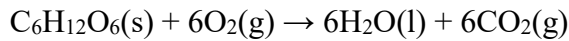


Termodynamika

Př. 2.1

Pro úplnou oxidaci glukosy reakcí



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

Řešení: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6(\text{s}) + 6\text{O}_2(\text{g}) \rightarrow 6\text{H}_2\text{O}(\text{l}) + 6\text{CO}_2(\text{g})$ (biodegradace glukosy)

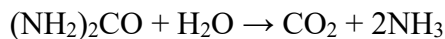
$dU = dQ + dW$ (změna vnitřní energie byla způsobena tím, že si systém s okolím vyměnil teplo q a práci w)

Při zanedbání rozdílu objemů glukosy a vody nedochází k objemové práci, a tedy lze psát:
 $dU = dQ \rightarrow dU = -673 + 0 = -673 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$

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



Vypočtete 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: $dW = -pdV$

$$-W = nRT \quad (\text{uvažujeme, že 1 mol výchozí látky se přeměnil na 3 moly produktu})$$

$$-W = 3 \cdot 8,314 \cdot 298 = 7,43 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

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.

- 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.
- 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:

$$\text{a) } 1 \text{ g glukosy} = \frac{1}{180} = 5,55 \cdot 10^{-3} \text{ mol glukosy}$$

$$\text{Oxidací 1 g glukosy se uvolní: } 5,55 \cdot 10^{-3} \cdot 2880 \cdot 10^3 = 15984 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1} = \mathbf{16 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}}$$

$$1 \text{ g kyseliny stearové} = \frac{1}{284} = 3,52 \cdot 10^{-3} \text{ mol kyseliny stearové}$$

$$\text{Oxidací 1 g kyseliny stearové se uvolní: } 3,52 \cdot 10^{-3} \cdot 11381 \cdot 10^3 = 40073,9 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1} = \mathbf{40,007 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}}$$

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

$$\text{b) } m = \frac{dQ}{dH}$$

$$dQ = c \cdot m \cdot dt \rightarrow dQ = 3,3 \cdot 100 \cdot 30 = 9900 \text{ J}$$

$$m = \frac{9900}{40074} = \mathbf{0,25 \text{ g}}$$

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)

- 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 $4 \text{ kJ} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$
- Jedním z důležitých mechanismů odvodu tepla z těla do okolí je vypařování vody. Vypočítejte, kolik vody by muselo být odpařeno za den, kdyby teplota byla regulována pouze tímto mechanismem. Molární skupenské teplo vypařování vody je $44 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$
- Slunce má hmotnost $1,99 \cdot 10^{30} \text{ kg}$ a za den vyzáří $3,37 \cdot 10^{31} \text{ J}$ elektromagnetické energie. Srovnajte měrný tepelný výkon člověka a Slunce a pokuste se vysvětlit příčiny rozdílu obou hodnot.

Řešení:

$$\text{a) } Q = m \cdot c \cdot \Delta t \rightarrow \Delta t = \frac{8 \cdot 10^3}{70 \cdot 4} = \mathbf{28,57 \text{ }^\circ\text{C}}$$

$$\text{b) } \Delta H_{\text{vyp}} = \frac{\Delta H}{n_{\text{vyp}}} \rightarrow n_{\text{vyp}} = \frac{\Delta H}{\Delta H_{\text{vyp}}} \rightarrow n_{\text{vyp}} = \frac{8000}{44} = 181,2 \text{ mol}$$

$$m = n_{\text{vyp}} \cdot Mr = 181,2 \cdot 18 = 3261,6 \text{ g} = \mathbf{3,26 \text{ kg}}$$

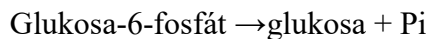
c) Měrný tepelný výkon člověka: $\frac{Q}{m} = \frac{8 \cdot 10^6}{70} = 1,14 \cdot 10^5 \text{ J} \cdot \text{den}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$

Měrný tepelný výkon Slunce: $\frac{Q}{m} = \frac{3,37 \cdot 10^{31}}{1,99 \cdot 10^{30}} = 16,9 \text{ J} \cdot \text{den}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$

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:



$$K_{\text{hydrolysa}} = \frac{[\text{glukosa}][\text{Pi}]}{[\text{glukosa} - 6 - P]}$$

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)

$$K_{\text{hydrolysa}} = \frac{[0,09995]^2}{[5 \cdot 10^{-5}]} = 199,8 = \frac{1}{K_{\text{syntéza}}}$$

$$\Delta G^0_{\text{hydrolysa}} = -RT \ln K_{\text{hydrolysa}} = -8,314 \cdot 298 \cdot 5,297 = -13,124 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} = -\Delta G^0_{\text{syntéza}}$$

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-RNA^{Ile} charakterizována hodnotami $\Delta H^0 = 0 \text{ kJ mol}^{-1}$ a $\Delta S^0 = 142 \text{ J mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$. vazbě t-RNA^{Val} za stejných podmínek odpovídají hodnoty $\Delta H^0 = 33,4 \text{ kJ mol}^{-1}$ a $\Delta S^0 = 225,7 \text{ J mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$. Vypočtěte poměry obou příslušných vazebních konstant (tzv. preferenční faktor) pro správnou a nesprávnou t-RNA při 293 a 313 K za předpokladu, že hodnoty ΔH^0 a ΔS^0 jsou v tomto teplotním intervalu konstantní.

