**Termodynamika**

**Př. 2.1**

Pro úplnou oxidaci glukosy reakcí

C6H12O6(s) + 6O2(g) → 6H2O(l) + 6CO2(g)

bylo při teplotě 25°C a tlaku 1 atm změřeno spalné teplo 673 kcal∙mol-1. Vypočtěte změnu vnitřní energie systému doprovázející tuto reakci.

Řešení: C6H12O6(s) + 6O2(g) → 6H2O(l) + 6CO2(g) (biodegradace glukosy)

**dU = dQ +dW** (změna vnitřní energie byla způsobena tím, že si systém s okolím vyměnil teplo q a práci w)

Při zanedbání rozdílu objemů glukosy a vody nedochází k objemové práci, a tedy lze psát:
**dU = dQ → dU = -673 + 0 = -673 kcal ∙mol-1**

Zahrnujeme znaménkovou konvenci, podle které *w* a *q* mají kladné hodnoty, když je příslušná energie přenášena směrem do systému a mají záporné hodnoty, když systém příslušnou energii vydává.

**Př. 2.2**

Ureasa katalyzuje reakci

(NH2)2CO + H2O → CO2 + 2NH3

Vypočtěte objemovou práci spojenou s hydrolysou 1 molu močoviny při teplotě 25°C za konstantního tlaku. Předpokládejte, že produkty reakce jsou ideální plyny, které se zcela uvolní z roztoku.

Řešení: Vycházíme ze stavové rovnice ideálního plynu:

*pV = nRT*

Pro objemovou práci platí vztah: *dW = -pdV*

*-W = nRT (uvažujeme, že 1 mol výchozí látky se přeměnil na 3 moly produktu)*

*-W = 3∙8,314∙298* ***= 7,43 kJ∙mol-1***

**Př. 2.6**

Hodnoty *ΔH* oxidace glukosy a kyseliny stearové kyslíkem činí -2880 a -11381 kJ∙mol-1 při 37 °C. Relativní molekulové hmotnosti těchto sloučenin jsou 180 a 284.

1. Vypočítejte množství tepla, jež se uvolní oxidací 1 g uvedených substrátů. Pokuste se objasnit další faktory, které zvýhodňují ukládání zásobní energie organismů ve formě esterů mastných kyselin.
2. Při probuzení ze zimního spánku vzrůstá tělní teplota křečka o 30 °C. Průměrné měrné teplo jeho tkání činí 3,3 J∙K-1∙g-1. Vypočítejte, kolik tukové tkáně spotřebuje křeček o hmotnosti 100 g při probuzení ze zimního spánku; za hodnotu spalného tepla tuku můžete použít hodnotu vypočtenou pro kyselinu stearovou. Tuková tkáň křečka představuje asi 2% jeho tělesné hmotnosti. Je toto množství dostatečné pro uvažovaný účel?

Řešení:

1. 1 g glukosy = 5,55∙10-3 mol glukosy

Oxidací 1 g glukosy se uvolní: 5,55∙10-3 ∙ 2880∙103 = 15984 J∙g-1 = **16 kJ∙g-1**

1 g kyseliny stearové = = 3,52∙10-3  mol kyseliny stearové

Oxidací 1 g kyseliny stearové se uvolní: 3,52∙10-3 ∙11381∙103 = 40073,9 J∙g-1 = **40,007 kJ∙g-1**

Kromě nižšího energetického výtěžku je nevýhodou sacharidů i velké množství asociované vody, která nefunkčně zvyšuje hmotnost organismu.

1. 

 →*dQ* = 3,3∙100∙30 = 9900 J

= **0,25 g**

Zásoba 2 g tukové tkáně pokrývá energetickou potřebu křečka při dehibernaci

**Př. 2.7**

Člověk o hmotnosti 70 kg produkuje po nasycení v klidu přibližně 8 MJ tepla za den (basální metabolismus)

1. Odhadněte, o kolik stupňů by vzrostla za den tělní teplota člověka při zamezení výměny tepla s okolním prostředím. Průměrné měrné teplo lidského těla je asi 4 kJ∙K-1∙kg-1
2. Jedním z důležitých mechanismů odvodu tepla z těla do okolí je vypařování vody. Vypočtěte, kolik vody by muselo být odpařeno za den, kdyby teplota byla regulována pouze tímto mechanismem. Molární skupenské teplo vypařování vody je 44 kJ∙mol-1
3. Slunce má hmotnost 1,99∙1030 kg a za den vyzáří 3,37∙1031 J elektromagnetické energie. Srovnejte měrný tepelný výkon člověka a Slunce a pokuste se vysvětlit příčiny rozdílu obou hodnot.

