

生物化学和分子生物学 习题与计算

陶慰孙等 编译

高等教育出版社

生物化学和分子生物学习题与计算

陶慰孙等 编译

*

高等教育出版社出版

新华书店北京发行所发行

北京印刷一厂印装

•

开本 850×1168 1/32 印张 15.75 字数 381,000

1984年3月第1版 1984年10月第1次印刷

印数 00,001—13,300

书号 13010·0992 定价 2.45 元

目 录

序	1
第一章 酸、碱和缓冲液	高云翔、李惟
第一节 酸、碱和 pH	1
第二节 缓冲液及缓冲容量	9
第三节 离子强度与缓冲液	27
习题	34
第二章 氨基酸、肽和蛋白质	林永齐 李惟
第一节 氨基酸	42
第二节 肽及肽的合成	48
第三节 蛋白质的分离和提纯	51
第四节 蛋白质的分子量	56
第五节 蛋白质的一级结构	70
第六节 蛋白质的构象	81
习题	94
第三章 酶	韩淑珍
第一节 酶的活性部位	109
第二节 酶的催化机制	115
第三节 酶催化反应的动力学	120
习题	175
第四章 代谢与同位素的应用	傅海荣、杨世忱、高云翔
第一节 物质代谢	189
第二节 能量代谢	196
第三节 同位素在生化上的应用	226
习题	280
第五章 核酸与分子遗传学	张德安、李青山
第一节 核酸结构	296
第二节 DNA 的合成与复制	318

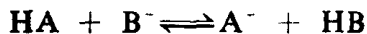
第三节	RNA 的合成、转录与调节	327
第四节	翻译与蛋白质的合成	335
第五节	突变、校正与修复	341
第六节	核酸酶与基因工程	355
习题		359
第六章	生物大分子的光学方法	高云翔、林永齐、张德安
第一节	分光光度法	398
第二节	荧光光度法	421
第三节	旋光、旋光色散和圆二色性	424
习题		429
答案		436
参考文献		477
附表和附录		478

第一章 酸、碱和缓冲液

有关酸、碱的解离以及缓冲液方面的计算是生物化学工作中最基础的计算。任何从事生物化学实验工作的人都离不开酸、碱和缓冲液。在自己设计实验时往往要选用合适的缓冲液以维持实验所需的 pH 条件,但选择得是否合适,这要看缓冲液的容量与反应中所涉及的酸碱实际数量。如果缓冲液的浓度和使用范围选择不当,往往达不到预期的效果。此外,在蛋白质分离、提纯过程中,经常要在缓冲液中加入中性盐(如 NaCl 等)。由于中性盐的加入,溶液的离子强度也随之增大,溶液的离子强度对缓冲液的 pH 也有影响,此时也要计算一下缓冲液的 pH 是否还合乎要求。也有的实验需要改换缓冲液,但要维持其离子强度不变,这时就应该计算不同缓冲液的离子强度,并作适当的调整。

第一节 酸、碱和 pH

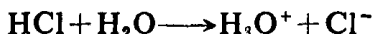
〈酸与碱〉 在实验室中提纯和分离生物大分子时,经常使用各种酸碱溶液,如:盐酸、磷酸、乙酸、氢氧化钠、氢氧化钾等。所谓酸即质子的给体,碱是质子的受体。一个酸分子失去质子就变成了与其相应的共轭碱,这叫作共轭酸-共轭碱对。



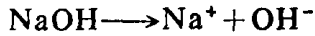
共轭酸I 共轭碱II 共轭碱I 共轭酸II

上式中有两个共轭酸碱对: HA/A⁻, HB/B⁻。

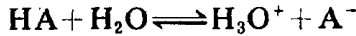
强酸在水溶液中全部解离产生 H₃O⁺, 如盐酸溶液:



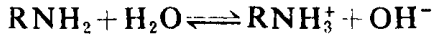
强碱在水溶液中完全解离产生 OH⁻, 如 NaOH 溶液:



弱酸与弱碱在水溶液中只是部分解离, 如弱酸 HA:



如有机碱 R-NH₂ (弱碱):



<pH 与 pOH> pH 与 pOH 是溶液酸碱度的指标。

$$\text{pH} = -\log a_{\text{H}^+} = -\log \gamma_{\text{H}^+} [\text{H}^+] = \log \frac{1}{\gamma_{\text{H}^+} [\text{H}^+]}$$

$$\text{pOH} = -\log a_{\text{OH}^-} = -\log \gamma_{\text{OH}^-} [\text{OH}^-] = \log \frac{1}{\gamma_{\text{OH}^-} [\text{OH}^-]}$$

