

# Versuch 1: Aminosäuren und Proteine I

## Versuche:

1. **Quantitative Biuret-Reaktion**
2. **Titration von Aminosäuren**

## Analysen:

1. **Proteinbestimmung nach Biuret**
2. **Bestimmung von unbekanntem Aminosäuren durch Titration**

## Wissensgebiete

[Lambert-Beer'sches Gesetz, Photometrie](#)

Biuret-Reaktion

Dissoziation des Wassers, [pK-Wert](#), [pH-Wert](#)

[Aminosäuren](#): Struktur, Kurzschreibweise, chemische Eigenschaften, essentielle Aminosäuren

Aminosäurestoffwechsel:

Enzymatischer Mechanismus der AS-Transaminierung

Decarboxylierung zu biogenen Aminen

Oxidative Desaminierung

Interpretation einer Titrationskurve, isoelektrischer Punkt, pK-Werte

[Harnstoff-Zyklus](#) und Harnstoff-Biosynthese

Peptide und Proteine: Primär-, Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur

Bindungsarten in Proteinen:

Kovalent - Peptidbindung, Disulfidbrücken

Ionisch - zwischen Carboxyl- und Amoniumgruppen

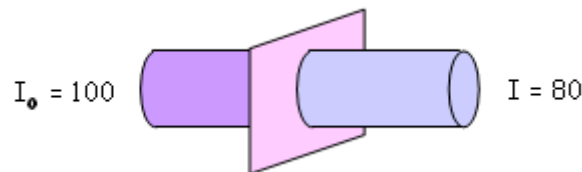
Van der Waals - Hydrophobe Wechselwirkung

Dipol-Dipol-Wechselwirkung – Wasserstoffbrückenbindung

## Einführung Photometrie

### Grundlage:

Die Farbe eines Farbstoffs kommt dadurch zustande, dass der Farbstoff die für ihn charakteristischen Wellenlängen des sichtbaren Lichts absorbiert. Schickt man ein Licht dieser Farbe durch eine Lösung des Farbstoffs, wird ein Teil des Lichts absorbiert. Je konzentrierter die Farbstofflösung ist, desto größer ist die Absorption oder Lichtschwächung.



**Abbildung 1–1:** Die Intensität ( $I_0 = 100$ ) des eintretenden Lichtes wird nach Passieren der Kuvette auf nur noch 80 geschwächt.

Das Prinzip der Photometrie beruht auf der Schwächung eines monochromatischen Lichtstrahls, der durch eine Lösung geschickt wird. Die Abschwächung des monochromatischen Lichtstrahls ist proportional zur Art und Konzentration des gelösten Stoffes und der Dicke der Schicht. Die Intensität  $I$  des einfallenden Lichtes wird beim Durchtritt durch eine differentielle Schicht  $dx$  um  $dI$  geschwächt:

$$-dI = K \cdot I \cdot dx \quad [1]$$

Die Art und Konzentration des gelösten Stoffes wird als eine Konstante  $K$  berücksichtigt. Wenn das Minuszeichen nach rechts und die Intensität  $I$  nach links vom Gleichheitszeichen gebracht wird, lautet das bestimmte Integral:

$$\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = -K \int_{x=0}^d dx \quad [2]$$

Die Schichtdicke  $x$  wird von  $0$  bis  $d$  integriert. Das Ergebnis (s. Integralsammlung) lautet:

$$\ln I - \ln I_0 = -K \cdot d \quad [3]$$

$$\ln \left( \frac{I}{I_0} \right) = -K \cdot d \quad [4]$$

oder  $\ln D = -K \cdot d$

$D$  ist die Durchlässigkeit. Daraus ergibt sich das Lambert'sche Gesetz:

$$D = e^{-K \cdot d} = 10^{-m \cdot d} \quad [5] \quad (m = K \cdot \ln 10)$$

$m$  ist ein für die absorbierende Materie und die Wellenlänge typischer Faktor, und ist in Lösungen in der Regel der Konzentration  $c$  proportional:

$$m = \varepsilon \cdot c \quad [6]$$

Die Proportionalitätskonstante  $\varepsilon$  ist der molare Extinktionskoeffizient. Die Durchlässigkeit  $D$  wird somit:

