

Kemi for tiden

Mærk varmen

Opgaver og arbejdsark

af

Christa Trandum¹, Peter Westh² og Keld Nielsen³

¹Kemisk Institut, Syddansk Universitet, Campusvej 55, 5230 Odense M

²Institut for Biologi og Kemi, Roskilde Universitetscenter, Box 260, 4000 Roskilde

³VUC Roskilde, Læderstræde 4, 4000 Roskilde



Kemi Forlaget

Forord

De følgende opgaver knytter sig emnemæssigt til en tilhørende artikel: **Mærk varmen**, skrevet af Christa Trandum, christa@memphys.sdu.dk, Kemisk Institut, Syddansk Universitet, Campusvej 55, 5230 Odense M, og Peter Westh, pwesth@ruc.dk, Institut for Biologi og Kemi, Roskilde Universitetscenter, Box 260, 4000 Roskilde.

Artiklen er sammen med denne publikation udsendt til alle landets gymnasier, htx-skoler og hf-kurser og er desuden trykt på midtersiderne i **dansk kemi, 83, nr. 10, 2002**.

Opgaverne behandler teori, der knytter sig til artiklen, men omfatter desuden forskellige termodynamiske forhold omkring aminosyrer, peptider og proteiner.

Opgaverne kan således fint anvendes i forbindelse med andet undervisningsmateriale om aminosyrer, peptider, proteiner og bioorganisk kemi.

Denne artikel er i lighed med tidligere artikler i serien tilgængelig på Kemilærerforeningens hjemmeside: <http://www.ke.gymfag.dk>.

Faktabox om Kemi for tiden

I de sidste 5 år har Kemilærerforeningen (via Kemi Forlaget) i samarbejde med Kemisk Forening og Kemiingeniørgruppen udgivet en række temanumre om **Kemi for tiden**. Disse artikler omhandler aktuelle kemiske emner inden for forskningsverdenen. De første numre kom til verden som pilotprojekter med stor velvilje og økonomisk støtte fra de involverede virksomheder, Kemisk Forening og Kemilærerforeningen. De seneste numre er udgivet som følge af en særbevilling fra **Forskningsministeriet**, denne bevilling er givet for at formidle naturvidenskabelig forskning og viden til gymnasie-, hf- og htx-elever med kemi på højt niveau eller mellemniveau.

Kemi Forlaget
Slotsgade 2³
2000 København K
Telefon: 35 39 00 64
Fax: 35 39 48 14
E-mail: LMFK@skolekom.dk

Kemi for tiden er redigeret af Preben Albertsen

Opgave 1: Om energi, effekt og kalorimetri

Kalorimetri er en uspecifik metode, der kan anvendes til at belyse enhver proces, der optager eller udvikler varme. Metoden kan derfor tilpasses en række projekter indenfor industri og forskning, og der produceres i dag et stort antal kalorimetriske instrumenter af forskellig type. De har dog alle det til fælles, at det grundlæggende princip er et termometer, der kan benyttes til meget præcise temperaturmålinger. I gymnasiets laboratorier måles typisk temperaturændringer på omkring $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Moderne kalorimetre kan detektere en varmetoning svarende til $0,1\text{ }\mu\text{J}$.

- a) Bestem hvor stor en temperaturstigning der vil forekomme i en kalorimetercelle med 1 mL vand, hvis der tilføres $0,1\text{ }\mu\text{J}$.

Kalorimetri benyttes i industrien til mange forskelligartede undersøgelser. F.eks. har et mejeri målt, at en prøve fra en skæreost med massen 1,2 g afgav et varme-flow (effekt) på $6,1\text{ }\mu\text{W}$ under modningen af osten.



- b) Diskuter baggrunden for at ”ostemodningen er exoterm”.

Mejeriet skal nu dimensionere en kølehal til modning af ostene. Hallen skal indeholde 500 tons ost. Køleanlægget skal bygges således, at det kan fjerne varmen, som udvikles ved modningen af osten. Kølesystemet er elektrisk og har en virkningsgrad på 0,33 (dvs. det bruger 3 J i elektrisk arbejde for hver gang, det pumper 1 J ud af hallen).

- c) Hvor meget energi i sekundet skal køleanlægget være i stand til at fjerne for at holde temperaturen konstant i hallen.
- d) Beregn omkostningerne til elektricitet pr. måned ved at drive anlægget.

Et andet eksempel på anvendelse af kalorimetri til undersøgelse af biologiske processer er såkaldt ”whole-body calorimetry”, der bl.a. bruges af idrætsfysiologer. Udstyret består af et kalorimeter-kammer, der er et lille rum, hvor en forsøgsperson opholder sig. Personens varmeudvikling kan detekteres via sensorer på kammerets yderside. Ved brug af sådant udstyr viser det sig, at et hvilende menneske udvikler ca. 75 W – eller ca. det samme som en kraftig el-pære. Denne varme kommer i overvejende grad fra nedbrydning af sukkerarten glukose, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.

- e) Opskriv et afstemt reaktionsskema for forbrænding af glukose.
- f) Bestem ved tabelopslag reaktionens molar standardreaktionsentalpi, ΔH_m° .
- g) Beregn hvor meget glukose pr. time, der nedbrydes af en hvilende person.

Ved fysisk aktivitet stiger personens varmeudvikling. F.eks. viser det sig, at den bliver 230 W, når hun kører på en ergometercykel opstillet i kammeret.

- h) Hvor meget taber forsøgspersonen sig ved en times cykling.

