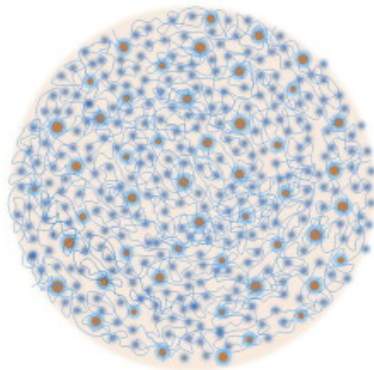


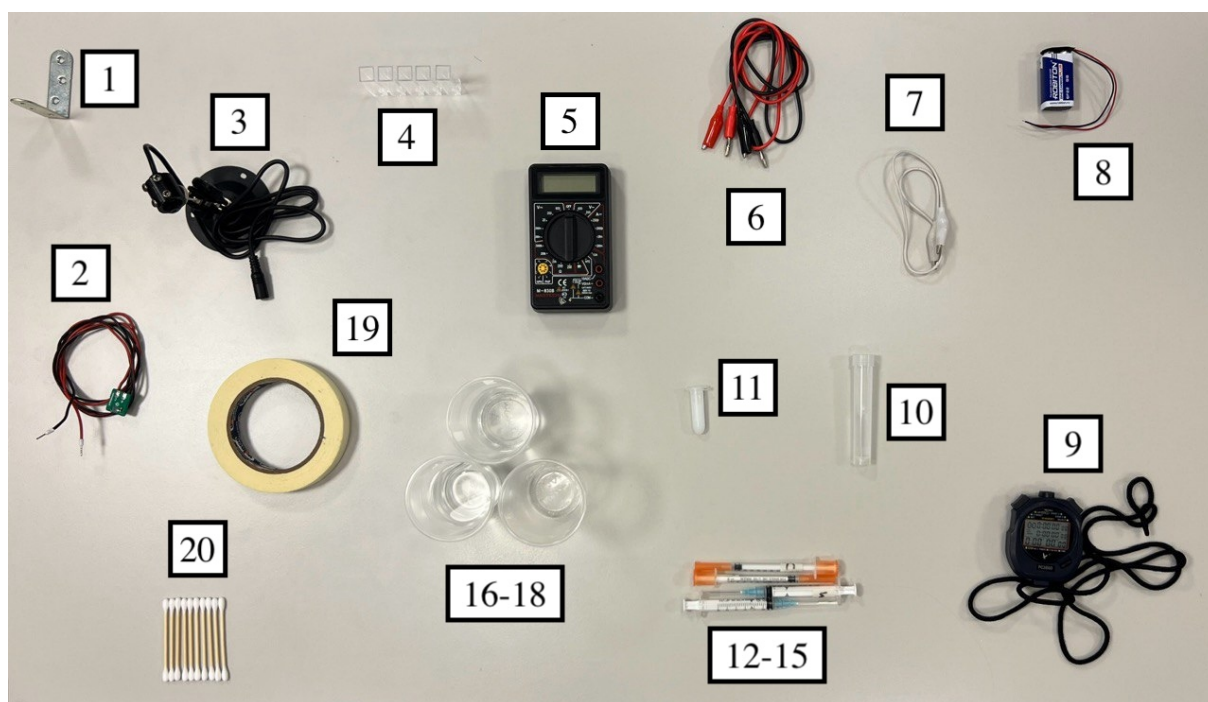
Road to IPhO

Титрование казеина (8 баллов)

Эта задача посвящена изучению поведения белка в кислой среде. В качестве белка выбран казеин – основной белок в составе молока, а кислая среда создается с помощью лимонной кислоты H_3Cit . Отдельные молекулы казеина в растворе «слипаются» в так называемые *мицеллы*, который будем считать шариками радиуса r (см. рис.). Элементарный заряд $e = 1.602 \cdot 10^{-19}$ Кл. Электрическая постоянная $\varepsilon_0 = 8.85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м.