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon \cdot c \cdot d} \quad [7]$$

Den reziproken Wert  $I_0/I$  bevorzugt man gegenüber der Durchlässigkeit  $I/I_0$ , weil sein Wert anwächst, je größer die Absorption wird. Rechts vom Gleichheitszeichen wird Minus zu Plus.

$$\frac{I_0}{I} = 10^{\varepsilon \cdot c \cdot d} \quad [8]$$

Dessen dekadischer Logarithmus wird als die Extinktion  $E$  bezeichnet (**Lambert-Beer'sches Gesetz**):

$$\log \left( \frac{I_0}{I} \right) = \varepsilon \cdot c \cdot d = E \quad [9]$$

Der molare Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  hat die Dimension: **[l x mol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>] bzw. [l x mg<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>]**

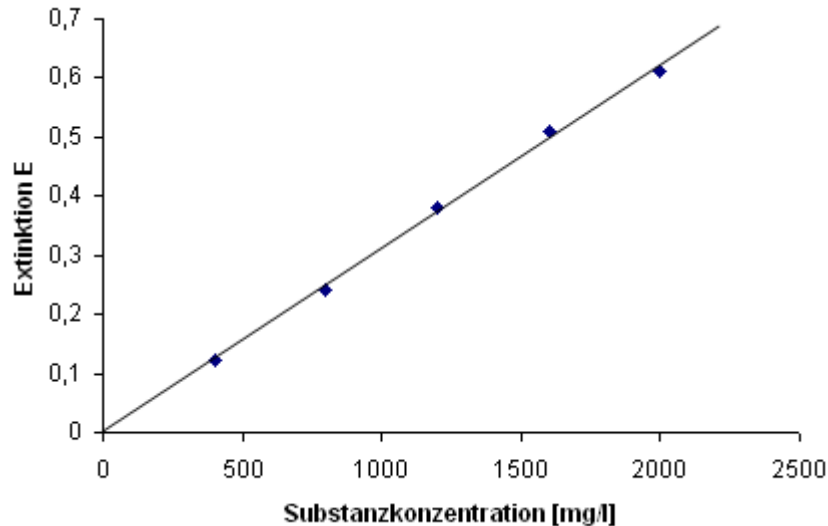
Die *Extinktion*  $E$ , welche auch als Absorption oder optische Dichte bezeichnet wird, ist der Schichtdicke  $d$  und der Konzentration  $c$  proportional. *Die Extinktion ist die Messgröße* bei allen photometrischen Untersuchungen. Die Proportionalität zwischen Extinktion und Konzentration, die das Beer'sche Gesetz verlangt, gilt nicht in allen Fällen, vor allem nicht mehr in höheren Konzentrationsbereichen. Da das durchfallende Licht auch durch Reflexion an den Oberflächen der Küvettenwände geschwächt wird, unter Umständen auch durch das Lösungsmittel, muss zum Vergleich die Extinktion einer gleich großen, mit Lösungsmittel beschickten Küvette als Nullwert gemessen werden. Standardlösungen bekannter Zusammensetzung sind zur Anlage der Eichkurve bzw. zur Ermittlung von  $\varepsilon$  notwendig.

#### **Eichkurve (Kalibrierkurve):**

Um bei einer Reihenmessung gleichartiger Proben schneller die Ergebnisse erhalten zu können, erstellt man gleichzeitig mit der Messung eine Eichkurve. Dabei liegen die eingestellten Konzentrationen der Eichkurve im Bereich der zu messenden Proben.