Opgave 2: Simpel kalorimetri

Et kalorimeters indre messingskål vejer 77,0 g. Det fyldes med ca. 50 mL vand med en temperatur på 26,6 °C (kalorimetrets indre skål er ca. fyldt ¼ op). Den indre skål med vand vejer tilsammen 126,0 g. Der afvejes 9,57 g ammoniumnitrat, som tilsættes vandet. Under opløsningen af saltet måles temperaturen. Den laveste temperatur man måler, er 16,3 °C.



- a) Opskriv reaktionsskemaet for opløsning af ammoniumnitrat i vand og beregn ud fra tabelværdier den molare standardreaktionsentalpi, ΔH_m^θ . Er reaktionen endo- eller exoterm?
- b) Opskriv kalorimeterligningen for systemets energiudvekslinger.
- c) Beregn den molare standardreaktionsentalpi, ΔH_m^θ , ud fra de eksperimentelle værdier, idet det antages, at kun vandet opvarmes. Overvej hvilke antagelser man foretager undervejs i beregningerne, samt hvilken betydning de vil have for bestemmelsen af den molare standardreaktionsentalpi, ΔH_m^θ .
- d) Beregn den molare standardreaktionsentalpi, ΔH_m^θ , ud fra de eksperimentelle værdier, idet det antages, at det ikke kun er vandet, der opvarmes, men også messingskålen.

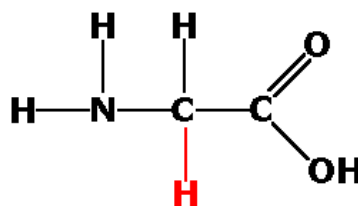
Man kan erstatte kalorimeterets messingskål med en skål af ”skumplast”. I et konkret forsøg vejer plastbægeret 1,79 g. Det fyldes med ca. 50 mL vand (samlet masse er 52,9 g). Vandets temperatur måles til 26,5 °C. Der afvejes 10,5 g ammoniumnitrat. Forsøget gentages som ovenfor. Den laveste temperatur, man måler, er 14,0 °C.

- a) Gennemfør beregninger svarende til forsøget hvor en messingskål benyttes som kalorimeter, og besvar spørgsmålet: Hvorfor er det en fordel at benytte skumplastbæger i dette forsøg?
- b) Ved Isoterm Titrer Calorimetri (ITC) kan det være en fordel at benytte f.eks. en messingskål frem for en skål af ”skumplast”. Hvorfor?

Opgave 3: Peptiddannelse

Aminosyrer kan ved en kondensationsreaktion danne peptider.

- a) På figuren til højre ses aminosyren glycine.
Hvad er glycins systematiske navn?
Tegn peptiderne hvor henholdsvis to, tre og fire glycine molekyler er sat sammen ved peptidbindinger.



- b) Opskriv reaktionsskemaer for dannelsen af de tre peptider som omtales i a).
For hvert reaktionsskema beregnes den tilhørende molare standardreaktionsentalpi, ΔH_m° , og tilvæksten i standard Gibbs energien, ΔG_m° .
- c) Forløber reaktionerne spontant eller ikke-spontant ved standard betingelser?
- d) Hvor mange forskellige proteiner kan der dannes, hvis proteinet er dannet ud fra 120 glycine molekyler? Hvis man i stedet har 3 forskellige typer aminosyrer til rådighed – hvor mange forskellige proteiner bestående af 120 aminosyrer kan man så få dannet? Og hvad hvis man har 20 forskellige aminosyrer?

Data kan findes i Databog fysik kemi (F&K Forlaget), dog suppleret med følgende værdier:

	H_m° (kJ/mol)	G_m° (kJ/mol)
di-glycylglycine	-962,7	-607,1
tri-glycylglycine	-1187	-733,5

Tabel 1: Data fra CRC Handbook of Biochemistry, The Chemical Rubber Co., 1968, s. B-8

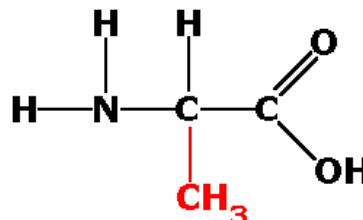
Opgave 4: L-alanine's opløselighed

Aminosyren L-alanine's opløselighed i vand afhænger af temperaturen, se tabel 2.

Temp. (°C)	1	12.5	25	40
Opløselighed i g/kg vand	125,7	143,7	167,2	193,1

Tabel 2: Data fra CRC Handbook of Biochemistry, The Chemical Rubber Co., 1968, s. B-10

- a) På figuren til højre ses aminosyren alanin.
Hvad er alanins systematiske navn?
Hvor i alaninmolekylet findes et asymmetrisk C-atom?



- b) Vis at L-alanins opløselighed i vand er (næsten) lineært afhængig af temperaturen.

- c) Er opløselighedsprocessen en endo- eller exoterm proces? (argumenter kvalitativt)
- d) Opskriv reaktionsskemaet henholdsvis ligevægtsudtrykket for opløselighedsligevægten.
- e) Beregn standardreaktionsentalpien, ΔH° , og -entropien ΔS° . Hvilke antagelser er man nødt til at foretage?
Sammenlign eventuelt med værdier fra Databog fysik kemi (F&K Forlaget).
(Hjælp: Benyt van't Hoff ligningen)
- f) Besvar atter spørgsmål c), men denne gang ved brug af de beregnede størrelser.
- g) Er opløselighedsprocessen af L-alanin en spontan eller ikke-spontan proces ved 20 °C?
- h) Hvor meget sænkes frysepunktet i en mættet vandig opløsning af L-alanin?
- i) Er opløselighedsprocessen af L-alanin ved standard betingelser spontan eller ikke-spontan i hele temperaturintervallet fra lige over frysepunktet til ca. 40 °C?