Мицелла, состоящая из большого числа молекул казеина



Оборудование

1. Металлический уголок для крепления фотодиода
2. Фотодиод
3. Лазер в держателе
4. Оптические кюветы (5 шт.)
5. Мультиметр
6. Пара проводов банан-крокодил
7. Провод крокодил-крокодил
8. Батарейка крона с разъемом
9. Секундомер
10. Пробирка 10 мл с раствором H_3Cit 1.1 г/л

Road to IPhO

11. Микропипетка 2 мл с раствором молока. В растворе концентрация казеина равна 2.5 г/л
12. Шприц «М» 1 мл для добавления раствора молока.
13. Шприц «С» 1 мл для добавления H_3Cit
14. Шприц «W» 3 мл для добавления воды
15. Шприц 3 мл для перемешивания
16. Стакан с водой для приготовления растворов
17. Стакан с водой для промывания
18. Стакан для слива использованных растворов
19. Малярный скотч
20. Набор ватных палочек
21. Бумажные салфетки (не указаны на фото)

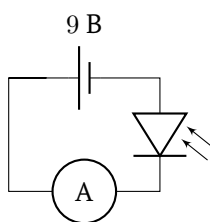
Часть А. Закон Бугера – Ламберта – Бера (3.2 балла)

Оптическая кювета представляет из себя полый параллелипипедический сосуд. На двух параллельных сторонах кюветы присутствуют рельеф, и именно за эти стороны ее следует держать. Просвечивать кюветы следует через стороны без рельефа.

В рамках задачи состояние белка в кювете будет исследоваться оптически: по поглощению света при прохождении через раствор белка. Интенсивность излучения, попадающего на фотодиод, пропорциональна току, текущему через него в обратном направлении. В рамках данной задачи будем измерять интенсивность I в единицах тока (мкА), текущего через фотодиод. Для измерений используйте электрическую схему, изображённую ниже.

В качестве источника напряжения используйте ТОЛЬКО батарейку крона!

Перемешивать содержимое кюветы рекомендуется с помощью шприца: набирать некоторый объем вещества в него, а затем выливать обратно. Этот шприц следует промывать в воде, так как в нем остаются капли последнего исследуемого раствора.



В этой части задачи вам предлагается изучить, как изменяется интенсивность луча лазера I_0 при прохождении через вещество, в котором происходит рассеяние света, то есть потребуются находить коэффициент пропускания $\alpha = I/I_0$, где I – интенсивность луча лазера после прохождения через вещество.

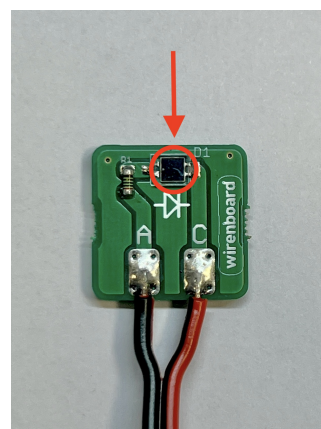
Величины I и I_0 невозможно измерить непосредственно из-за наличия отражений света на границах воздух-кювета, кювета-вода, а также других факторов. Однако можно с хорошей точностью считать, что их отношение $\alpha = I/I_0$ равно отношению интенсивности света, прошедшего через кювету с исследуемым раствором, к интенсивности света, прошедшего через кювету с чистой водой. Учтите, что в отсутствие освещения лазером через фотодиод протекает ненулевой ток, вызванный фоновым освещением.

Чтобы рассеянный раствором свет не влиял на ток в фотодиоде, расположите фотодиод на расстоянии > 20 см от исследуемых кювет.

Вы можете настраивать фокусировку лазера, если крутить головку на нем.

Фраза «снимите зависимость α » означает только получение экспериментальных значений токов, требуемых для расчета значения α .

На рисунке справа представлена лицевая сторона фотодиода. Стрелка указывает на фоточувствительную часть (освещение которой приводит к возникновению тока).



A1 Используя фотографию, укажите на схеме в листе ответов, каким контактам фотодиода соответствует каждый из проводов А, С. **0.1**

Road to IPhO

- A2** Расположите 5 кювет с 2.8 мл воды так, чтобы луч лазера проходил через них и падал на их стенки нормально. Последовательно добавляя в каждую из кювет по 0.1 мл раствора молока, снимите зависимость коэффициента пропускания α от количества кювет N , в которых добавлен раствор молока. Зарисуйте используемую оптическую схему для $N = 3$. **0.5**

Тщательно промойте все кюветы и удалите остатки воды с помощью ватной палочки. От чистоты кювет могут зависеть получаемые значения.

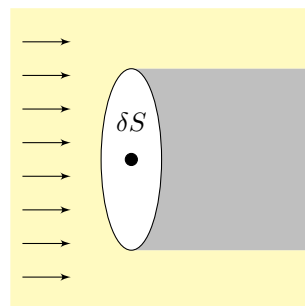
При дальнейших измерениях малые смещения элементов установки могут приводить к **значительным ошибкам** измерений, поэтому перед началом измерений закрепите элементы установки на столе малярным скотчем.

