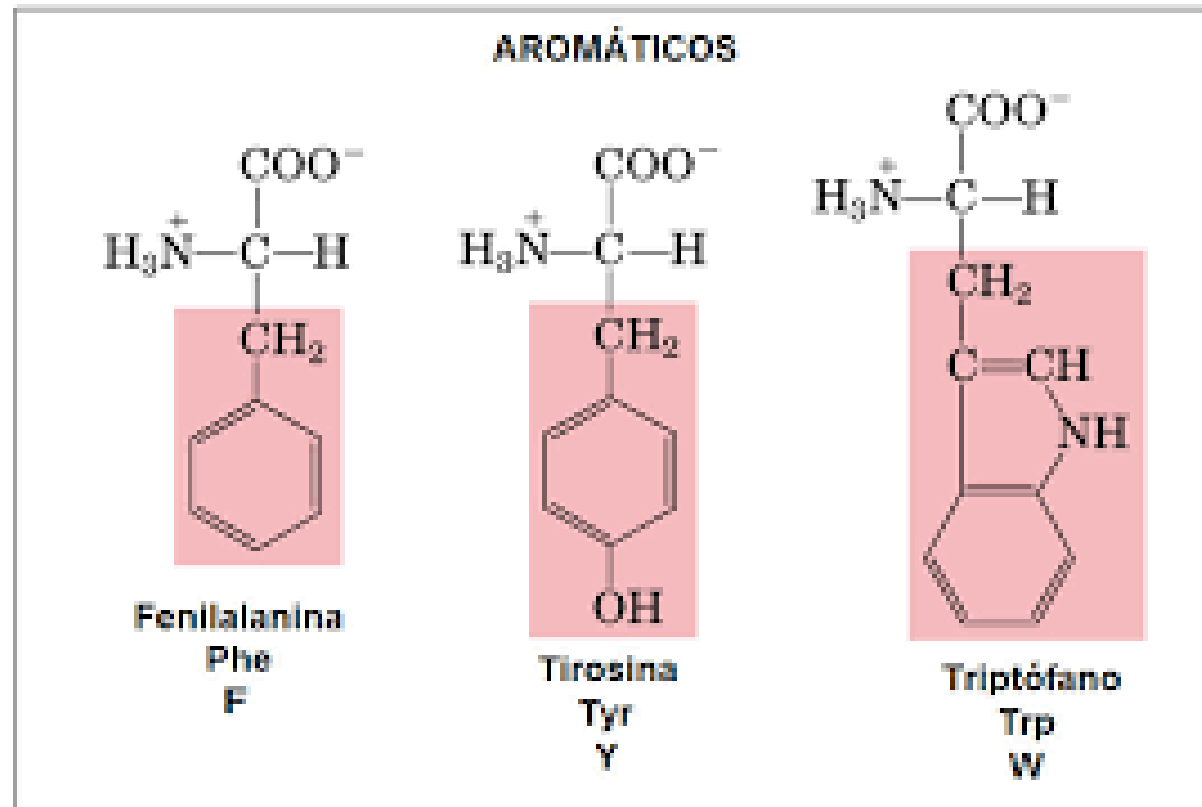
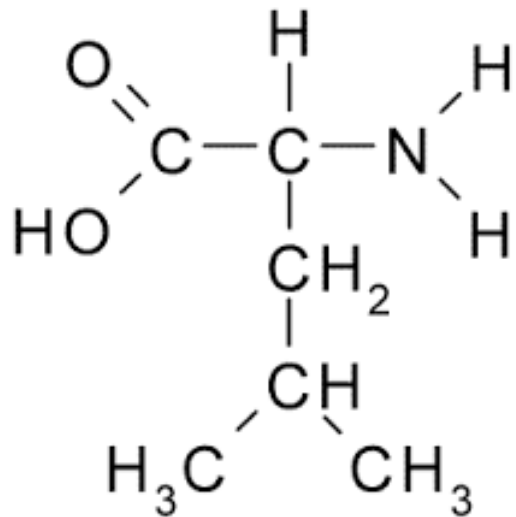