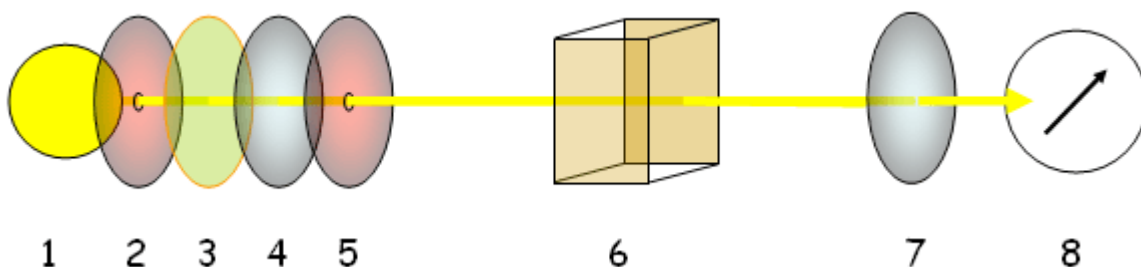
#### **Erstellen einer Eichkurve:**

Eine Reihe von Lösungen bekannter Konzentrationen werden gemessen und die erhaltenen Extinktionen auf der Y-Achse gegen die Konzentrationen auf der X-Achse aufgetragen. An dieser Eichkurve lässt sich für jeden Wert von  $E$  die zugehörige Konzentration direkt ablesen. Außerdem kann die Konzentration mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes berechnet werden.



**Abbildung 1–2:** Eine Eichkurve für eine photometrische Analyse. Üblicherweise werden die Extinktionswerte auf der y-Achse (Ordinate) und die Konzentration auf der x-Achse (Abszisse) eingetragen (hier mg/l).

Die Abbildung 1-3 zeigt den schematischen Aufbau eines Photometers. Von einer Lichtquelle (hier eine Wolfram-Glühlampe für den sichtbaren und eine Deuteriumlampe für den UV-Bereich) werden, nachdem ein dünner Strahl durch eine Spaltblende ausgesondert wurde, durch einen Monochromator (Filter, Gitter oder Prismen) bestimmte Wellenlängen selektiert. Für z.B. orangefarbene Lösungen wird ein Filter der Komplementärfarbe blau verwendet. Diese monochromatische (einfarbige) Strahlung wird durch eine Linse gebündelt und gelangt durch einen Ausgangsspalt zur Küvette, einem quaderförmigen Gefäß für die zu bestimmende Lösung in der das durch die Lösung gehende Licht je nach Konzentration des Farbstoffes geschwächt wird. Je nach Wellenlänge werden unterschiedliche Küvetten verwendet, z.B. Quarzküvetten für den UV-Bereich, Glas- bzw. Plastikkuvetten für den sichtbaren Bereich. Die Küvetten haben ca. 1-5 ml Inhalt und genaue Innenabmessungen, meist beträgt die Schichtdicke 1,0 cm. Das Licht gelangt schließlich zum Detektor (Photozelle oder Photodioden, die Licht in Strom wandeln) und das Messergebnis kann auf verschiedene Weise angezeigt werden (Amperemeter/ Display/ Computer/ Schreiber/ Drucker).



**Abbildung 1–3:** Schematischer Aufbau eines Photometers: 1. Lichtquelle; 2. Loch- oder Spaltblende; 3. Monochromator oder FarbfILTER; 4. Linse; 5. Lochblende; 6. Küvette; 7 Linse; 8. Messgerät.



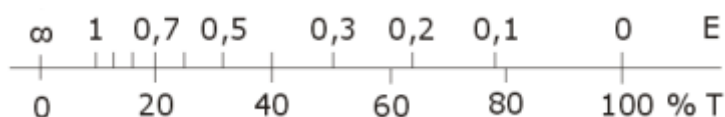
**Abbildung 1–4:** Das im Praktikum verwendete ULTROSPEC1000 ist ein einfach zu bedienendes Spektralphotometer, das Sie zur Messung der Absorption von Lösungen bei von Ihnen vorgewählten Wellenlängen verwenden.

**Achtung:**

Die Photometer bei Praktikumsbeginn sofort einschalten, damit die Lampen aufwärmen können. Das Gerät erst nach Beendigung der Arbeit ausschalten. Häufiges Ein- und Ausschalten verkürzt die Lebensdauer der Hochleistungslampe!

