

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 $\text{pH}=4,48$.
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 $\text{pH}=4,48$ e no $\text{pH} 5,48$ 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 pKR e não na média global dos pKas, tanto para Glu como para Arg?