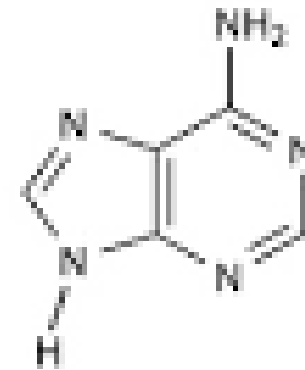
Figura de Princípios de Bioquímica de Lehninger



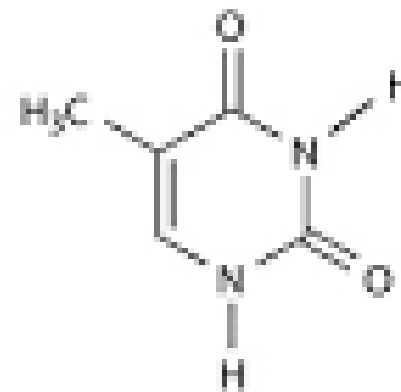
AMINOÁCIDOS E BASES NITROGENADAS



Leucina



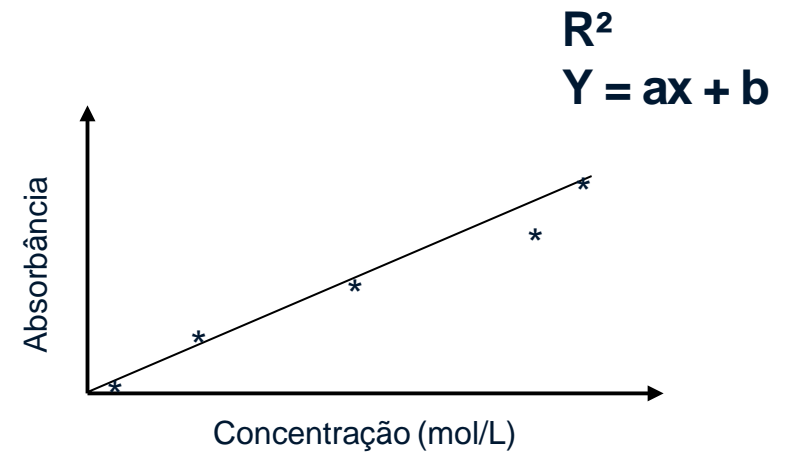
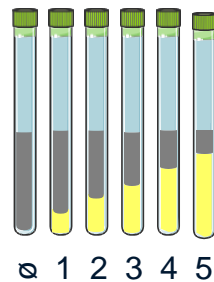
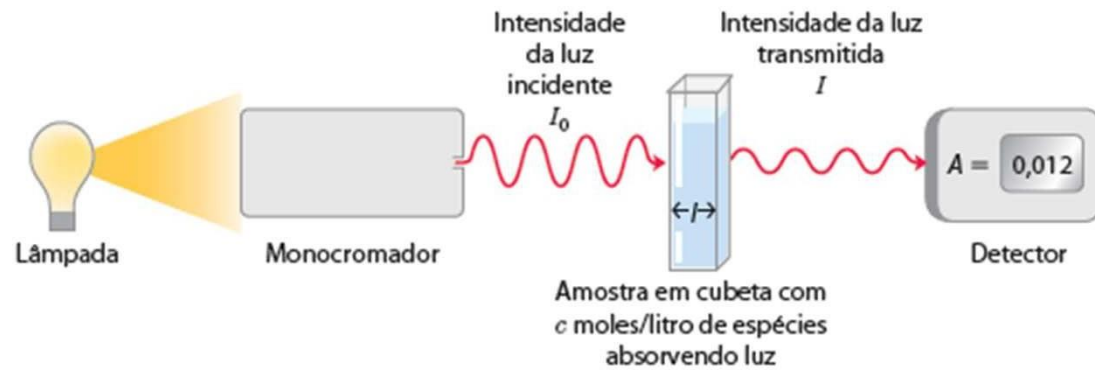
Adenina (A)