Řešení:

1. *Q = m∙c∙Δt → Δt = =* **28,57 °C**
2. *→→= 181,2 mol*

 *m = nvyp ∙Mr =* 181,2 ∙18 *=* 3261,6 g = **3,26 kg**

1. Měrný tepelný výkon člověka: = = **1,14∙105 J∙den-1∙kg-1**

Měrný tepelný výkon Slunce: = = **16,9 J∙den-1∙kg-1**

**Př. 2.8**

Glukosa -6-fosfát byl pomocí glukosa-6-fosfátfosfatasy hydrolyzován při pH 7 a 25 °C za vzniku glukosy a anorganického fosfátu. Koncentrace G-6-P na počátku reakce byla 0,1 mol∙dm-3. V rovnováze zůstalo zachováno pouze 0,05% výchozí látky. Vypočtěte rovnovážnou konstantu a příslušnou standardní změnu Gibbsovy energie pro rozklad G-6-P a pro jeho syntézu z glukosy a anorganického fosfátu.

Řešení:

Glukosa-6-fosfát →glukosa + Pi

Khydrolysa = 

0,05 % výchozí látky……5∙10-5 mol∙dm-3 glukosy -6-P (v rovnováze)

99,95 % produktů………0,09995 mol dm-3 glukosy a 0,09995 mol dm-3 Pi (v rovnováze)

Khydrolysa = = 199,8 = 

 = -8,314∙298∙5,297 = -13,124 kJ∙mol-1 = -ΔG0syntéza

**Př. 2.18**

Při biosyntéze bílkovin je velmi důležité, aby se správná t-RNA vázala na aminoacyl-t-RNA-ligasu příslušnou dané aminokyselině. V případě izoleucin-t-RNA-ligasy z E coli je vazba t-RNAIle charakterizována hodnotami ΔH0´ = 0 kJ mol-1 a ΔS0´= 142 J mol-1∙K-1. vazbě t-RNAVal za stejných podmínek odpovídají hodnoty ΔH0´ = 33,4 kJ mol-1 a ΔS0´= 225,7 J mol-1∙K-1. Vypočtěte poměry obou příslušných vazebných konstant (tzv. preferenční faktor) pro správnou a nesprávnou t-RNA při 293 a 313 K za předpokladu, že hodnoty ΔH0´ a ΔS0´ jsou v tomto teplotním intervalu konstantní.

Řešení:

**t-RNAIle při 293 K**

ΔG0 = ΔH0 - T ΔS0 = 0-293∙142 = -41606 J mol-1

ΔG0 = -RT ln*K → -*41606 = -8,314∙293∙ln*K →* ln*K = *= 17,08 *→K =*e17,08 = **2,62∙107**

**t-RNAVal při 293 K**

ΔG0 = ΔH0 - T ΔS0 = 33,4∙103-293∙225,7 = -32730,1 J mol-1

ΔG0 = -RT ln*K → -*32730,1 = -8,314∙293∙ln*K →* ln*K = *= 13,436 *→K =*e13,436= **6,84∙105**

= **38,3**

**Analogicky se vypočítá t-RNAIle a t-RNAVal při 313 K a vyjde:**

**t-RNAIle při 313 K**

ΔG0 = -44446 J mol-1

*K* = **2,62∙107**

**t-RNAVal při 313 K**

ΔG0 = -37244,1 J mol-1

*K* = **1,64∙106**

= **15,86**

**Př. 2.24**

Reakce:

pyruvátkinasa

fosfoenolpyruvát + ADP pyruvát + ATP

je jedním z hlavních zdrojů ATP pro zralou červenou krvinku; neobsahuje totiž mitochondrii, a tudíž v ní neprobíhá citrátový cyklus ani aerobní fosforylace. Pro 37 °C byla určena ΔG0‘ =-32,6 kJ mol-1. In vivo jsou koncentrace ATP, ADP a fosfoenolyruvátu udržovány na hodnotách 1850, 138 a 23 µmol∙dm-3. Určete maximální koncentraci pyruvátu, při níž reakce probíhá zleva doprava.