**Messung:**

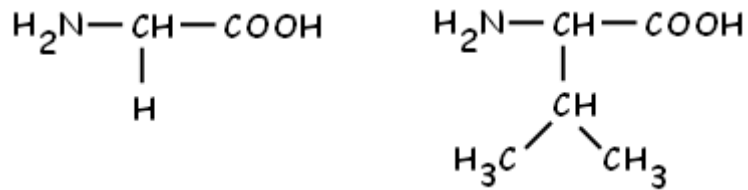
Drücken Sie die  $\lambda$ -Taste auf der Tastatur, geben Sie die gewünschte Wellenlänge ein und bestätigen Sie mit der **F3**-Taste (+). Dann füllen Sie eine Küvette mit dem "Leerwert" (z. B. Wasser oder eine Reagenzienmischung ohne zu messende Substanz), stellen sie in den Strahlengang (Orientierung beachten!), schließen den Deckel des Geräts und drücken Sie die **H**-Taste. Der Leerwert wird automatisch auf 0,000 eingestellt. Nehmen Sie zur Messung entweder dieselbe Küvette oder bestimmen Sie den Küvettenfehler, indem Sie die Messküvette ebenfalls mit dem Leerwert füllen und die Extinktion bestimmen. Stellen Sie dann die Küvette mit ihrer Messlösung in den Strahlengang und notieren Sie das Ergebnis.



**Abbildung 1-5:** Im Gegensatz zum modernen digitalen Photometer verdeutlicht die analoge Skalenablesung an älteren Photometern die logarithmische Natur der Extinktion E bzw. die lineare der Durchlässigkeit T.

## Aminosäuren

Die meisten Aminosäuren sind  $\alpha$ -Aminocarbonsäuren, z. B. Glycin oder Valin:



20 verschiedene Aminosäuren zuzüglich Selenocystein werden in ein Protein während der Synthese am Ribosom eingebaut. Sie werden in der Dreibuchstaben-Kurzschreibweise nachstehend angegeben:

Ala Arg Asn Asp Cys Gln Glu Gly His Ile  
Leu Lys Met Phe Pro Ser Thr Tyr Trp Val

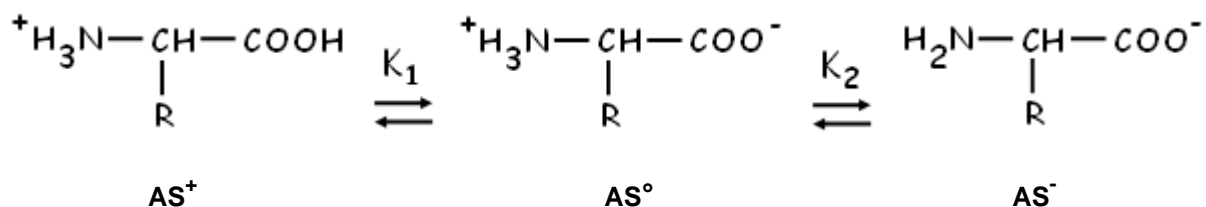
Neben den zwanzig kodierten Aminosäuren enthalten viele Proteine noch andere Aminosäuren. Sie werden posttranslational enzymatisch verändert. Diese Proteine haben spezifische Funktionen. Überlegen Sie sich, welche der Aminosäuren verändert sind und welche Funktionen diese Proteine erfüllen. Die Aminosäuren selbst werden im Körper weiter metabolisiert. Überlegen Sie sich, welche Reaktionen diese sind und welche Produkte (u. a. Neurotransmitter) dabei entstehen.

Die unterschiedlichen Seitenketten der Aminosäuren prägen neben den Amino- und Carboxylgruppen ihre Eigenschaften. Sie entscheiden über ihre chemischen Eigenschaften, beispielsweise sauer, basisch oder neutral. Ferner klassifiziert man noch die aromatischen, die polaren bzw. apolaren Aminosäuren. Diese Unterschiede können zu ihrer Trennung genutzt werden.

In diesem Versuch lernen Sie die Säure-Base-Eigenschaften von Aminosäuren kennen. In Proteinen tritt dagegen die Summe der Eigenschaften der Seitenketten hervor. Bei der Biuret-Reaktion bestimmen Sie quantitativ die Menge eines Proteins in einer Lösung.