Řešení:

t-RNA^{Ile} při 293 K

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0 = 0 - 293 \cdot 142 = -41606 \text{ J mol}^{-1}$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln K \rightarrow -41606 = -8,314 \cdot 293 \cdot \ln K \rightarrow \ln K = \frac{-41606}{-8,314 \cdot 293} = 17,08 \rightarrow K = e^{17,08} =$$

$$2,62 \cdot 10^7$$

t-RNA^{Val} při 293 K

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0 = 33,4 \cdot 10^3 - 293 \cdot 225,7 = -32730,1 \text{ J mol}^{-1}$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln K \rightarrow -32730,1 = -8,314 \cdot 293 \cdot \ln K \rightarrow \ln K = \frac{-32730,1}{-8,314 \cdot 293} = 13,436 \rightarrow K = e^{13,436} =$$

$$6,84 \cdot 10^5$$

$$\frac{K^{Ile}}{K^{Val}} = 38,3$$

Analogicky se vypočítá t-RNA^{Ile} a t-RNA^{Val} při 313 K a vyjde:

t-RNA^{Ile} při 313 K

$$\Delta G^0 = -44446 \text{ J mol}^{-1}$$

$$K = 2,62 \cdot 10^7$$

t-RNA^{Val} při 313 K

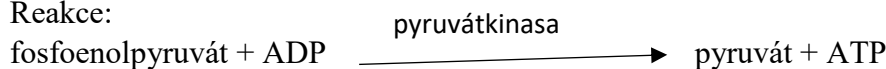
$$\Delta G^0 = -37244,1 \text{ J mol}^{-1}$$

$$K = 1,64 \cdot 10^6$$

$$\frac{K^{Ile}}{K^{Val}} = 15,86$$

Př. 2.24

Reakce:



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 $\Delta G^0 = -32,6 \text{ kJ mol}^{-1}$. In vivo jsou koncentrace ATP, ADP a fosfoenolpyruvátu udržovány na hodnotách 1850, 138 a 23 $\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Určete maximální koncentraci pyruvátu, při níž reakce probíhá zleva doprava.

Řešení:

$$\Delta G^0 + RT \ln \frac{[\text{pyruvát}][\text{ATP}]}{[\text{fosfoenolpyruvát}][\text{ADP}]} < 0$$

$$\Delta G^0 + RT \ln \frac{[\text{pyruvát}][1850 \cdot 10^{-6}]}{[23 \cdot 10^{-6}][138 \cdot 10^{-6}]} < 0$$

$$-32,6 \cdot 10^3 + 8,314 \cdot 310 \cdot \ln \frac{[\text{pyruvát}][1850 \cdot 10^{-6}]}{3,174 \cdot 10^{-9}} < 0$$

$$\ln \frac{[\text{pyruvát}] \cdot 1850 \cdot 10^{-6}}{3,174 \cdot 10^{-9}} < \frac{32,6 \cdot 10^3}{8,314 \cdot 310}$$

$$\ln[\text{pyruvát}] + \ln \frac{1850 \cdot 10^{-6}}{3,174 \cdot 10^{-9}} < \frac{32,6 \cdot 10^3}{8,314 \cdot 310}$$

$$\ln[\text{pyruvát}] < \frac{32,6 \cdot 10^3}{8,314 \cdot 310} - \ln \frac{1850 \cdot 10^{-6}}{3,174 \cdot 10^{-9}}$$

$$[\text{pyruvát}] = e^{\left[\left(\frac{32,6 \cdot 10^3}{8,314 \cdot 310} \right) - \left(\ln \frac{1850 \cdot 10^{-6}}{3,174 \cdot 10^{-9}} \right) \right]}$$

$$[\text{pyruvát}] = 0,534 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$$

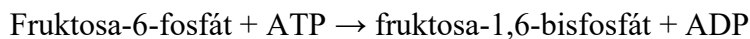
Fyziologická koncentrace pyruvátu v erythrocytech je $51 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, tedy více než o čtyři řády nižší.

