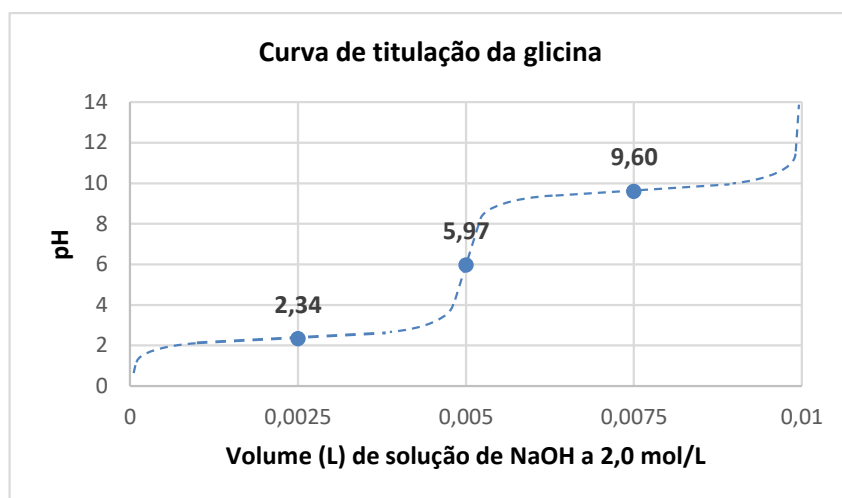
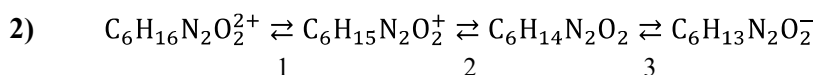


Titulando a partir do volume de solução de NaOH a 2,0 mol/L, observamos:

$$V = \frac{n}{M} \Leftrightarrow V_1 = \frac{0,005}{2,0} = 0,0025L ; V_2 = \frac{0,01}{2,0} = 0,005L \text{ e } V_3 = \frac{0,015}{2,0} = 0,0075L$$



Para ambos os gráficos  $pK_{a1} = 2,34$ ;  $pI = 5,97$  e  $pK_{a2} = 9,60$ .



$$pK_{a1} = 2,18; pK_{a2} = 8,95 \text{ e } pK_{a3} = 10,53$$

Para  $pH = 4$ , temos:

$$pH = pK_{a1} + \log \left( \frac{[C_6H_{15}N_2O_2^+]}{[C_6H_{16}N_2O_2^{2+}]} \right) \therefore 4 = 2,18 + \log \left( \frac{[C_6H_{15}N_2O_2^+]}{[C_6H_{16}N_2O_2^{2+}]} \right) \therefore$$

$$\therefore 10^{1,82} \times [C_6H_{16}N_2O_2^{2+}] - [C_6H_{15}N_2O_2^+] = 0$$

$$pH = pK_{a2} + \log \left( \frac{[C_6H_{14}N_2O_2]}{[C_6H_{15}N_2O_2^+]} \right) \therefore 4 = 8,95 + \log \left( \frac{[C_6H_{14}N_2O_2]}{[C_6H_{15}N_2O_2^+]} \right) \therefore$$

$$\therefore 10^{-4,95} \times [C_6H_{15}N_2O_2^+] - [C_6H_{14}N_2O_2] = 0$$

$$pH = pK_{a3} + \log \left( \frac{[C_6H_{13}N_2O_2^-]}{[C_6H_{14}N_2O_2]} \right) \therefore 4 = 10,53 + \log \left( \frac{[C_6H_{13}N_2O_2^-]}{[C_6H_{14}N_2O_2]} \right) \therefore$$

$$\therefore 10^{-6,53} \times [C_6H_{14}N_2O_2] - [C_6H_{13}N_2O_2^-] = 0$$

E para a concentração de lisina caracterizamos:

$$[lisina] = 0,1M \therefore [C_6H_{16}N_2O_2^{2+}] + [C_6H_{15}N_2O_2^+] + [C_6H_{14}N_2O_2] + [C_6H_{13}N_2O_2^-] = 0,1M$$

$$[C_6H_{15}N_2O_2^+] = 10^{1,82} \times [C_6H_{16}N_2O_2^{2+}]$$

$$[C_6H_{14}N_2O_2] = 10^{-4,95} \times (10^{1,82} \times [C_6H_{16}N_2O_2^{2+}])$$

$$[C_6H_{13}N_2O_2^-] = 10^{-6,53} \times (10^{-4,95} \times (10^{1,82} \times [C_6H_{16}N_2O_2^{2+}]))$$

Logo:

$$[C_6H_{16}N_2O_2^{2+}] + 10^{1,82} \times [C_6H_{16}N_2O_2^{2+}] + 10^{-4,95} \times (10^{1,82} \times [C_6H_{16}N_2O_2^{2+}]) + 10^{-6,53} \times (10^{-4,95} \times (10^{1,82} \times [C_6H_{16}N_2O_2^{2+}])) = 0,1M$$

Desta forma:

$$[C_6H_{16}N_2O_2^{2+}] \cong 0,0015M \quad [C_6H_{15}N_2O_2^+] \cong 0,0985M \quad [C_6H_{14}N_2O_2] \cong 0M \quad [C_6H_{13}N_2O_2^-] \cong 0M$$