### Säure-Base-Eigenschaften von Aminosäuren:

Da die Aminosäuren mindestens eine Carboxylgruppe und eine Aminogruppe besitzen, liegt eine Monoamino-monocarbonsäure in wässriger Lösung in drei Ionisationsstufen vor:



Das Mengenverhältnis der drei Ionisationsformen ist abhängig von den pK-Werten der beiden funktionellen Gruppen und dem pH-Wert. Für die Dissoziation der Carboxylgruppe gilt die Henderson-Hasselbalch'sche Gleichung:

$$\text{pH} = \text{pK}_1 + \log \frac{[\text{AS}^0]}{[\text{AS}^+]}$$

Für die Aminogruppe gilt entsprechend:

$$\text{pH} = \text{pK}_2 + \log \frac{[\text{AS}^-]}{[\text{AS}^0]}$$

Die pK-Werte der Aminosäuren versteht man mit Indices. pK<sub>1</sub> bezieht sich auf die α-Carboxylgruppe, der pK<sub>2</sub> auf die α-Aminogruppe und der pK<sub>R</sub> stets auf die funktionelle Gruppe der Seitenkette.

### Isoelektrischer Punkt:

Der isoelektrische Punkt ist als derjenige pH-Wert definiert, bei dem die Summe der positiven Ladungen einer Substanz gleich der der negativen ist. Bei sauren und basischen Aminosäuren liegt der pI-Wert immer zwischen dem pK-Wert der Seitenkette und dem pK-Wert der sauren bzw. basischen Gruppen.

Am isoelektrischen Punkt gilt::

$$[\text{AS}^+] = [\text{AS}^-]$$

Hieraus und aus den Gleichungen [1] und [2] folgt:

$$\text{pI} = \frac{\text{pK}_1 + \text{pK}_2}{2}$$

Der pI von Monoaminodicarbonsäuren (Asp, Glu) ergibt sich aus:

$$\text{pI} = \frac{\text{pK}_1 + \text{pK}_R}{2}$$

und der pI von Diaminomonocarbonsäuren (Lys, Arg) aus:

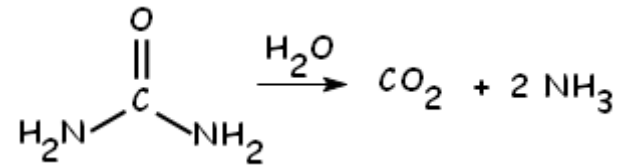
$$\text{pI} = \frac{\text{pK}_2 + \text{pK}_R}{2}$$

**Tabelle 1-1:** Die pK-Werte der ionisierenden Gruppen von einigen α-Aminosäuren bei 25 °C

Aminosäure	pK <sub>1</sub> -COOH	pK <sub>2</sub> -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	pK <sub>R</sub> Seitenkette
Glycin	2,35	9,78	
Asparaginsäure	1,99	9,90	3,90
Glutaminsäure	2,10	9,47	4,07
Arginin	1,82	8,99	12,48
Lysin	2,16	9,18	10,79
Tyrosin	2,20	9,17	10,13
Histidin	1,82	9,11	6,00

**Das Endprodukt des Aminosäurestoffwechsels:**

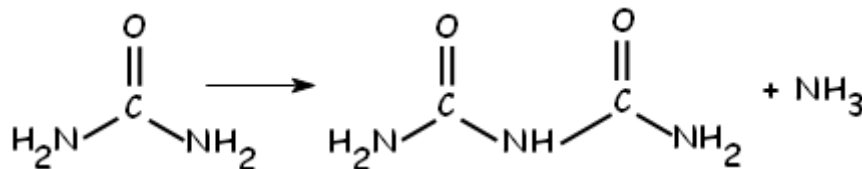
Harnstoff, das Endprodukt des Aminosäure-Stoffwechsels beim Menschen, kann durch Urease hydrolytisch in  $\text{CO}_2$  und  $\text{NH}_3$  gespalten werden. Urease kommt in Sojabohnen und Bakterien vor.



Auf der Wirkung der Bakterien-Urease beruht die "ammoniakalische Gärung" von Urin. Für die Bestimmung von Harnstoff in biologischem Material (Blut, Harn) hat Urease große Bedeutung, da sie streng spezifisch ist. Das entstehende Ammoniak kann nach verschiedenen Methoden genau bestimmt werden (keine Durchführung in diesem Praktikum).