Př. 2.25

V srdci krysy promývaném živným roztokem o teplotě 308 K byly nalezeny následující koncentrace metabolitů ($\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$): [fruktosa-6-fosfát] = $60 \cdot 10^{-6}$, [fruktosa-1,6-bisfosfát] = $9 \cdot 10^{-6}$, [ATP] = $5,3 \cdot 10^{-3}$, [ADP] = $1,1 \cdot 10^{-3}$ a [AMP] = $60 \cdot 10^{-6}$. Hodnota ΔG^0 reakce katalyzované fosfofruktokinasou je rovna $-17,7 \text{ kJ mol}^{-1}$, tato hodnota pro reakci katalyzovanou adenylátkinasou (příklad 2.22) činí $+2,1 \text{ kJ mol}^{-1}$. Vypočítejte ΔG pro obě reakce *in vivo*. Posuďte možnost uplatnění obou enzymů při regulaci metabolismu.

Řešení:

Reakce:



$$\Delta G_1 = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[\text{fruktosa-1,6-bisfosfát}][\text{ADP}]}{[\text{fruktosa-6-fosfát}][\text{ATP}]}$$

$$\Delta G_1 = -17,7 \cdot 10^3 + 8,314 \cdot 308 \cdot \ln \frac{[9 \cdot 10^{-6}][1,1 \cdot 10^{-3}]}{[60 \cdot 10^{-6}][5,3 \cdot 10^{-3}]}$$

$$\Delta G_1 = -26585,7 \text{ J mol}^{-1} = -26,6 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Reakce:



$$\Delta G_2 = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[\text{ATP}][\text{AMP}]}{[\text{ADP}][\text{ADP}]}$$

$$\Delta G_2 = 2,1 \cdot 10^3 + 8,314 \cdot 308 \cdot \ln \frac{[5,3 \cdot 10^{-3}][95 \cdot 10^{-6}]}{[1,1 \cdot 10^{-3}]^2}$$

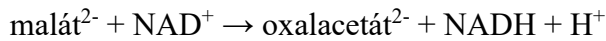
$$\Delta G_2 = -153,5 \text{ J mol}^{-1} = -0,153 \text{ kJ mol}^{-1}$$

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 ΔE^0 (pro pH 7) $-0,32$ V, pro oxalacetát/malát $-0,175$ V. Pro pH 6 jsou hodnoty $\Delta E^0_{\text{NAD}^+/\text{NADH}} = -0,29$ V a $\Delta E^0_{\text{oxalacetát/malát}} = -0,116$ V. Vypočítejte rovnovážnou konstantu pro oxidaci malátu pomocí NAD^+ při pH 7 a pH 6.

Reakce:

**Pro pH 7:**

$$\Delta E^0 = -0,32 - (-0,175) = -0,145 \text{ V}$$

$$\Delta G^0 = -z \cdot F \cdot \Delta E^0$$

$$\Delta G^0 = -2 \cdot 96485 \cdot (-0,145) = 27980,65 \text{ J mol}^{-1}$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln K$$

$$27980,65 = -8,314 \cdot 298 \cdot \ln K$$

$$\ln K = \frac{27980,65}{-8,314 \cdot 298}$$

$$K = 1,24 \cdot 10^{-5}$$

Pro pH 6:

$$\Delta E^0 = -0,29 - (-0,175) = -0,114 \text{ V}$$

$$\Delta G^0 = -z \cdot F \cdot \Delta E^0$$

$$\Delta G^0 = -2 \cdot 96485 \cdot (-0,114) = 33576,78 \text{ J mol}^{-1}$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln K$$

$$33576,78 = -8,314 \cdot 298 \cdot \ln K$$

$$\ln K = \frac{33576,78}{-8,314 \cdot 298}$$

$$K = 1,30 \cdot 10^{-6}$$

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:

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

Př. 4.2

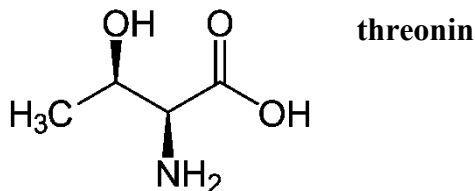
Roztok obsahující kyselinu asparagovou (pI = 2,98), glycin (pI = 5,97), threonin (pI = 6,53), leucin (pI = 5,98) a lysin (pI = 9,74) v citrátovém pufru pH 3,0 byl nanesen na sloupec Dowex -50 (katex), který byl uveden do rovnováhy se stejným puforem. Sloupec pak byl dále tímto puforem promýván. V jakém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

Řešení:

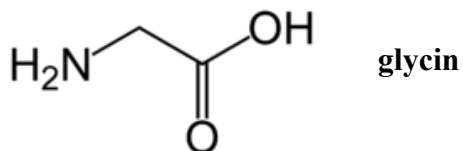
- kyselina asparagová** (pI = 2,98)

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

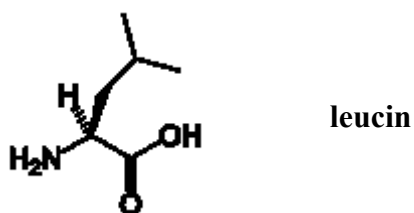
- threonin** (pI = 6,53), jedná se o polární, hydrofilní amk (viz vzorec)



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



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



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.