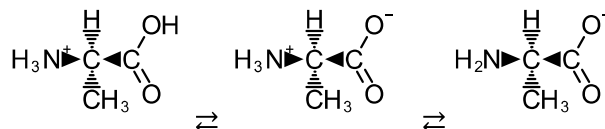
Para os demais pH's realizou-se procedimento análogo, obtendo-se para pH = 8:

$$[C_6H_{16}N_2O_2^{2+}] \cong 0M \quad [C_6H_{15}N_2O_2^+] \cong 0,09M \quad [C_6H_{14}N_2O_2] \cong 0,01M \quad [C_6H_{13}N_2O_2^-] \cong 0M$$

E para pH = 10:

$$[C_6H_{16}N_2O_2^{2+}] \cong 0M \quad [C_6H_{15}N_2O_2^+] \cong 0,0064M \quad [C_6H_{14}N_2O_2] \cong 0,0722M \quad [C_6H_{13}N_2O_2^-] \cong 0,0213M$$

3) Considerando um aminoácido monoamino e monocarboxílico, como a alanina:



Para um pH qualquer:  $pH = pKa_1 + \log \frac{[C_3H_7NO_2]}{[C_3H_8NO_2^+]}$  e  $pH = pKa_2 + \log \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]}$ ; logo:

$$pKa_1 + \log \frac{[C_3H_7NO_2]}{[C_3H_8NO_2^+]} = pKa_2 + \log \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} \therefore pKa_1 - pKa_2 = \log \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} - \log \frac{[C_3H_7NO_2]}{[C_3H_8NO_2^+]} \therefore pKa_1 - pKa_2 = \log \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} + \log \frac{[C_3H_8NO_2^+]}{[C_3H_7NO_2]}$$

Sendo no ponto isoelétrico  $[C_3H_8NO_2^+] = [C_3H_6NO_2^-]$ , uma vez que a soma geral das cargas é igual a zero, temos então:

$$pKa_1 - pKa_2 = \log \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} + \log \frac{[C_3H_8NO_2^+]}{[C_3H_7NO_2]} \therefore pKa_1 - pKa_2 = \log \left( \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} \times \frac{[C_3H_8NO_2^+]}{[C_3H_7NO_2]} \right) \therefore pKa_1 - pKa_2 = \log \left( \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} \right)^2 \therefore pKa_1 - pKa_2 = 2 \times \log \left( \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} \right) \therefore \frac{pKa_1 - pKa_2}{2} = \log \left( \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} \right)$$

E retomando a equação  $pH = pKa_2 + \log \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]}$  em destaque acima, podemos concluir que:  $\log \frac{[C_3H_6NO_2^-]}{[C_3H_7NO_2]} = pH - pKa_2$ . Portanto:  $\frac{pKa_1 - pKa_2}{2} = pH - pKa_2 \therefore \frac{pKa_1 - pKa_2}{2} + pKa_2 = pH \therefore \frac{pKa_1 + pKa_2}{2} = pH_{isoelétrico} = pI$

4) Observa-se que aminoácidos hidrofóbicos apresentam maior  $R_F$ , provavelmente por conta de sua apolaridade que faz com que sejam facilmente empurrados pela solução da fase móvel, uma vez que interagem pouco com o papel (fase estacionária), composto principalmente por celulose (polar), percorrendo assim maiores distâncias. Ressaltando a exceção da glicina que apesar de apolar, possui a cadeia carbônica mais curta dentre os aminoácidos e consequentemente menor grau de apolaridade.

Os aminoácidos polares básicos ocupam as regiões mais baixas da cromatografia em questão, possivelmente em função de sua polaridade somada ao seu peso molecular que aumentam sua interação com o papel e dificultam seu arraste pelo solvente. Quanto aos aminoácidos polares com cargas negativas e polares sem cargas, estes se intercalam entre as posições intermediárias, pois apresentam pesos moleculares próximos, mas diferem entre si quanto ao que diz respeito à carga e, portanto, quanto ao nível de associação com a fase estacionária. Destaque apenas para a cisteína que exibe o menor  $R_F$  por ter um radical ionizável.

5) Como exemplo, podemos citar a cromatografia gasosa que é uma técnica baseada na análise química instrumental por separação de compostos químicos e uma amostra complexa. Tem aplicações em determinação de antioxidantes, nutrientes ou contaminantes de alimentos, análise forense, determinação de gases e solventes orgânicos na atmosfera, solos ou rios, etc. Outro exemplo é a cromatografia em camada delgada, que tem aplicações para processos que exigem rapidez nos resultados em que possuem uma grande gama de compostos a serem analisados e há poucos recursos financeiros disponíveis.

**Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC):**

Aplicações: Análise de compostos farmacêuticos, quantificação de vitaminas em alimentos, análise de proteínas e ácidos nucleicos em biologia molecular.

**Cromatografia em Fase Reversa (RP-HPLC):**

Aplicações: Separação de compostos polares, análise de lipídios em alimentos, análise de antibióticos em produtos farmacêuticos.

**Cromatografia de Troca Iônica:**

Aplicações: Purificação de proteínas, análise de íons em amostras de água, separação de aminoácidos.

**Cromatografia de Exclusão por Tamanho (gel filtração)**

Aplicações: Determinação do peso molecular de proteínas, , análise de agregados de proteínas.

**Cromatografia de Afinidade:**

Aplicações: Purificação de biomoléculas, como proteínas e anticorpos, isolamento de enzimas específicas.

**Cromatografia de Afinidade de Metal Imobilizado:**

Aplicações: Purificação de proteínas que se ligam a íons metálicos, como o níquel, na indústria biofarmacêutica.