Opgave 5: Udfoldning af et protein

Proteinet Ribonuclease findes i to former, en foldet hhv. udfoldet (denatureret) form. Temperaturen har betydning for ligevægtsfordelingen mellem disse to former. I et (simpelt) forsøg er koncentrationen af de to former bestemt ved to temperaturer:

t (°C)	Udfoldet form (mM)	Foldet form (mM)
50	0,0051	2,0
100	0,28	1,7

Tabel 3: Data fra D. Voet & J.G. Voet: Biochemistry (2.nd. edi., John Wiley & Sons Inc., 1995, s. 95.)

- a) Beregn ligevægtskonstanten for udfoldning af proteinet ved de to temperaturer. Er der tale om en endo- eller exoterm proces (argumenter kvalitativt).
- b) Bestem standardreaktionsentalpien, ΔH° , og –entropien, ΔS° , for udfoldningen. Svarer resultatet til besvarelsen af spørgsmål a)?
- c) Antag at standardreaktionsentalpien, ΔH° , og –entropien, ΔS° , er uafhængige af temperaturen. Diskuter om foldningen er en spontan eller ikke-spontan proces ved standard betingelser?

Opgave 6: Faseovergang

Faseovergange er et centralt emne for termodynamiske undersøgelser, ikke kun i fysiske og kemiske sammenhænge, men også inden for biokemi og biologi. F.eks. kan en protein-udfoldning betragtes som en faseovergang.

I fysiske og kemiske sammenhænge tænkes oftest på faseovergange som stofs overgang mellem to forskellige tilstandsformer, f.eks. fra væske til gas.

- a) Forklar (kvalitativt) hvorfor en hånd føles kold, når man spilder husholdningssprit på den, hvorfor man kommer isterninger i en drik og hvorfor en termokande både kan benyttes til at holde kolde drikke kolde og varme drikke varme.

Ved faseovergange er den termodynamiske størrelse entalpi et centralt begreb. Normalt antages entalpiændringen at være uafhængig af temperaturændringer. Derfor kan beregninger af entalpien ved 25 °C benyttes til udsagn om faseovergange ved andre temperaturer.

- b) Opskriv reaktionsskemaet for faseovergangen fra vand som væske til vanddamp. Bestem den molare standardreaktionsentalpi, ΔH_m^0 , under forudsætning om temperaturuafhængighed.

Faktisk afhænger entalpiændringen af temperaturen. Den simpleste model, hvorved man kan tage højde for dette, er ved at inddrage begrebet specifik varmekapacitet, c_p . Hvis man antager, at de to fasers specifikke varmekapaciteter er uafhængige af temperaturen, kan entalpiændringen ved temperaturen T_2 beregnes ved brug af formlen:

$$\Delta H(T_2) = \Delta H(T_1) + \Delta T \cdot \Delta c_p \quad (1)$$

- c) Bestem den molare standardreaktionsentalpi, ΔH_m^0 , for vands faseovergang fra væske til vanddamp ved vands (normale) kogepunkt under antagelsen om, at entalpiændringen afhænger af temperaturen som beskrevet i (1), ($\Delta c_p = c_p(\text{H}_2\text{O}(g)) - c_p(\text{H}_2\text{O}(l))$). Hvor stor er fejlen, når man antager, at standardreaktionsentalpi er uafhængig af temperaturen?

Det er ikke kun entalpiændringen, men også stoffernes specifikke varmekapacitet, der er afhængig af temperaturen. Hvis begge disse forhold skal inddrages i beregningerne, kan man benytte Kirchhoff's lov:

$$\Delta H(T_2) = \Delta H(T_1) + \int_{T_1}^{T_2} \Delta c_p(T) dT \quad (2)$$

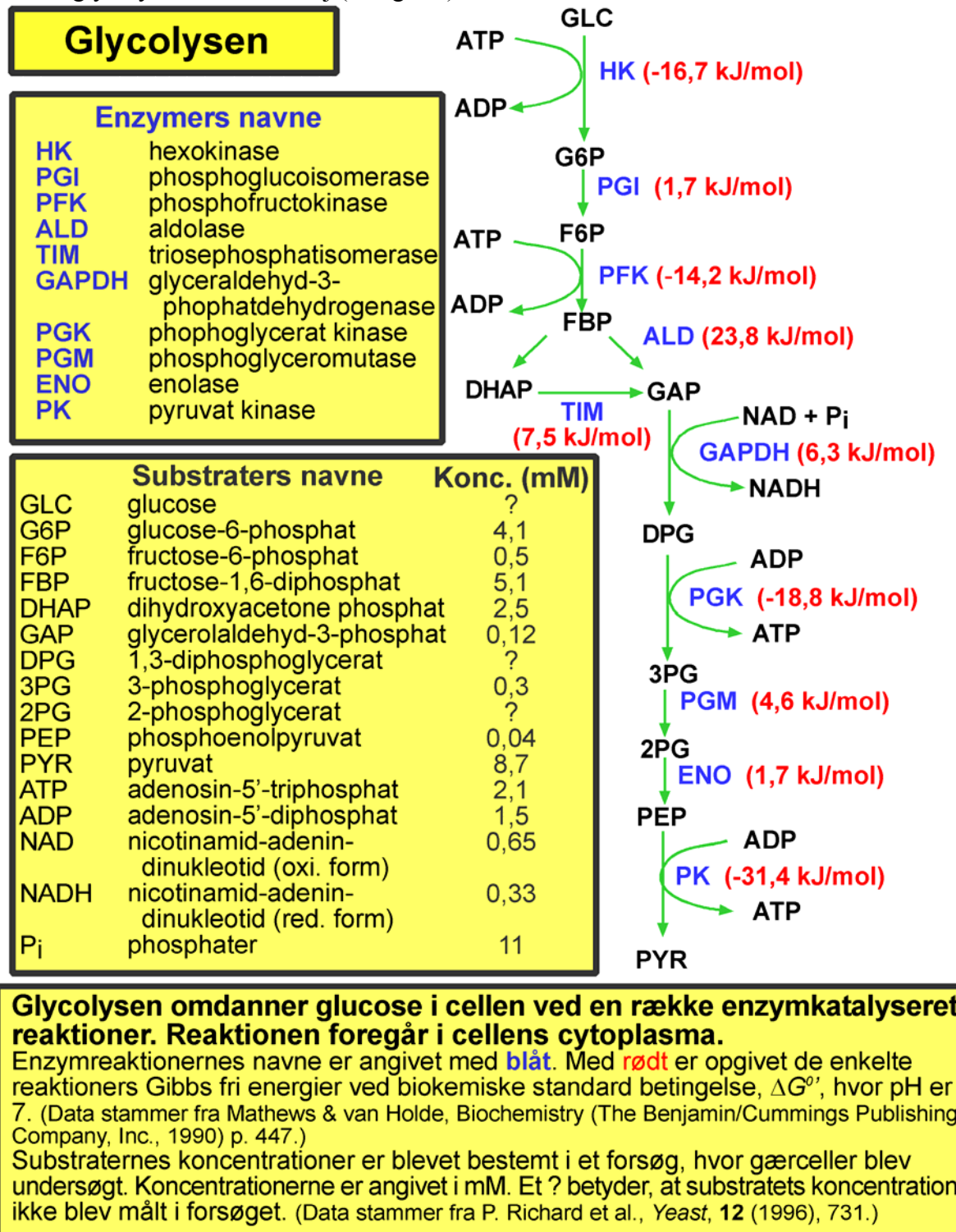
En model for c_p 's temperaturafhængig for vands vedkommende er følgende: $c_p = a + b \cdot T$.