- A3** Расположите одну кювету с 2.8 мл воды так, чтобы луч лазера проходил через ее стенки нормально. Снимите зависимость коэффициента пропускания α от объема ΔV добавленного раствора молока в диапазоне $\Delta V \leq 1$ мл. **0.5**

Расстояние между внутренними гладкими стенками кюветы равно $L_0 = 1.05$ см.

Рассмотрим рассеяние света веществом с теоретической точки зрения. Пусть раствор молока в кювете освещается параллельным пучком света и концентрация мицелл равна n (размерность $1/\text{м}^3$).

Рассмотрим круг площади δS , центр которого совпадает с центром мицеллы. Плоскость круга при этом перпендикулярна направлению распространения пучка света. Будем считать, что весь свет, попавший в круг, полностью рассеивается. Тогда δS называется эффективной площадью рассеяния.



- A4** Пусть на слой раствора молока толщиной L с концентрацией мицелл n падает параллельный пучок света. Выразите коэффициент пропускания α через L , n и эффективную площадь рассеяния δS мицелл. **0.3**

- A5** Линеаризуйте зависимость α от N из пункта A1 и постройте ее график. Определите параметры прямой. **0.7**

- A6** Линеаризуйте зависимость α от ΔV из пункта A2 и постройте ее график. Найдите параметры прямой. **0.8**

Площадь рассеяния δS связана с волновой природой света и описывается формулой Релея для рассеяния света с длиной волны λ на шарике радиуса r :

$$\delta S = \frac{8\pi}{3} \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right)^4 \left(\frac{n_b^2 - n_0^2}{n_b^2 + 2n_0^2} \right)^2 r^6,$$

где λ – длина волны света, n_b – показатель преломления шарика, n_0 – показатель преломления среды, в которой находится шарик. Длина волны лазера $\lambda = 650$ нм, коэффициент преломления мицеллы $n_b = 1.57$, коэффициент преломления воды $n_0 = 1.33$.

- A7** Считая, что радиус мицелл равен $r_0 = 60$ нм, найдите количество молекул P казеина в каждой из них. Молярная масса молекулы казеина равна 23 кг/моль (белок является высокомолекулярным органическим веществом, поэтому имеет гигантскую по меркам неорганических соединений молярную массу). **0.3**

Часть В. Изоэлектрическая точка (4.8 балла)

В этой части предлагается изучить как ведет себя белок в кислой среде. Для упрощения измерений рекомендуется пользоваться следующей методикой измерений.

1. Наберите в кювету 2.8 мл воды.
2. Получите значение I_0 интенсивности света, прошедшего через воду (среду без рассеяния).
3. Добавьте в кювету 0.2 мл раствора молока.
4. Последовательно добавляйте в кювету раствор лимонной кислоты по 0.1 мл, пока объем жидкости в кювете не станет равным 4.0 мл. После каждого добавления кислоты проводите измерения коэффициента поглощения.

Road to IPhO

- После того, как объём жидкости в кювете достиг 4.0 мл, с помощью шприца удалите 1.0 мл содержимого кюветы. Продолжайте увеличивать концентрацию кислоты, добавляя в кювету по 0.1 мл кислоты.
- Предыдущие 2 пункта повторяйте, пока концентрация не достигнет критической концентрации $c_{\text{крит}}$, которая будет описана далее.

После любого изменения состава раствора в кювете перемешивайте его!

Сразу после добавления кислоты запускайте секундомер. Если значение тока устанавливается в течение 1 мин после добавления кислоты, то концентрация кислоты меньше $c_{\text{крит}}$. Если же ток продолжает монотонно меняться по прошествии минуты, то концентрация достигла $c_{\text{крит}}$.

Рассеяние света происходит на хаотично движущихся частицах, что приводит к небольшим флуктуациям тока даже в установившемся режиме.

B1 Снимите зависимость установившегося коэффициента пропускания α от концентрации кислоты в растворе c . Концентрацию c измеряйте в г кислоты на 1 л раствора. **0.9**
При концентрации $c_{\text{крит}}$ измерьте значение α и через 1 мин после добавления порции кислоты и через 20 мин.

Водородный показатель pH – мера кислотности водных растворов.

$$\text{pH} = -\log_{10}([\text{H}^+]),$$

где $[\text{H}^+]$ – концентрация ионов H^+ в молях на литр. Для воды водородный показатель равен 7 и она считается нейтральной средой, pH кислой среды меньше 7, а щелочной больше 7.