Timina (T)

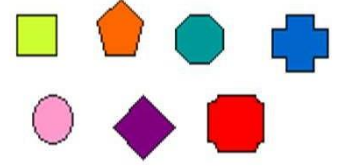
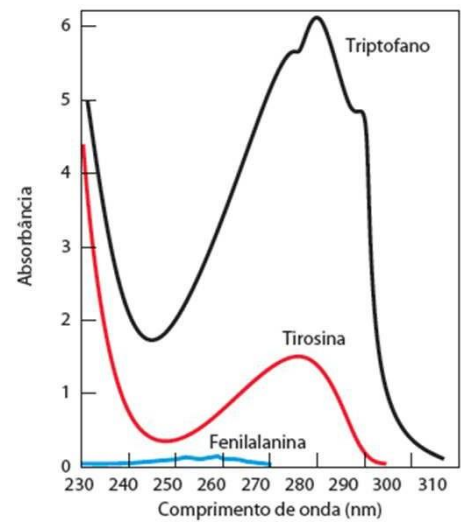
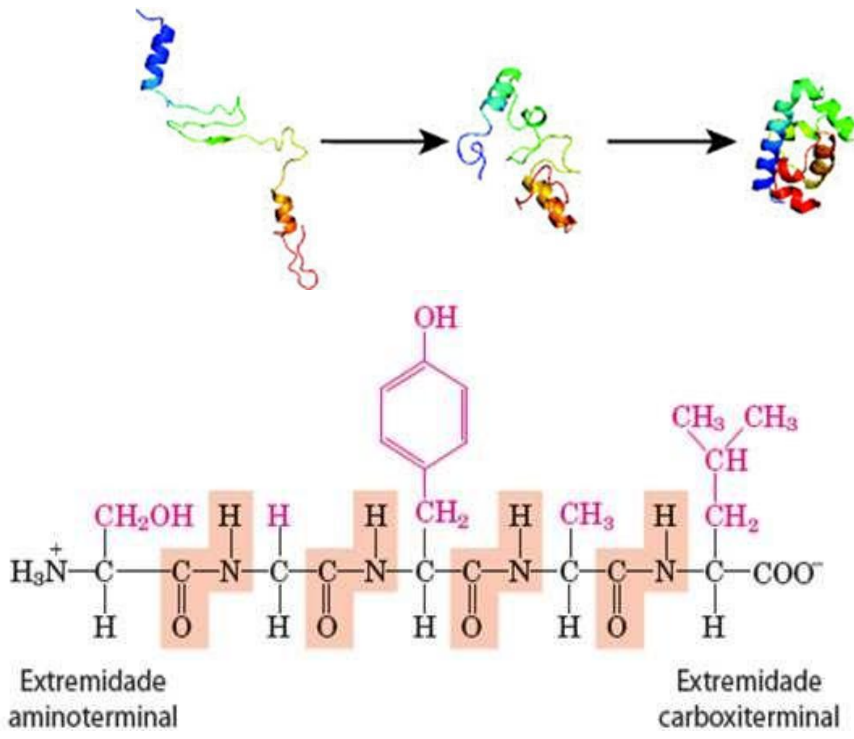
COLORIMETRIA/ESPECTROSCOPIA

PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

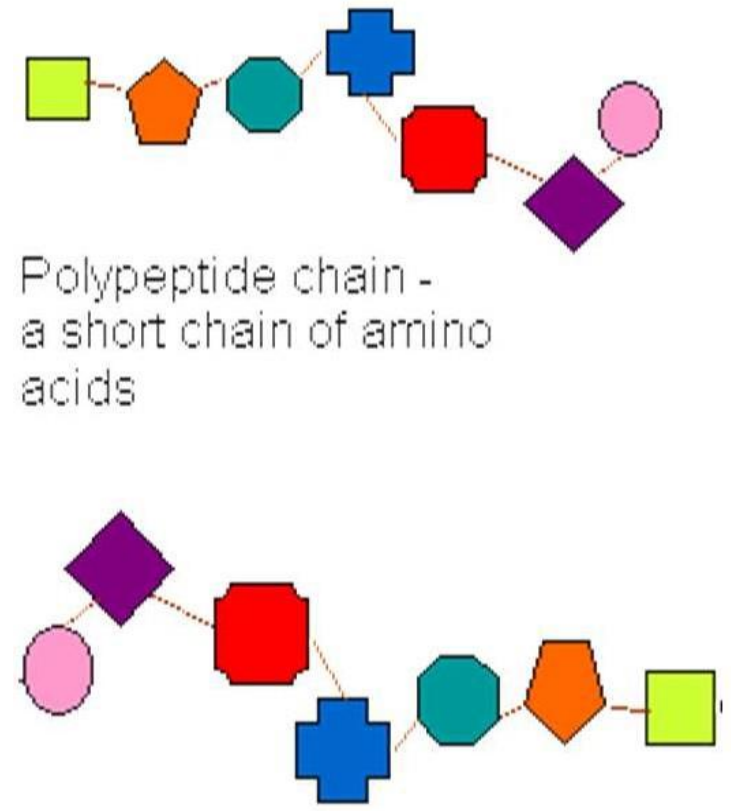


COLORIMETRIA/ESPECTROSCOPIA

PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

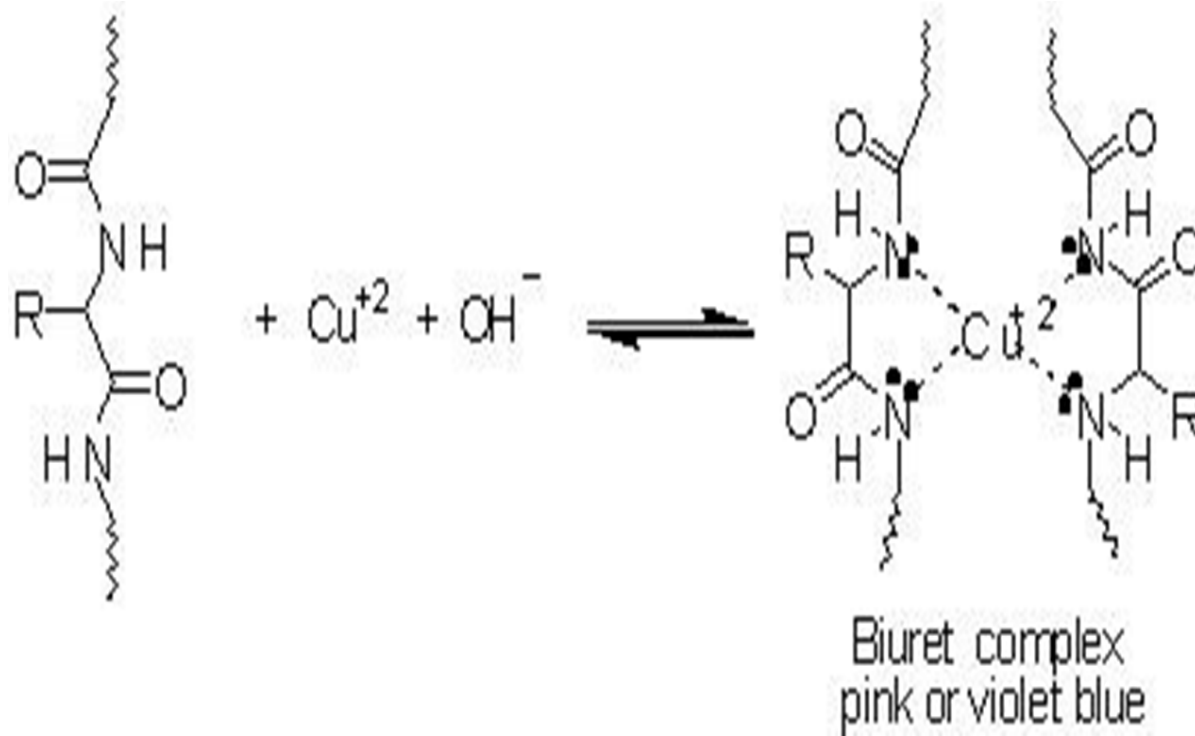


Amino acids



COLORIMETRIA/ESPECTROSCOPIA

REAÇÃO DE BIURETO



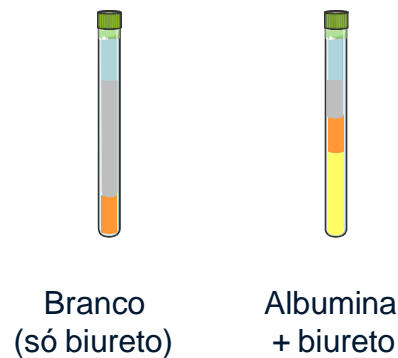
Reação de biureto
(Wikipedia)

AULA PRÁTICA - 1

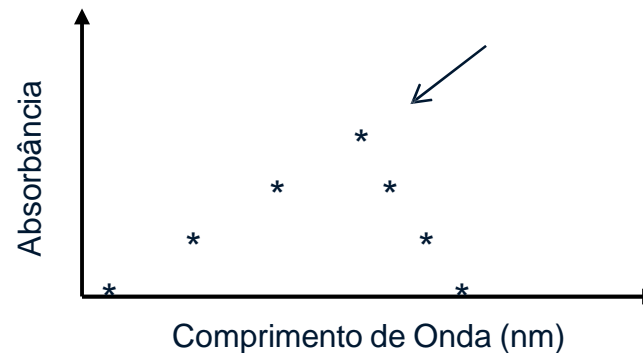
OBJETIVOS

1) DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE UMA PROTEÍNA

A) DETERMINAÇÃO DO $\lambda_{MÁX}$ DO PRODUTO DA REAÇÃO DE BIURETO;



15 min a 37°C



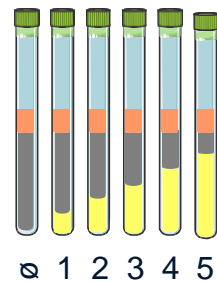
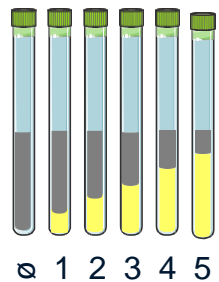
400, 420, 450, 470, 500, 520, 550, 580, 600, 630, 650, 680 e 700 nm