## I. Quantitative Biuret-Reaktion

Proteine und Peptide bilden mit  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen in alkalischer Lösung (Biuret-Reagenz) rot bis violett gefärbte Komplexverbindungen, freie Aminosäuren jedoch nicht. Die quantitative Biuret-Probe ist eine der häufigsten Proteinbestimmungsmethode. Der Name der Reaktion stammt von der einfachsten Verbindung, die mit dem Biuret-Reagenz ( $\text{Cu}^{2+}$  in alkalischer Lösung) eine Komplexverbindung eingeht, dem Biuret. Es entsteht durch trockenes Erhitzen von Harnstoff:



$\text{Cu}^{2+}$ -Ionen liegen gewöhnlich als Tetrahydrat vor. In einem Tetraeder besetzt das Kupferion das Zentrum und die vier Wassermoleküle die Ecken des Tetraeders. Die Sauerstoffe sind auf das Kupferion gerichtet. Diese vier Wassermoleküle können durch kräftigere Dipole, z.B. Aminogruppen verdrängt werden. Bei Proteinen sind mindestens zwei Peptidbindungen für den Komplex erforderlich.

### Geräte:

Spektralphotometer ULTROSPEC1000  
Küvetten (1 cm Schichtdicke)

### Lösungen:

Analyse unbekannte Proteinlösung  
10 g/l Protein-Standardlösung  
Biuret-Reagenz (in PVC-Flasche)

### Durchführung:

Zur Herstellung einer Eichkurve werden sechs Proben (0,0 (Leerwert); 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 und 2 ml) einer Standard-Proteinlösung in Reagenzgläser pipettiert, und mit dest. Wasser auf 2 ml aufgefüllt. In zwei andere Reagenzgläser werden je 2 ml der Analysenlösung pipettiert. Alle Proben werden mit 8 ml Biuret-Reagenz gut gemischt und zur Ausbildung der Farbe 30 min stengelassen. Gemessen wird in 1 cm-Küvetten bei 578 nm gegen den Leerwert (2 ml dest. Wasser und 8 ml Biuret-Reagenz). Führen Sie immer Doppelbestimmungen durch: Einzelmessungen haben oft Lotteriecharakter!

### Auswertung:

Als Ordinate wird die Extinktion, als Abszisse die mg Protein/Liter Lösung eingetragen.

- Bestimmen Sie aus der Eichkurve den Proteingehalt der Analysenlösung, indem Sie den zur gemessenen Extinktion gehörenden Wert in mg Protein/Liter ablesen.
- Berechnen Sie den Proteingehalt der Analysenlösung mit Hilfe des Lambert-Beerschen-Gesetzes. Vergleichen Sie den errechneten Wert mit dem graphisch ermittelten Wert.
- Geben Sie das Ergebnis in mg Protein pro Liter Analysenlösung an.

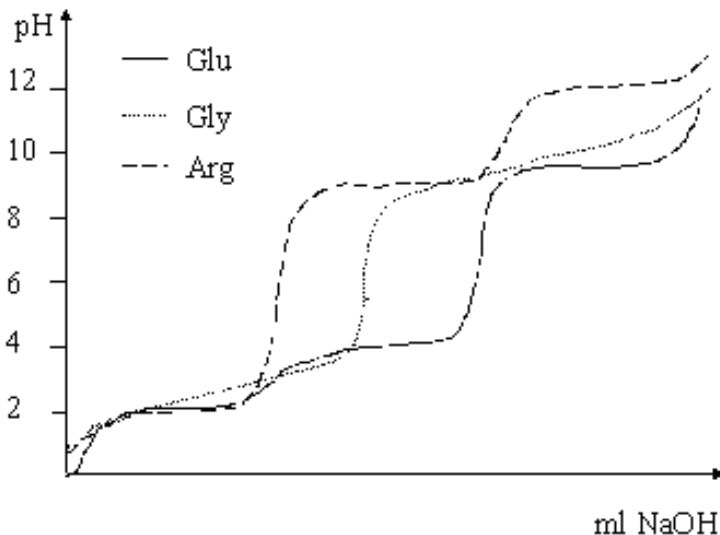
## II. pH-Titrationskurve einer Aminosäure

### Vorbemerkungen:

Durch schrittweise Zugabe von HCl oder NaOH wird in einer wässrigen Lösung die Konzentration von  $H^+$ -Ionen erhöht oder erniedrigt. Durch die chemischen Eigenschaften der gelösten Aminosäure können diese Veränderungen teilweise abgefangen werden (Pufferkapazität). Der pH-Wert bleibt streckenweise relativ konstant und schlägt erst an charakteristischen Punkten um.