Řešení:















**mol∙dm-3**

Fyziologická koncentrace pyruvátu v erythrocytech je 51 µmol∙dm-3, tedy více než o čtyři řády nižší.

**Př. 2.25**

V srdci krysy promývaném živným roztokem o teplotě 308 K byly nalezeny následující koncentrace metabolitů (mol∙dm-3): [fruktosa-6-fosfát] = 60∙10-6, [fruktosa-1,6-bisfosfát] = 9∙10-6, [ATP] = 5,3∙10-3, [ADP] = 1,1∙10-3 a [AMP] = 60∙10-6. Hodnota ΔG0‘ reakce katalyzovanéfosfofruktokinasou je rovna -17,7 kJ mol-1, tato hodnota pro reakci katalyzovanou adenylátkinasou (příklad 2.22) činí +2,1 kJ mol-1. Vypočítejte ΔG pro obě reakce *in vivo*. Posuďte možnost uplatnění obou enzymů při regulaci metabolismu.

Řešení:

Reakce:

Fruktosa-6-fosfát + ATP → fruktosa-1,6-bisfosfát + ADP





***ΔG1* =** **-26585,7 J mol-1 = -26,6 kJ mol-1**

Reakce:

2ADP → ATP+AMP





***ΔG2* =** **-153,5 J mol-1 = -0,153 kJ mol-1**

Za podmínek *in vivo* je fosfofruktokinasová reakce značně vzdálena od rovnováhy; díky tomu se mohla stát významným regulačním bodem glykolysy. Adenylátkinasová reakce je naproti tomu téměř v rovnováze a její uplatnění jako regulačního stupně není pravděpodobné.

**Př. 2.27**

Pro redoxní pár NAD+/NADH činí ΔE0‘ (pro pH 7) -0,32 V, pro oxalacetát/malát -0,175 V. Pro pH 6 jsou hodnoty ΔE0‘NAD+/NADH = -0,29 V a ΔE0’oxalacetát/malát = -0,116 V. Vypočítejte rovnovážnou konstantu pro oxidaci malátu pomocí NAD+ při pH 7 a pH 6.

Reakce:

malát2- + NAD+ → oxalacetát2- + NADH + H+

**Pro pH 7:**

ΔE0 = -0,32- (-0,175) = -0,145 V

ΔG0 = -z∙F∙ΔE0

ΔG0 = -2∙96485∙ (-0,145) = 27980,65 J mol-1

ΔG0 = -RTlnK

27980,65 = -8,314∙298∙ln *K*



***K* = 1,24∙10-5**

**Pro pH 6:**

ΔE0 = -0,29- (-0,175) = -0,174 V

ΔG0 = -z∙F∙ΔE0

ΔG0 = -2∙96485∙ (-0,174) = 33576,78 J mol-1

ΔG0 = -RTlnK

33576,78 = -8,314∙298∙ln *K*

**

***K* = 1,30∙10-6**

**Nekovalentní interakce**

**Př. 4.1**

Pokuste se předpovědět pořadí, ve kterém se budou vymývat z kolony Sephadexu G-200 následující bílkoviny: cytochrom-*c* (RMH = 96000), ATP-sulfurylasa (RMH = 440000), glukosaoxidasa (RMH = 154000) a xanthinoxidasa (RMH = 300000). Jaké faktory, kromě velikosti molekul, ovlivňují eluční objemy při gelové chromatografii na Sephadexu?

Řešení:

Uvažujeme-li gelovou chromatografii, separace zde probíhá na základě velikostí pórů gelu. Molekuly větší než póry gelu nemohou pronikat do pórů a procházejí přes kolonu stejnou rychlostí jako mobilní fáze.