AULA PRÁTICA - 1

OBJETIVOS

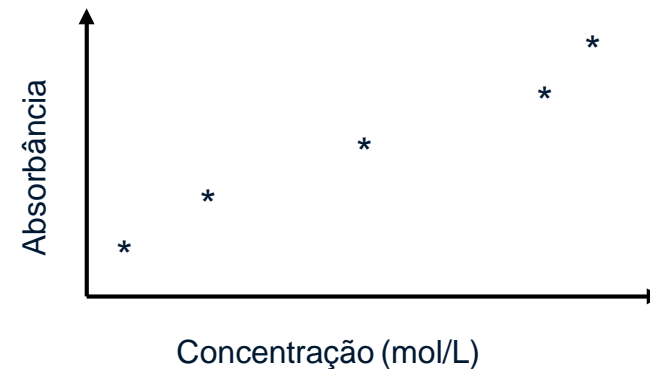
1) DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE UMA PROTEÍNA

B) DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA



15 min a 37°C

540 nm



AULA PRÁTICA - 1

OBJETIVOS

1) DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE UMA PROTEÍNA

B) DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA

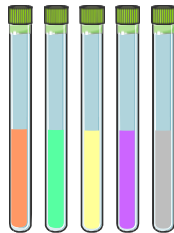
TUBOS	PADRÃO ALBUMINA (8MG/ML)	PROTEÍNA X	ÁGUA DESTILADA	REAGENTE BIURETO	CONCENTRAÇÃO (MG/ML)	ABSORBÂNCIA (540 NM)
BRANCO	-	-	1,5 ML	2,5 ML		
1	0,1ML	-	1,4 ML	2,5 ML		
2	0,2ML	-	1,3 ML	2,5 ML		
3	0,4ML	-	1,1 ML	2,5 ML		
4	0,7ML	-	0,8 ML	2,5 ML		
5	1,0ML	-	0,5 ML	2,5 ML	<input type="text"/>	
X	-	1,0 ML	0,5 ML	2,5 ML		

