

## **Simulador de eletroforese**

### **Roteiro 1: Comportamento de ácidos fracos**

Antes de iniciar, leia a **Introdução** e **Sobre a Técnica**. Em seguida, siga o roteiro abaixo:

**A.** Selecione na lista de compostos o **ácido p-nitro-fenil-propanóico**, fixe o **pH em 4,48** e faça a simulação da eletroforese.

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Qual foi a velocidade de migração?
2. Qual é a proporção das espécies presentes no meio, no início e no final da simulação? Escreva as estruturas dessas espécies.
3. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Esse ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga? Por que as espécies mudam seu estado de ionização mesmo sem a aplicação de voltagem?
4. Todas as moléculas do sistema movimentam-se na eletroforese?
5. A proporção das espécies do sistema será mudada se houver alteração do pH do meio. Verdadeiro ou Falso?
6. A resposta à questão anterior tem confirmação pela Equação de Henderson-Hasselbalch?
7. Por que aparece apenas uma mancha na eletroforese se há duas espécies diferentes, uma com carga elétrica e outra sem carga?
8. É possível separar as duas espécies?

**B.** Altere o **pH** do meio para **5,48** e faça a simulação da eletroforese.

9. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Qual foi a velocidade de migração? Compare essa velocidade com a da eletroforese realizada em pH=4,48.
10. Qual é a proporção das espécies presentes no início, no meio e no final da simulação? Qual a relação entre as proporções das espécies no pH=4,48 e no pH 5,48 com as velocidades observadas nos dois casos?
11. Verifique as proporções das espécies e a velocidade de migração do sistema em 3,48; 4,48 e 5,48.
12. Qual a relação entre a velocidade de migração da amostra e os valores de pH?
13. Em qual(quais) valores de pH o sistema se encontra em equilíbrio?

## **Simulador de eletroforese**

### **Roteiro 2: Comportamento de aminoácidos**

#### **Comportamento de aminoácidos com cadeia lateral não ionizável.**

**A.** Na lista de aminoácidos, escolha a **Glicina (Gly)**, ajuste o **pH** do meio para **2,35** e faça a simulação da eletroforese.

1. Qual foi o resultado obtido na eletroforese? Em direção a que polo a amostra migrou? Qual foi a velocidade de migração?
2. Qual é a proporção das espécies presentes no meio no início e no final da simulação? Escreva as estruturas dessas espécies.
3. Na representação microscópica, observe apenas um ponto. Esse ponto, que representa uma molécula, mantém sempre a mesma carga?

**B.** Ajuste o **pH** para **9,78** e faça a simulação da eletroforese.

4. Qual a diferença entre o resultado deste experimento e o do experimento anterior?

**C.** Repita o experimento em uma faixa de pH com variação de uma unidade de pH.

5. Há algum valor de pH em que não haja nenhuma carga nas espécies?

**D.** Faça experimentos com o objetivo de determinar um valor de pH no qual não há nenhuma migração.

6. Qual foi o valor encontrado? É possível encontrar esse valor teoricamente?

**E.** Prepare agora um sistema com a **Alanina (Ala)**, e repita os passos 1, 4 e 5.

7. Houve diferenças no comportamento dos sistemas? Quais?

#### **Comportamento de aminoácidos com cadeia lateral ionizável.**

**G.** Prepare um experimento com o **Glutamato (Glu)** em **pH=2,1** e repita os passos 1, 2 e 5.

8. Por que o pI é tão baixo?

**H.** Prepare um experimento com a **Arginina (Arg)** em **pH=10,74** e repita os passos 1, 2 e 5.

9. Por que o pI é tão baixo?

10. Por que há um pI entre pKa e pK<sub>R</sub> e não na média global dos pK<sub>a</sub>s, tanto para Glu como para Arg?