- d) Bestem den molare standardreaktionsentalpi, ΔH_m^0 , for vands faseovergang fra væske til vanddamp ved vands (normale) kogepunkt under antagelsen om, at entalpiændringen afhænger af temperaturen som beskrevet i (2). (For $\text{H}_2\text{O}(l)$ er $a = 75,48 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ og $b = 0 \text{ J} \cdot \text{K}^{-2} \cdot \text{mol}^{-1}$, og for $\text{H}_2\text{O}(g)$ er $a = 30,54 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ og $b = 0,01029 \text{ J} \cdot \text{K}^{-2} \cdot \text{mol}^{-1}$) (løsning af integralet kan f.eks. gøres ved brug af en grafisk lommeregner). Sammenlign og kommenter resultatet med de to tidligere beregninger af entalpiændringen for faseovergangen.

Opgave 7: Glycolysen

Glycolysen er nedbrydningsvejen for sukkerstoffer i vores krop. Den findes i de fleste organismer, fra én-cellede organismer til mennesker, og foregår primært i cellernes

cytoplasma (se fx figur 3). Glycolysen er styret af en række enzymreaktioner. Mekanismen er grundlæggende den samme i alle organismer, selv om de enkelte enzymer kan være lidt forskellige i deres struktur. Blandt andet på grund af glycolysens almene karakter, har den været genstand for intense studier inden for biokemien. Dette har bevirket, at man i dag kender glycolysens reaktionsvej (se figur 1).



Figur 1: Enzymreaktioner der tilsammen udgør glycolysen.

De centrale enzymer i glycolysen er de allosteriske enzymer PFK og PK (enzymene fungerer ikke efter en Michaelis-Menten enzymmekanisme, men der gælder, at når et substrat binder sig til enzymet, bliver enzymet bedre til at optage efterfølgende substrater).

- a) På figur 1 ses en oversigt over glycolysens reaktioner. Opskriv alle reaktionsskemaerne, som er en del af glycolysen (ladningerne behøves ikke at blive noteret).
- b) I enzymreaktionerne indgår en række substrater. Tegn disse substrater (benyt eventuelt et molekyletegneprogram som fx ChemSketch til at iagttage den tre-dimensionelle opbygning af substraterne eller byg molekylemodeller for de mere simple substrater). Angiv systematiske navne for substraterne (dog undtaget ATP, ADP, NAD^+ og NADH). (Hjælp: Benyt fx en standard lærebog i biokemi eller kemi).

Glycolysen kan betragtes som en sammenhørende række af reaktioner. Hvis disse skal være spontant forløbende må de være karakteriseret ved, at ΔG for reaktionerne er negative. Ændringen i den molare standard Gibbs fri energi, ΔG^θ , er blevet bestemt, se figur 1.

Gibbs fri energierne er opgivet ved den såkaldte biokemiske standard betingelse, $\Delta G^{\theta'}$, hvor pH er 7. Som det ses er fortegnene såvel positive som negative. Men for at kunne vurdere ΔG 's fortegn for de enkelte af glycolysens reaktioner, skal der tages højde for, at substraternes koncentrationer ikke er 1 M, men for de fleste er langt mindre. Dette vil have stor betydning for beregningerne af ΔG , idet man skal benytte formlen:

$$\Delta G = \Delta G^{\theta'} + R \cdot T \cdot \ln \frac{[\text{produkter}]}{[\text{reaktanter}]}$$