**Separace**: 1) ATP-sulfurylasa (RMH = 440000)

 2) xanthinoxidasa (RMH = 300000)

 3) glukosaoxidasa (RMH = 154000)

 4) cytochrom-c (RMH = 96000)

Kromě velikosti molekul mají na separaci vliv další faktory, a to:

1. tvar molekul – nesférické molekuly mají zdánlivě větší objem a vytékají z kolony dříve
2. hydrofobita molekul – hydrofobní části na povrchu bílkoviny často intergaují s nosičem a zyvšují tak eluční objem
3. náboj molekul – Sephadex někdy obsahuje malé množství COO- skupin, které mohou zpomalovat pohyb bílkovin s vysokým kladným nábojem

**Př. 4.2**

Roztok obsahující kyselinu asparagovou (pI = 2,98), glycin (pI = 5,97). threonin (pI = 6,53), leucin (pI = 5,98) a lysin (pI = 9,74) v citrátovém pufru pH 3,0 byl nanesen na sloupec Dowex -50 (katex), který byl uveden do rovnováhy se stejným pufrem. Sloupec pak byl dále tímto pufrem promýván. V jakém pořadí tyto aminokyseliny ze sloupce vytekly?

Řešení:

1. **kyselina asparagová** (pI = 2,98)

Neutrální aminokyseliny se separují podle stoupající hydrofobity, tj v pořadí: threonin, glycin, leucin

**2. threonin** (pI = 6,53), jedná se o polární, hydrofilní amk (viz vzorec)



**threonin**

**3. glycin** (pI = 5,97), jedná se o nepolární, hydrofobní amk (viz vzorec)

**glycin**

**4. leucin** (pI = 5,98), jedná se o nepolární, hydrofobní amk (viz vzorec)



**leucin**

**5. lysin** (pI = 9,74)

**Př. 4.10**

Změna enthalpie spojená s denaturací (rozbalováním) molekuly ribonukleasy při pH 6 je +209 kJ mol-1. Změna entropie při tomto procesu je +554 J mol-1∙K-1.

1. Vypočtěte Gibbsovu energii tohoto procesu při teplotě 298 K
2. Při jaké teplotě lze očekávat, že denaturace proběhne spontánně? Zhodnoťte velikosti zadaných i vypočtených číselných hodnot.

Řešení:

1. ΔG = ΔH - T ΔS

ΔG = 209∙103-298∙554

**ΔG = 44 kJ mol-1**

a)Z uvedeného vyplývá, že ΔG > 0, tj. denaturace neproběhne spontánně. To při teplotě 25 °C ani není možné.

1. Aby mohla denaturace proběhnout spontánně, musí ΔG < 0

ΔH - T ΔS < 0

209∙103 -554T < 0

**T > 377 K (tj. ~ 100 °C)** → je zde příliš malá pravděpodobnost, aby konformace enzymu RNasy byla stabilní až do bodu varu vody. Ve skutečnosti se teplota přechodu této bílkoviny pohybuje, podobně jako u „běžných“ bílkovin, mezi 50 a 70 °C.

**Elektrochemie**

**Př. 6.8**

„Glycin je možno zakoupit jako glycinhydrochlorid, isoelektrický glycin (zvaný též glycin-volná base) nebo jako glycinát sodný (p*K*1 = 2,34; p*K*2 = 9,6).

1. Napište vzorce těchto tří forem
2. Vypočtěte pH jejich roztoků o koncentraci 0,1 mol∙dm-3
3. Představte si, že potřebujete gylcinhydrochlorid (Gly.HCl) a v laboratoři máte jen isoelektrický glycin. Popište stručně nejjednodušší postup, pomocí něhož byste si mohli pevný Gly.HCl připravit.

Řešení:

glycinhydrochlorid

1. Cl-NH3+-CH2-COOH

isoelektrický glycin

NH3+-CH2-COO-

glycinát sodný

NH2-CH2-COONa+

1. **Glycinhydrochlorid**

pH slabé kyseliny

 = = **1,67**

**Isoelektrický glycin**

pH = pI

= = **5,97**

**Glycinát sodný**



p*K*a+p*K*b = 14 → p*K*b = 14 – p*K*a → p*K*b = 14-9,6 = **4,4**

 → **pH = 11,3**

1. Připraví se nasycený roztok glycinu ve zředěné HCl za horka. Po ochlazení se odfiltruje matečný roztok a vzniklý pevný Gly.HCl se vysuší v exsikátoru nad pevným NaOH.