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

Řešení:

a) $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$
 $\Delta G = 209 \cdot 10^3 - 298 \cdot 554$
 $\Delta G = 44 \text{ kJ mol}^{-1}$

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

b) Aby mohla denaturace proběhnout spontánně, musí $\Delta G < 0$

$$\Delta H - T \Delta S < 0$$
$$209 \cdot 10^3 - 554T < 0$$

$T > 377 \text{ K}$ (tj. $\sim 100 \text{ °C}$) → 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 ($pK_1 = 2,34$; $pK_2 = 9,6$).

- Napište vzorce těchto tří forem
- Vypočtete pH jejich roztoků o koncentraci $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$
- Představte si, že potřebujete glycinhydrochlorid (Gly.HCl) a v laboratoři máte jen isoelektrický glycin. Popište stručně nejjednodušší postup, pomocí něhož byste si mohli pevný Gly.HCl připravit.

Řešení:

- $\text{Cl}^-\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{COOH}$ glycinhydrochlorid

 $\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ isoelektrický glycin

 $\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{COONa}^+$ glycinát sodný

b) Glycinhydrochlorid

pH slabé kyseliny

$$pH = \frac{pK_{a1} - \log c}{2} = \frac{2,34 - \log 0,1}{2} = \mathbf{1,67}$$

Isoelektrický glycin

$pH = pI$

$$pH = pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2} = \frac{2,34 + 9,6}{2} = \mathbf{5,97}$$

Glycinát sodný

$$pH = 14 - \frac{pK_b - \log c}{2}$$

$$pK_a + pK_b = 14 \rightarrow pK_b = 14 - pK_a \rightarrow pK_b = 14 - 9,6 = \mathbf{4,4}$$

$$pH = 14 - \frac{4,4 - \log 0,1}{2} \rightarrow \mathbf{pH = 11,3}$$

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

Př. 6.9

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

-COOH: $pK_1 = 2,25$

Imidazolové skupiny: $pK_2 = 5,6$ a $pK_3 = 6,8$

$-NH_3^+$: $pK_4 = 7,8$

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: $pI = \frac{pKa_2 + pKa_3}{2}$

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

$$pI = \frac{pKa_4 + pKa_3}{2} = \frac{7,8 + 6,8}{2} = 7,3$$

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? pK_a 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 CH_3COOH (5 ml) v 6 ml: 0,033 M CH_3COOH

Koncentrace 0,1M CH_3COONa (1 ml) v 6 ml: 0,0166M CH_3COOH

$$pH = pKa_1 + \log \frac{c_s}{c_a} = 4,75 + \log \frac{0,0166}{0,033} = 4,45$$

$$\text{pH} = \text{pI} = 4,45$$

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 (pK_a = 4,75).

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{c_s}{c_a} \rightarrow 5,0 = 4,75 + \log \frac{c_s}{c_a} \rightarrow 5,0 - 4,75 = \log \frac{c_s}{c_a} \rightarrow 0,25 = \log \frac{c_s}{c_a}$$

$$\frac{c_s}{c_a} = 10^{0,25} \rightarrow \frac{c_s}{c_a} = 1,77 \rightarrow 1,77 c_a = c_s$$

$$c_s + c_a = 0,2 \text{ mol/l} \rightarrow 1,77 c_a + c_a = 0,2 \rightarrow 2,77 c_a = 0,2 \rightarrow c_a = \mathbf{0,072 \text{ mol/l CH}_3\text{COOH}}$$

$$c_s = 1,77 c_a \rightarrow c_s = 1,77 \cdot 0,072 = \mathbf{0,127 \text{ mol/l}}$$

$$c_1 \cdot V_1 = c_2 \cdot V_2$$

$$1 \cdot V_1 = 0,072 \cdot 1$$

$$V_1 = 0,072 \text{ l} = \mathbf{72 \text{ ml CH}_3\text{COOH}}$$

$$m = c \cdot V \cdot M_r$$

$$m = 0,127 \cdot 1 \cdot 136$$

$$m = \mathbf{17,3 \text{ g CH}_3\text{COONa}}$$

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

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

$$2,18 = -\log [\text{H}^+]$$

$$[\text{H}^+] = 10^{-2,18}$$

$$[\text{H}^+] = 6,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2 \rightarrow I = \frac{1}{2} \sum (0,03 \cdot 1^2 + 0,03 \cdot 1^2 + 0,03 \cdot 1^2 + 0,03 \cdot 1^2 + 6,6 \cdot 10^{-3} + 6,6 \cdot 10^{-3})$$

$$I = \mathbf{0,067 \text{ M}}$$