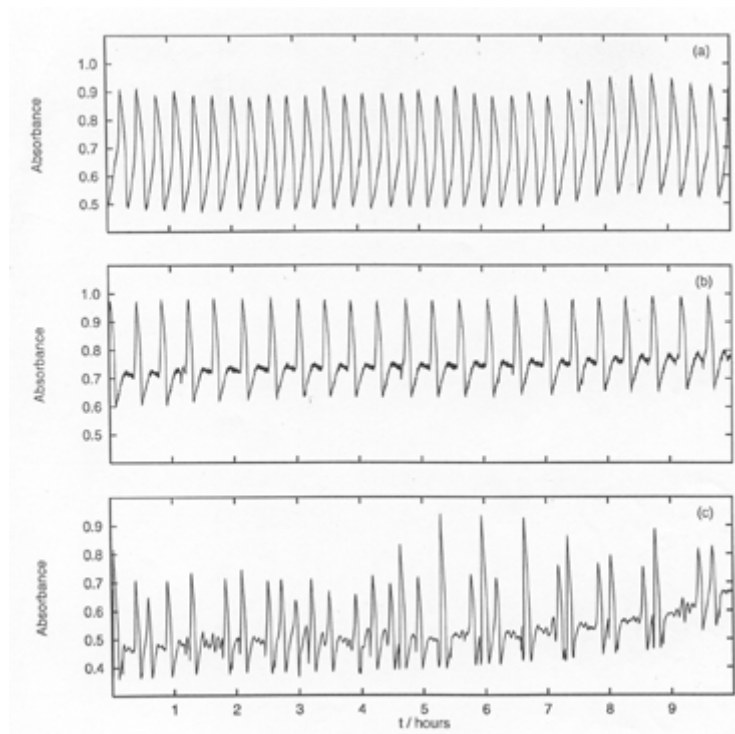
hvor $\Delta G^{\theta'}$ er opgivet ved den biokemiske standardbetingelse.

For at kunne beregne ΔG skal man altså kende substraternes koncentrationer. Dette er ikke uproblematisk, dels fordi gennemsnitskoncentrationerne kan variere fra art til art, og dels fordi koncentrationerne afhænger af cellens tilstand. På figur 1 er dog angivet nogle koncentrationer, som stammer fra samme art celler og fra samme forsøgsbetingelser.

- c) Beregn ΔG for alle reaktioner hvor substraternes koncentrationer er angivet. Er reaktionerne spontant forløbne?
- d) Vurder hvor store koncentrationerne af de substrater, som ikke har angivet en værdi i figur 1 (substratkoncentrationerne er i disse tilfælde angivet ved et ?), skal være, for at reaktionerne er spontane.

I de senere år er glycolysen blevet genstand for fornyet interesse. Glycolysen har nemlig fungeret som biokemisk modelsystem for studier af en række nye fænomener, der kan iagttages i ikke-lineære dynamiske systemer, der er langt fra kemisk ligevægt. Her tænkes f.eks. på periodiske og kaotiske svingninger i koncentrationer af glycolysens substrater. Sådanne koncentrationssvingninger kan forekomme både i levende celler og i ekstrakter fra

fx gærceller. Hvis man vil prøve at finde kaotisk opførsel eller lignende fænomener i en simpel kemisk model, kan dette prøves på web-stedet www.natnet.dk.



Figur 2: Periodiske og kaotiske fænomener observeret i glycolysen i et forsøg med ekstrakt fra gærceller. Signalet skyldes koncentrationssvingninger i NADH. De forskellige fænomener opnås ved at ændre forsøgsbetingelserne. (K. Nielsen et al., J. Theor. Biol., 186 (1997), 303).

Opgave 8: Termodynamisk stabilitet af proteiner

Proteiner er livsprocessernes arbejdsheste. I en typisk celle (se fx figur 3) findes der omkring 10^4 forskellige proteinmolekyler, der udfører en række opgaver såsom transport af stof, katalyse af biokemiske reaktioner og oplagring af stof.

Protein	Betingelser	$\Delta H_{foldning}$ (kJ/mol)	$\Delta S_{foldning}$ (kJ/mol)
Ribonuclease	pH 2,5	-238	-774
Chymotrypsinogen	pH 3,0	-163	-439
Myoglobin	pH 9,0	-175	-397
β -Lactoglobulin	I 5 M urinstof	88	301

Tabel 4: Termodynamisk data for foldning af forskellige proteiner ved 25 °C. (Mathews & van Holde, Biochemistry (The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1990) p. 193).

- a) Hvilke funktioner har enzymerne i tabel 4 (Hjælp: Benyt en lærebog i biokemi). (Proteiners tre-dimensionelle struktur kan bl.a. ses ved at benytte programmet Rasmol og data fra web-stedet www.rcsb.org/pdb).

- b) Vis at foldningen af de forskellige proteiner er spontane processer ved 25 °C under de angivne forsøgsbetingelser.
- c) Antag nu, at $\Delta H_{foldning}$ og $\Delta S_{foldning}$ ikke afhænger af temperaturen. Ved hvilken temperatur ser man et skift fra, at foldningsprocesserne er spontane, til de ikke er spontane (dvs. udfoldning af foldede proteiner er spontan)? Kommenter om du mener, at resultaterne virker realistiske.
- d) Proteinerne deler sig i to grupper. For de tre første proteiner er såvel ændringen i standardreaktionsentalpi som entropi negative størrelser, mens for det sidste protein er begge disse termodynamiske størrelser positive. Entalpiændringen relaterer til udveksling af varme med omgivelserne, mens entropiændringen hænger sammen med ændringer i graden af orden. Kommenter, hvad der er den drivende kraft for foldningen af proteinerne i de to tilfælde.

Opgave 9: Termisk stabilitet af proteinet Ribonuclease A

Ribonuclease A er et vandopløseligt protein, der udskilles fra bugspytkirtlen og medvirker i forbindelse med fordøjelsesprocessen ved den enzymatiske nedbrydning af ribonucleinsyre (RNA). Ribonuclease A består af 124 aminosyrer og har en molarmasse på ca. 13600 g/mol.