上式中 a 为活度是溶质有效的或表观的摩尔数。活度与浓度之比为活度系数, 上式中用 γ 表示, 它们之间的关系式为:

$$a = \gamma [M]$$

在稀溶液中活度系数接近“1”, 可以近似地认为活度等于浓度。在 [H⁺] 和 [OH⁻] 浓度大于 0.1M 时必须考虑活度系数的影响:

$$\text{pH} = \log \frac{1}{[\text{H}^+]}$$

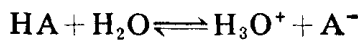
$$\text{pOH} = \log \frac{1}{[\text{OH}^-]}$$

$$\because [\text{H}^+][\text{OH}^-] = K_w = 10^{-14} \quad (K_w: \text{水的离子积, } 25^\circ\text{C})$$

取对数则得:

$$\text{pH} + \text{pOH} = 14$$

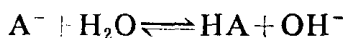
<解离常数 K_a 与 K_b > 弱酸 HA 在水中解离, 其解离常数 K_a 可表示如下:



$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

同样, 共轭碱 A⁻ 溶解于水中, 从水分子接受一个质子, 形成相应

的共轭酸 HA 和 OH^- , 其解离常数以 K_b 表示:



$$K_b = \frac{[\text{HA}][\text{OH}^-]}{[\text{A}^-]}$$

$$\begin{aligned} \therefore K_a \cdot K_b &= \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-][\text{HA}][\text{OH}^-]}{[\text{HA}][\text{A}^-]} \\ &= [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] \\ &= K_w \end{aligned}$$

取对数:

$$-\log K_a - \log K_b = -\log K_w$$

$$\therefore \quad \text{p}K_a + \text{p}K_b = 14$$

若已知一元弱酸弱碱的 K_a 和 K_b , 又知酸碱的初始浓度, 可以求出溶液的 pH

$$\begin{aligned} K_a &= \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = \frac{[\text{H}^+]^2}{[\text{HA}]} \\ [\text{H}^+] &= \sqrt{K_a[\text{HA}]} \end{aligned}$$

取对数:

$$-\log [\text{H}^+] = \frac{-\log K_a - \log [\text{HA}]}{2}$$

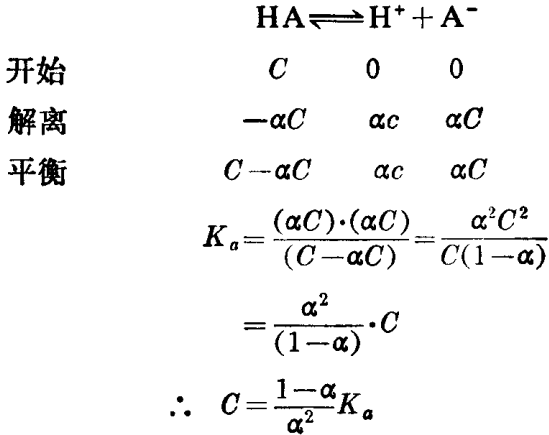
$$\text{pH} = \frac{\text{p}K_a + \text{p}[\text{HA}]}{2}$$

同样, 从弱碱解离也可以得到:

$$\text{pOH} = \frac{\text{p}K_b + \text{p}[\text{A}^-]}{2}$$

上述公式仅在 $[\text{HA}]$ 解离度很小时, 即 $[\text{HA}]$ 的解离并不影响 $[\text{HA}]$ 总浓度时适用。当总浓度 $[\text{HA}]$ 增加时, 其解离度降低, 平衡向左移动; 反之, 当 $[\text{HA}]$ 浓度降低时, 解离度增加, 平衡向右移动。但平衡常数保持不变。也就是说, 当溶液稀释, 制成弱酸弱碱的稀溶液时, 由于解离度发生变化, 就不能认为 $[\text{HA}]$ 保持恒定了。

因此,在计算弱酸弱碱溶液的 pH 值时,必须考虑解离度 α :



例题 1-1 计算下列溶液的氢离子浓度: (a) 血浆, pH 7.4;
(b) 牛奶, pH 6.6; (c) 胃液 pH 1.5。

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

\therefore $7.4 = -\log [\text{H}^+]$

$$\log [\text{H}^+] = -7.4 = -8 + 0.6$$

$$[\text{H}^+] = 10^{-8} \times 3.981 \cong 4 \times 10^{-8} M$$

血浆的氢离子浓度为 $4 \times 10^{-8} M$ 。同样,

$$\log [\text{H}^+] = -6.6 = -7 + 0.4$$

$$[\text{H}^+] = 10^{-7} \times 2.5 = 2.5 \times 10^{-7} M$$

牛奶的 $[\text{H}^+]$ 为 $2.5 \times 10^{-7} M$ 。

$$\log [\text{H}^+] = -1.5 = -2 + 0.5$$

$$[\text{H}^+] = 10^{-2} \times 3.2 = 3.2 \times 10^{-2} M$$

胃液的 $[\text{H}^+]$ 为 $3.2 \times 10^{-2} M$

例题 1-2 $10^{-3} M$ HCl 的 pH 值为 3, 那么 $10^{-8} M$ HCl 溶液的 pH 值是 8, 对吗?