Bei der Titration einer Aminosäure findet man mindestens zwei Pufferbereiche ( $NH_3^+$ ,  $COO^-$ ), je nach Seitenkette auch einen dritten. Die Titrationskurven von Arginin, Glutaminsäure und Glycin sind hier dargestellt.

**Achtung Fehlerquelle:** Die Umschlagspunkte von Gly und Glu liegen sehr nahe beieinander! Markieren Sie die entsprechenden pK-Werte der drei Aminosäuren in der Kurve (s. Tabelle 1-1). Machen Sie sich Gedanken darüber, warum die Titrationskurven wie in der Abbildung 1-6 aussehen.



**Abbildung 1-6:** Die Titrationskurven von Arg, Gly und Glu

### Geräte:

pH-Meter mit Einstab-Glaselektrode  
 Magnetrührer mit Teflonrührfisch  
 Becherglas: 100 ml  
 Vollpipette: 20 ml  
 Büretten: 2 x 50 ml

### Lösungen:

3 unbekannte Aminosäure-Lösungen (saure Lösungen, 5 g/l)  
 0,1 M NaOH

### Aufgabe:

Titration von drei unbekannt Aminosäuren mit NaOH. Die drei Lösungen sind den Aminosäuren Arg, Gly und Glu zuzuordnen.

**Durchführung:**

30 ml einer unbekanntes Aminosäure-Lösung (5 g/l) werden in ein 100 ml Becherglas gegeben. Diese Lösung wird langsam auf dem Magnetrührer gerührt. Mit dem pH-Meter (**Eichung: siehe Einführung**) wird durch Eintauchen der Elektrode in die Lösung der pH-Wert bestimmt (Vorsicht: Tief genug, aber nicht zu weit eintauchen, damit der Rührfisch nicht die Elektrode beschädigt). Aus einer 50 ml Bürette wird in 1 ml Schritten 0,1 M NaOH-Lösung zugegeben bis pH 11 erreicht ist, mindestens aber 30 ml. Der pH-Wert wird nach jeder Zugabe abgelesen und in einer Wertetabelle festgehalten.

Anschließend werden Becherglas und Rührfisch mit demineralisiertem Wasser ausgespült und der Versuch mit der nächsten unbekanntes Aminosäure-Lösung wiederholt.

**Auswertung:**

Die Messwerte werden auf Millimeterpapier grafisch dargestellt. Vergleichen Sie Ihre Kurven mit den Kurven in Abb. 1-8 und geben Sie an, welche Analysen welchen Aminosäuren entsprechen (Ergebnisse in Liste eintragen). Anhand der Kurve können pK-Werte und pI-Werte abgeschätzt werden, die ebenfalls Rückschlüsse auf die eingesetzten Aminosäuren ermöglichen. Zeichnen Sie die pK-Werte und den isoelektrischen Punkt (pI) ein! Welche chemischen Eigenschaften haben diese Aminosäuren?