Undersøgelser af stabiliteten af Ribonuclease A under opvarmning fra 25 til 65 °C er angivet i nedenstående tabel. Det antages, at Ribonuclease A udfolder i overensstemmelse med to-trins modellen.

T/°C	25,0	26,4	32,0	36,5	44,5	50,0	56,0	60,0	63,5	64,0	64,5	65,0
α	0	0,04	0,18	0,29	0,49	0,63	0,78	0,88	0,96	0,98	0,99	1

Tabel 5: Temperaturen og udfoldningsgraden, α , ved opvarmning af proteinet Ribonuclease A fra 25 til 65 °C.

- a) Beskriv proteinets to tilstande, N , den native konformation og, D , den denaturerede form.
- b) Bestem ud fra data i tabel 5 ændringen i ligevægtskonstanten, K , og ændringen i standard Gibbs fri energi, ΔG^0 , som funktion af temperaturen.
- c) Afbild $1/T$ som funktion af $\ln K$ og T som funktion af ΔG^0 . Benyt en af graferne til at bestemme denatureringstemperaturen for Ribonuclease A.

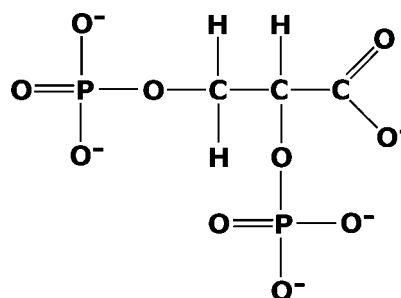
Det antages, at ændringen i standardreaktionsentalpien og standardreaktionsentropien er temperaturuafhængig i det undersøgte temperaturområde.

- d) Bestem standardreaktionsentalpien, ΔH^0 , for denatureringsprocessen.
- e) Bestem standardreaktionsentropien, ΔS^0 , for denatureringsprocessen.

Opgave 10: Ligandbinding

Proteiner spiller en central rolle for reguleringen af en lang række processer i alle levende organismer. De er således en afgørende faktor for, at cellernes aktivitet tilpasses de øjeblikkelige behov. En vigtig mekanisme for regulering af cellers aktivitet er proteins binding af ligander. Ligander kan være små molekyler, ioner, eller andre proteiner, og deres binding kan f.eks. ”tænde” eller ”slukke” for aktiviteten af et enzym og herved regulere hastigheden af en given biokemisk reaktion. Der er stor interesse for at udforske liganders binding til proteiner, og dette arbejde baseres bl.a. på kalorimetriske målinger.

Et eksempel på et sådant arbejde er en undersøgelse af bindingen af liganden 2,3-diphosphoglycerat, DPG, (se figuren til højre) til det ilt-transporterende protein hæmoglobin. Bindingen af DPG sænker hæmoglobins affinitet for O_2 ca. 6 gange. Dette bevirker, at hæmoglobinet lettere frigiver O_2 til musklerne, og at ilt-transporten således gøres mere effektiv.



DPG har været fremhævet som baggrunden for at såkaldt højdetræning forbedre idrætsfolks præstationsniveau. Hvis en atlet f.eks. i nogle uger henlægger sin træning til 4000m højde, stiger DPG koncentrationen i blodet fra den normale værdi, 4,5 mM, til ca. 7 mM.

Bindingen af DPG til hæmoglobin, Hb, kan beskrives ved ligevægten



a) Opstil et udtryk for ligevægtsloven for (1)

Ligevægtskonstanten for denne type reaktioner kaldes almindeligvis for bindingskonstanten, K_b .

En central funktion for beskrivelsen af ligandbinding er mætningsgraden, θ . Denne størrelse beskriver, hvor stor en gennemsnitlig andel af hæmoglobinmolekylerne, der har et DPG molekyle bundet, og kan skrives

$$\theta = [Hb*DPG] / ([Hb] + [Hb*DPG]) \quad (2)$$

b) Diskuter hvilke værdier θ kan antage. Sammenlign eventuelt udtrykket i (2) med udtrykket for fx protolysegraden.

Den grundlæggende ligning for beskrivelsen af ligandens binding er

$$\theta = K_b \cdot [DPG] / (1 + K_b \cdot [DPG]) \quad (3)$$

c) Udled ligning (3) på basis af ligning (2) og dit svar fra spørgsmål a).

Ved en kalorimetrisk måling er 5,00 mL af en 3,30 mM opløsning af hæmoglobin blevet titreret med en 250 mM opløsning af DPG. Målingen er udført således, at hæmoglobinopløsningen blev tilsat i alt 15 injektioner DPG på hver 10 μ L. Som følge af bindingen af DPG til proteinet udvikledes der varme efter hver injektion (reaktionsskema (1) er exoterm). En analyse af de rå data gav resultaterne angivet i tabel 6.

Injektions nr.	Varmeudvikling, q , i mJ
1	-101.0
2	-97.0
3	-92.6
4	-84.3
5	-75.6
6	-61.9
7	-49.3
8	-36.6
9	-27.0
10	-19.0
11	-16.1
12	-11.3
13	-9.0
14	-7.0
15	-4.6

Tabel 6

- d) Tegn en graf, der viser varmeudviklingen for hver injektion (i kJ pr. mol tilsat DPG) som funktion af totalkoncentrationen af DPG (i mmol/L). Ved totalkoncentrationen, $[\text{DPG}]_{\text{total}}$, forstås den samlede mængde DPG pr. liter opløsning, dvs. $[\text{DPG}]_{\text{total}} = [\text{DPG}] + [\text{Hb} \cdot \text{DPG}]$.
- e) Diskuter kurvens forløb. Hvorfor er der en stor varmeudvikling ved de første injektioner, mens varmeudviklingen er næsten 0 mod slutningen af målingerne?
- f) Tegn en graf, der viser den akkumulerede varmeudvikling, Q , som funktion af mængden af $[\text{DPG}]_{\text{total}}$. Ved akkumuleret varmeudvikling forstås summen af de hidtidige bidrag. F.eks. efter tredje injektion er $Q_3 = q_1 + q_2 + q_3$.