**Př. 6.9**

Vypočtěte isoelektrický bod dipeptidu histidyl-histidinu, jsou-li hodnoty disociačních konstant při 25 °C následující:

-COOH: pK1 = 2,25

Imidazolové skupiny: pK2 = 5,6 a pK3 = 6,8

-NH3+: pK4 = 7,8

Řešení:

Aminokyselina His (Arg, Lys) obsahuje dvě bazické skupiny a je nutno rozhodnout, které dvě skupiny disociují v okolí isoelektrického bodu a z nich vypočítat kýžený průměr.

Bazické aminokyseliny:

Uvažujme ty skupiny, které se titrují na obě strany od izoelektrického bodu:

= = **7,3**

**Př. 6.10**

Kyselina octová byla postupně ředěna tak, že první zkumavka obsahovala 0,32M kyselinu, druhá 0,16 M, třetí 0,08M atd.; objem každé zkumavky byl 5 ml. Do každé zkumavky byl přidán 1 ml roztoku kaseinu v 0,1 M octanu sodném. Nejvíce kaseinu se vysráželo ve čtvrté zkumavce. Jaký je přibližně isoelektrický bod kaseinu, uvažujeme-li pouze isoelektrickou precipitaci? pKa kyseliny octové je 4,75.

Řešení:

1. zkumavka: 0,32M kys. octová (5 ml)+1 ml kaseinu v 0,1M octanu sodném; V celk. = 6 ml
2. zkumavka: 0,16M kys. octová (5 ml)+1 ml kaseinu v 0,1M octanu sodném; V celk. = 6 ml
3. zkumavka: 0,08M kys. octová (5 ml)+1 ml kaseinu v 0,1M octanu sodném; V celk. = 6 ml
4. zkumavka: 0,04M kys. octová (5 ml)+1 ml kaseinu v 0,1M octanu sodném; V celk. = 6 ml. Ve 4. zkumavce se vysráželo nejvíce kaseinu.

Jaký je pI kaseinu v izoelektrické precipitaci?

Izoelektrická precipitace: každý protein má jiné pI a vysráží se ze směsi proteinů v roztoku, který má pH = pI.

Složení 4. zkumavky: 0,04M kys. octová (5 ml)

 1 ml kaseinu v 0,1M octanu sodném

 V celk. = 6 ml

Koncentrace 0,04M CH3COOH (5 ml) v 6 ml: 0,033 M CH3COOH

Koncentrace 0,1M CH3COONa (1 ml) v 6 ml: 0,0166M CH3COOH

 =  = **4,45**

**pH = pI = 4,45**

**Př. 6.11**

Popište přípravu 1 litru 0,2M acetátového pufru o pH 5,0, vycházíme-li z pevného trihydrátu octanu sodného (RMH = 136) a 1 M kyseliny octové (pKa = 4,75).

→  →  → 

→ → 1,77 ca = cs

cs + ca = 0,2 mol/l → 1,77 ca+ca = 0,2 → 2,77ca = 0,2 → **ca = 0,072 mol/l CH3COOH**

cs = 1,77 ca  → cs = 1,77∙0,072 = **0,127 mol/l**

c1∙V1 = c2∙V2

1∙V1 = 0,072∙1

V1 = 0,072 l = **72 ml CH3COOH**

m = c∙V∙Mr

m = 0,127∙1∙136

m = **17,3 g CH3COONa**

Pro přípravu 1 l 0,2M acetátového pufru je potřeba 72 ml CH3COOH a 17,3 g CH3COONa, které se doplní vodou na objem 1 litr.

**Př. 6.13**

Vypočítejte iontovou sílu pufru složeného z lysinu (c= 0,03 mol∙dm-3, pK1 = 2,18) a HCl o pH 2,18.

Lysin vytváří 4 disociované formy

HCl o pH 2,18

pH = -log [H+]

2,18 = -log [H+]

[H+] = 10-2,18

[H+] = 6,6∙10-3M

→ 

***I* = 0,067 M**