**Übungsaufgaben:**

- Nur isoelektrisches Lysin,  $\text{Lys}^0$ , ist Substrat der Lysindecaboxylase
  - Formulieren Sie die Ionenpaare bei  $\text{pK}_{a1} = 2,18$ ;  $\text{pK}_{a2} = 8,95$ ;  $\text{pK}_{a3} = 10,54$
  - Wie groß ist  $[\text{Lys}^0]$  einer  $10^{-3}$  M Lösung bei  $\text{pH} = 7,6$ ?
- Formulieren Sie die Struktur des Peptids  $\text{H}_2\text{N-Tyr-Arg-Trp-Ile-COOH}$ 
  - zu welchem Pol wandert das Peptid in der Elektrophorese bei  $\text{pH} 4$ ?
  - Welche Form der Arg-Seitenkette liegt bei diesem  $\text{pH}$  vor?  
( $\text{pK}_{a1} = 2,17$ ;  $\text{pK}_{a2} (-\text{NH}_2) = 9,04$ ;  $\text{pK}_{a3}$  (Seitenkette) = 12,48)
- Histidin hat einen  $\text{pK}_{a3} = 6,1$ 
  - Formulieren Sie die beiden Ionenspezies bei  $\text{pH} 7,4$ , und
  - Bestimmen Sie das Verhältnis von basischer zu saurer Form
- a)  $\gamma$ -Aminobuttersäure entsteht aus \_\_\_\_\_ durch \_\_\_\_\_  
b) Ihr isoelektrischer Punkt beträgt 7,3. Eine Lösung von  $\gamma$ -Aminobuttersäure enthält bei  $\text{pH} 3,25$  10 % Zwitterion. Wie groß sind die pK-Werte  $\text{pK}_1$  und  $\text{pK}_2$ ?
- Zeichnen Sie die Titrationskurve von 0,05 M Alanin-Hydrochlorid in wässriger Lösung bei Zugabe von 0,1 M NaOH. (Anfangs-pH = 0,5).  
 $\text{pK}_{a1} = 2,35$ ,  $\text{pK}_{a2} = 9,78$ . Ordinaten quantitativ bezeichnen!
- Zeichnen Sie die Titrationskurve von 1 liter 0,02 M Glycin-Hydrochlorid in wässriger Lösung, deren Anfangs-pH = 0,5 ist, unter Zugabe von 0,1 M NaOH.  $\text{pK}_1 = 2,25$ ,  $\text{pK}_2 = 9,77$ .
  - Bezeichnen Sie die Ordinate (pH) und Abszisse (ml 0,1 N NaOH) für jeden Punkt exakt.

- b) Berechnen Sie mindestens zwei Messpunkte links und rechts vom berechneten isoelektrischen Punkt.
7. Geben Sie den Bereich des isoelektrischen Punktes eines sauren bzw. basischen Proteins an.
8. Wie viele Protonen kann Lysin ausgehend vom pH 1 maximal abgeben? Wie viele saure bzw. basische Funktionen enthält Lysin?
9. Geben Sie die relative Lage der folgenden Peptide an, die in einer Papierelektrophorese bei pH 7 getrennt werden.  
A: Phe-Met-Gly, B: Leu-Gly-Arg und C: Glu-Ile-Ala.
10. a) Wie groß ist der pH-Wert einer 0,1 N HCl; einer 0,1 N NaOH; einer 0,1 N Essigsäure?  
b) Der pH-Wert des Blutes sei 7,4. Wie groß ist die  $[H^+]$ ?  
c) Wie viele  $H^+$ /ml hat eine Lösung mit einem pH-Wert von 1,2?
11. a) Wie viel ml einer 28 %-igen HCl (Gew. %, MG = 36,5 g/mol, Dichte 1,15 g/ml) benötigt man, um 2 l einer 0,4 M HCl herzustellen?  
b) Wie viel ml 0,15 M KOH sind zur Neutralisation 180 g  $H_2SO_4$  erforderlich?  
MG  $H_2SO_4$  = 98 g/mol; MG KOH = 56 g/mol  
c) Wie viel ml 0,025 M  $H_2SO_4$  benötigt man, um 525 ml 0,06 M KOH zu neutralisieren?
12. Die Pufferkapazität ist definiert als die Anzahl mol  $H^+$ , die den pH-Wert eines Liter Puffers um 1 verändert. Berechnen Sie die Pufferkapazität eines 0,3 M Acetatpuffers von pH = 5,0 in saurer Richtung.  $K_a = 1,9 \times 10^{-5}$  mol/l
13. Tris Puffer:  $H_2N-C(CH_2OH)_3 \rightleftharpoons H_3N^+-C(CH_2OH)_3$   
Sie sollen 500 ml eines 0,1 M Tris-Puffers vom pH 7,4 aus fester Tris-Base (MG = 121 g/mol,  $pK = 9$ ) und 33 %-iger HCl (Gew. %; Dichte 1,165 g/ml) herstellen. Wie viele g bzw. ml benötigen Sie von jeder Komponente? Tris ist die Abkürzung von Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan.
14. Wie viel g Glycin und wie viel g NaOH benötigen Sie, um 5 Liter eines 0,05 M Glycin-Puffers mit einem pH-Wert von 9,6 herzustellen? ( $pK_1 = 2,5$ ;  $pK_2 = 9,6$ )