Den akkumulerede varmeudvikling er et udtryk for hvor meget $\text{Hb} \cdot \text{DPG}$ kompleks, der er blevet dannet. Hvis vi går ud fra, at alt hæmoglobin har bundet DPG efter de 15 injektioner, er den akkumulerede varmeudvikling efter injektion 15, Q_{15} , altså den entalpiændring, der sker for reaktionen (1), når de 5 ml proteinopløsning har reageret fuldstændigt med DPG. Tilsvarende er Q for de tidligere injektioner et mål for, hvor stor en andel af proteinet, der har reageret. Vi kan derfor beregne mætningsgraden for det i 'te trin θ_i , som

$$\theta_i = \frac{Q_i}{Q_{15}} \quad (4)$$

- g) Lav på basis af ligning (4) en ny y-akse til grafen fra spørgsmål f), der viser θ .

Vi går ud fra, at de koncentrationer DPG, der er angivet i indledningen, for henholdsvis normale mennesker og idrætsfolk under højdetræning, er total koncentrationer (dvs. blodets koncentration af DPG på såvel fri form som i den hæmoglobin-bundne tilstand).

- h) Vurder ud fra grafen, hvor stor en procentdel af hæmoglobin, der har DPG bundet i et normalt menneske og i en idrætsmand under højdetræning.

Svaret i h) er af stor betydning for den fysiologiske beskrivelse af DPG, idet det belyser mekanismen for DPGs funktion.

En mere generel karakterisering af bindingen er angivelse af bindingskonstanten K_b . Vi vil derfor sluttelig finde en værdi for K_b ud fra resultaterne i tabel 6. Vi har indtil nu fundet en sammenhæng mellem K_b og θ (ligning 3) og mellem Q og θ (ligning 4). Vi mangler imidlertid at kende den fri (aktuelle) koncentration af DPG, $[DPG]$ som indgår i ligning 3. For at finde den benytter vi, at den samlede koncentration af DPG, $[DPG]_{\text{total}}$ fordeler sig imellem den fri $[DPG]$ og den bundne $[Hb \cdot DPG]$ form. Som antydnet ovenfor kan dette skrives:

$$[DPG]_{\text{total}} = [DPG] + [Hb \cdot DPG] \quad (5)$$

- i) Bestem den fri koncentration af DPG, $[DPG]$ efter hver injektion.
(Hjælp: Brug ligning 2) til at finde $[Hb \cdot DPG]$; nævneren i ligning 2, $[Hb] + [Hb \cdot DPG]$, er hele tiden 3,30 mM, altså startkoncentrationen af Hb i kalorimetercellen.)
- j) Tegn en graf, der viser θ som funktion af de beregnede værdier af $[DPG]$.

Vi betragter nu grafen i j) for den værdi af koncentration af DPG hvor $\theta=0,50$. Idet vi kalder denne koncentration for $[DPG]_{1/2}$, får vi ud fra ligning 3.

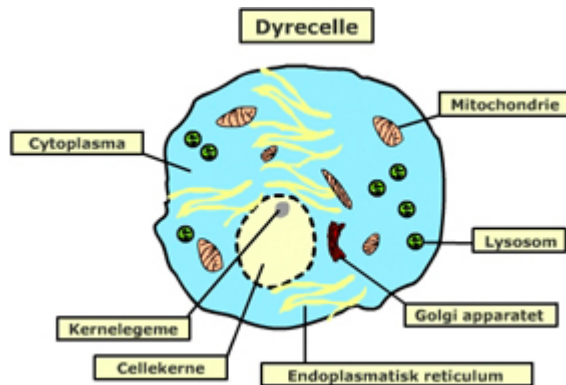
$$0.50 = K_b \cdot [DPG]_{1/2} / (1 + K_b \cdot [DPG]_{1/2}) \quad (6)$$

- k) Vis ud fra ligning 6, at $K_b = 1 / [DPG]_{1/2}$
- l) Find K_b ud fra grafen fra spørgsmål j).

Opgave 11: Faseovergange i lipidmembraner

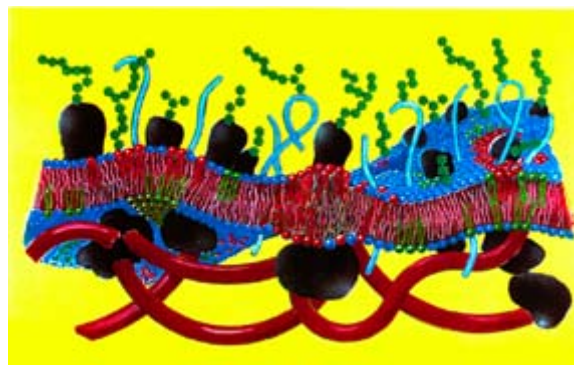
Alle levende organismer består af mindst en celle. Et krav der stilles for videnskabeligt at kalde en celle levende er, at den er i stand til at overføre information. Et andet fælles træk for alle levende celler er, at de er omgivet af et vandigt miljø, og også inde i cellen, i cytoplasmaet, foregår livsprocesserne i et vandigt miljø. Afgrænsningen af cellens indre med dens livsprocesser fra dens omgivelser sker ved hjælp af cellemembranen. Uden cellemembranen ville det ikke være muligt at få livsprocesserne til at foregå, da de skal forløbe afgrænset fra omgivelserne og i det rigtige miljø. Membranen har således som funktion dels at beskytte cellen mod påvirkninger udefra, og dels at regulere transporten af stoffer ind og ud af cellen.