Концентрацию $[\text{H}^+]$ можно найти из концентрации лимонной кислоты c (размерность г/л) как решение уравнения

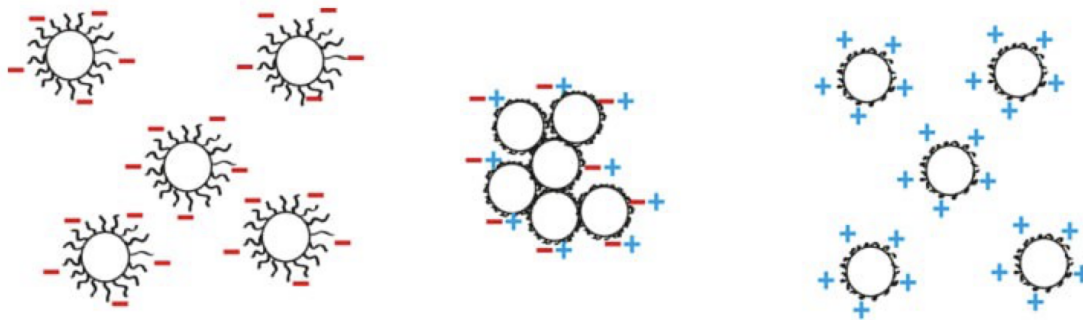
$$c = \left([\text{H}^+] + \frac{[\text{H}^+]^2}{k_1} \right) \cdot 210 \text{ г/моль},$$

где $k_1 = 7.4 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

B2 Пересчитайте ранее полученную зависимость $\alpha(c)$ в $\alpha(\text{pH})$ и постройте ее график. **1.4**

Молекулы белка способны диссоциировать, то есть от них могут отщепляться ионы H^+ или $(\text{OH})^-$. Вследствие этого молекула белка сама становится ионом, то есть приобретает ненулевой заряд. При добавлении кислоты меняется химическое окружение, поэтому заряд иона белка зависит от pH. Таким образом, мицеллы также имеют заряд, зависящий от pH окружения.

Для каждого белка существует значение pH, при котором он электронейтрален. Такое состояние белка называют *изоэлектрическим состоянием*, а соответствующее ему значение pH раствора – *изоэлектрической точкой (ИЭТ)*, обозначаемой pI .



Слева указаны мицеллы при $\text{pH} > \text{pI}$, посередине при $\text{pH} = \text{pI}$ и справа при $\text{pH} < \text{pI}$

В ИЭТ кулоновское отталкивание становится нулевым, и поэтому при $\text{pH} = \text{pI}$ мицеллы начинают «слипаться» по такому же принципу, как отдельные белки объединяются в мицеллы. Среднее количество мицелл, склеившихся в одну, обозначим буквой P .

B3 Определите значение pI . **0.2**

B4 Оцените скорость склеивания мицелл dP/dt сразу после доведения pH раствора до pI . **0.4**

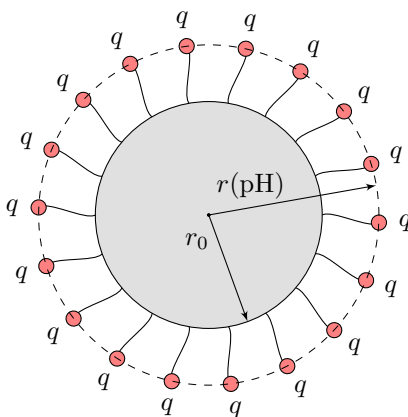
Road to IPhO

Поверхность мицеллы покрыта длинными молекулами κ -казеина, которые несут весь заряд мицеллы, так как именно они находятся в воде и диссоциируют. Для оценки будем считать, что средний заряд каждой молекулы κ -казеина локализован на ее конце и связан с pH следующим соотношением:

$$q = -9.5 \cdot 10^{-4} (10^{\text{pH}} - 10^{\text{pI}}) \cdot e$$

и всего на каждой мицелле до начала процесса склеивания находится $N = 7.5 \cdot 10^3$ молекул κ -казеина.

С механической точки зрения мицелла представляет из себя жесткий шар белка (α , β -казеины) и упругую оболочку из длинных молекул κ -казеина.



B5 Укажите знак заряда мицелл казеина в чистой воде.

0.2

Для молекул κ -казеина можно ввести эффективный коэффициент упругости k . То есть если на конец каждой из молекул κ -казеина в мицелле действует сила F , то радиус мицеллы задается уравнением

$$k(r - r_0) = F$$

Указанная формула может быть неточной для $\text{pH} - \text{pI} > 0.4$.

B6 Постройте линеаризованный график r от pH и из графика оцените значение k .

1.7