AULA PRÁTICA - 1

OBJETIVOS

2) DETERMINAÇÃO DO ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE LUZ DE AMINOÁCIDOS E BASES PURÍNICAS E PIRIMIDÍNICAS

A) DETERMINAÇÃO DA $\lambda_{MÁX}$



LEUCINA (0,2 MG/ML)
TRIPTOFANO (0,004 MG/ML)
TIROSINA (0,1 MG/ML)
ADENINA (0,004 MG/ML)
TIMINA (0,01 MG/ML)

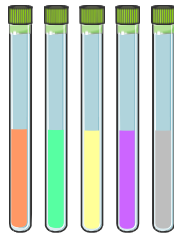
A') $\lambda_{MÁX}$,
A'') ABSORBÂNCIA OBTIDA EM $\lambda_{MÁX}$,
A''') CALCULAR ϵ DE CADA SUBSTÂNCIA

AULA PRÁTICA - 1

OBJETIVOS

2) DETERMINAÇÃO DO ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE LUZ DE AMINOÁCIDOS E BASES PURÍNICAS E PIRIMIDÍNICAS

A) DETERMINAÇÃO DA $\lambda_{MÁX}$



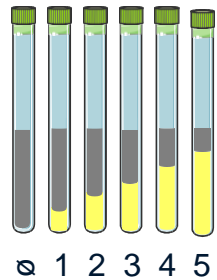
LEUCINA (0,2 MG/ML)
TRIPTOFANO (0,004 MG/ML)
TIROSINA (0,1 MG/ML)
ADENINA (0,004 MG/ML)
TIMINA (0,01 MG/ML)

A') $\lambda_{MÁX}$,
A'') ABSORBÂNCIA OBTIDA EM $\lambda_{MÁX}$,
A''') CALCULAR ϵ DE CADA SUBSTÂNCIA

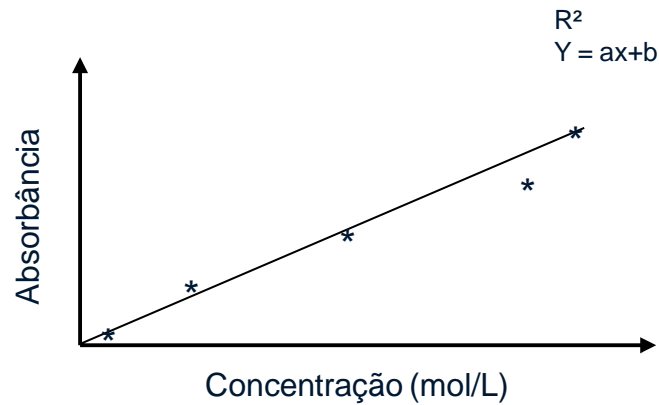
AULA PRÁTICA - 1

OBJETIVOS

2) DETERMINAÇÃO DA CURVA DE ABSORBÂNCIA X CONCENTRAÇÃO



? nm



TUBOS	TRIPTOFANO (0,01 MG/ML)	ÁGUA DESTILADA	CONCENTRAÇÃO (MG/ML)	ABSORBÂNCIA OBTIDA
BRANCO	-	2,0 ML		
1	0,1 ML	1,9 ML		
2	0,2 ML	1,8 ML		
3	0,4 ML	1,6 ML		
4	0,7 ML	1,3 ML		

CORREÇÃO RELATÓRIOS

NOTAS

INTRODUÇÃO	0,5
OBJETIVOS	0,5
MATERIALE MÉTODOS.....	0,5
RESULTADOS	2,0
CONCLUSÃO	1,5
QUESTÕES	5,0