Membranens midterste del består af en gruppe af amfifile molekyler kaldet *lipider* (lipid = fedt). Lipider har et hydrofilt hoved og en hydrofob del, som består af carbonhydriddkæder. I kontakt med vand vil lipidmolekylerne derfor organisere sig i et dobbeltlag af lipider, hvor de hydrofile ender vender ud mod omgivelserne (vand) og de hydrofobe ender ind mod det andet dobbeltlag. I cellemembranen er desuden indlejret en række proteinmolekyler. Disse proteiner har betydning for alle cellemembranens specielle funktioner.



Figur 3: Tværsnit af eukayot celle (forenklet model).

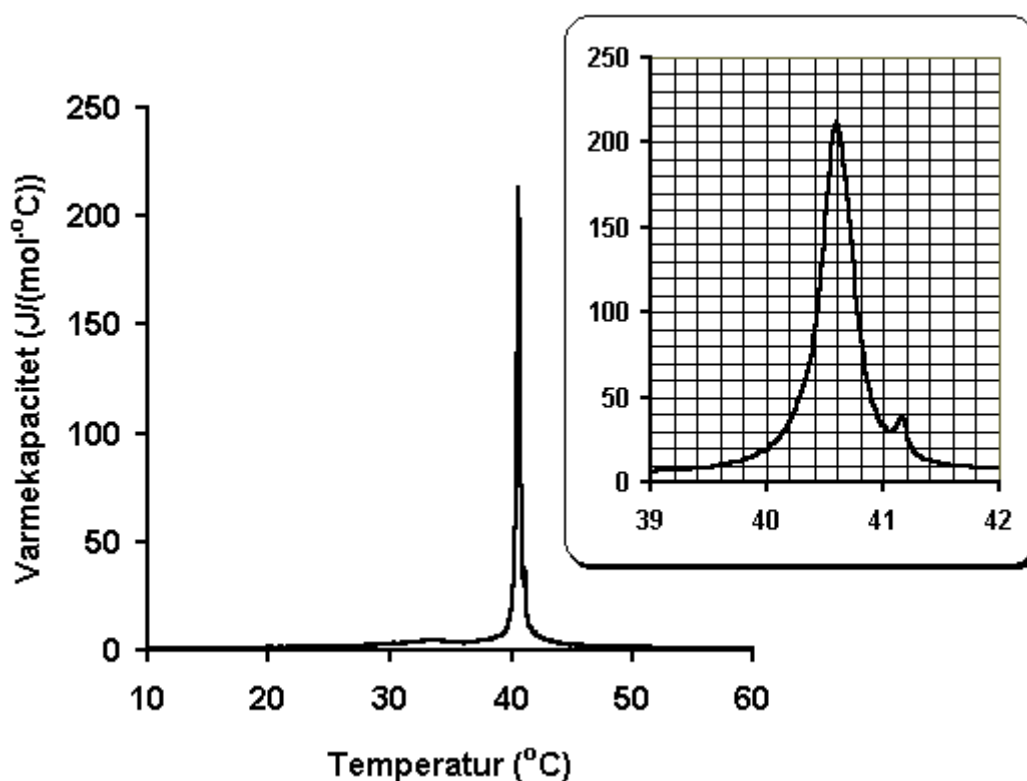
- a) Hvilke funktioner har cellens forskellige bestanddele?
Hvilke bestanddele er omgivet af en eller anden form for membran?
(Hjælp: Se i en lærebog i biologi eller tal med en biologilærer.)



Figur 4: Skematisk illustration af en biologisk membran. I midten ses lipiddobbeltaget, der består af amfifile molekyler med et vand-opløseligt hoved ((blå) og carbonhydriddkæder (rød). I og på membranen er indlejret proteiner.

- b) Beskriv hvilke fysiske og kemiske kræfter der er medvirkende til at holde en struktur som lipidmembranen sammen.

Graden af orden og uorden i membranens lipiddobbeltlag er helt afgørende for membranens stabilitet og således også for en lang række fysiologiske funktioner. I en meget simpel modelmembran, et såkaldt *liposom*, hvori der kun indgår en type lipid (en biologisk membran vil typisk indeholde flere hundrede forskellige slags lipider) undergår termisk inducerede faseovergange. Den mest bemærkelsesværdige faseovergang er den såkaldte ”*main transition*”, hvor organiseringen af lipidmolekylerne i dobbeltlaget går fra at ligge tætpakket med ordnede haler (kaldet gelfasen) til at være løsere pakket med uordnede haler (kaldet den flydende fase).



Figur 5: DSC-termogram, hvor en vandlig opløsning af lipidet dipalmitoyl phosphatidylcholin er varmet op fra 10 til 60 °C. Udsnittet viser en forstørrelse af området fra 39 °C til 42 °C.

- Angiv på figuren, hvor lipidmembranen er i gelfasen, og hvor lipidmembranen er i den flydende fase.
- Bestem fasetransitionstemperaturen eller lipidmembranens smeltepunkt.
- Bestem ændringen i standardreaktionsentalpien, ΔH° , for faseovergangen. (Hjælp: Entalpiændringen, ΔH° , ved faseovergangen beregnes ud fra arealet under varmekapacitetskurven, se eventuelt side 3 i artiklen **Mærk varmen**. Benyt udsnittet til at bestemme arealet).
- Bestem dernæst ændringen i standardreaktionsentropi, ΔS° , for faseovergangen. (Hjælp: Ved en faseovergang er der ligevægt i systemet. Hvilken betydning har det for Gibbs energien, ΔG° ?)