解: 盐酸是强酸, 100% 解离, $10^{-3} M$ 盐酸的氢离子浓度为

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

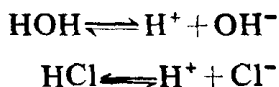
$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+] = 3$$

但 $10^{-8} M$ HCl 溶液的 pH 不是 8, 一个强酸不管如何稀释, 溶液绝不会变成碱性。在这个稀溶液里, 由水提供的 $[\text{H}^+]$ 大于由盐酸提供的 $[\text{H}^+]$, 因此: 第一个近似求法, 由盐酸提供的 H^+ 可忽略不计, pH 值约为 7。

第二个近似的求法, 可以把两个来源的 $[\text{H}^+]$ 加在一起, 求 pH 值。即:

$$\begin{aligned} \text{pH} &= -\log[\text{H}^+] \\ [\text{H}^+] &= 10^{-7} (\text{来自水}) + 10^{-8} (\text{来自盐酸}) \\ \text{pH} &= -\log(1 \times 10^{-7} + 0.1 \times 10^{-7}) \\ &= \log \frac{1}{1.1 \times 10^{-7}} = \log(0.909 \times 10^7) \\ &= 0.959 + 6 \\ \text{pH} &= 6.959 \end{aligned}$$

第三, 第二个答案还不完全准确。因为它假定, 在 $10^{-8} M$ HCl 存在时, 来自水的 $[\text{H}^+]$ 仍是 $10^{-7} M$ 。实际上, HCl 的存在可抑制 H_2O 的解离, 使 $\text{HOH} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$ 平衡向左移动。这个问题的准确答案, 可用下法求得:



$$\begin{aligned} \text{令 } x &= [\text{H}^+]_1 (\text{来自水}) \\ 10^{-8} M \quad [\text{H}^+]_2 & (\text{来自盐酸}) \\ [\text{H}^+] &= x + 10^{-8}, [\text{OH}^-] = x \\ [\text{H}^+][\text{OH}^-] &= 10^{-14} \\ (x + 10^{-8})(x) &= 10^{-14} \\ x^2 + 10^{-8}x - 10^{-14} &= 0 \end{aligned}$$

解一元二次方程

$$x = 9.5125 \times 10^{-8} \quad (\text{负值已舍去})$$

$$[\text{H}^+] = x + 10^{-8} = 9.5125 \times 10^{-8} + 10^{-8} \\ = 10.5125 \times 10^{-8}$$

$$\text{pH} = \log \frac{1}{10.5125 \times 10^{-8}} \\ = 6.978$$

例题 1-3 0.01M 的 HNO_3 溶液, $\text{pH} = 2.08$, 求 (a) 活度 a_{H^+} (b) 活度系数 γ_{H^+}

解: 活度系数 γ 一般小于 1。在这个题目中, 我们决不能假定 $a_{\text{H}^+} = [\text{H}^+]$ 。显然若 $a_{\text{H}^+} = [\text{H}^+]$, pH 应等于 2, 而不是 2.08, 所以 $\gamma \neq 1$ 。

$$(a) \text{pH} = \log \frac{1}{a_{\text{H}^+}}$$

$$2.08 = \log \frac{1}{a_{\text{H}^+}}$$

$$10^{2.08} = \frac{1}{a_{\text{H}^+}}$$

$$120 = \frac{1}{a_{\text{H}^+}}$$

$$a_{\text{H}^+} = 8.3 \times 10^{-3}$$

$$(b) a_{\text{H}^+} = \gamma_{\text{H}^+} [\text{H}^+]$$

$$0.0083 = \gamma_{\text{H}^+} \times 0.01$$

$$\gamma_{\text{H}^+} = 0.83$$

尽管 HNO_3 实际浓度是 0.01M, 但在溶液中好象只有 83% 的 HNO_3 分子解离; 有效或表观浓度 a_{H^+} 是 0.0083M。 HNO_3 实际上是 100% 解离, 但由于离子云的相互作用, H^+ 的活动受阻。换句话说, H^+ 周围 NO_3^- 的屏蔽作用, 使有些 H^+ 好象不存在。

例题 1-4 酸溶液 HA 0.01M, pH 为 3.80, 计算 (a) K_a (b) $\text{p}K_a$

解: (a)

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = \frac{[\text{H}^+]^2}{[\text{HA}]}$$

$$\therefore \text{pH} = 3.80$$

$$\therefore \log [\text{H}^+] = -3.80 = -4 + 0.2$$

$$[\text{H}^+] = 1.585 \times 10^{-4}$$

$$K_a = \frac{(1.585 \times 10^{-4})^2}{0.01} = 2.51 \times 10^{-6}$$

$$(b) \text{p}K_a = -\log K_a = 5.60$$

或者

$$\text{pH} = \frac{1}{2}(\text{p}K_a + \text{p}[\text{HA}])$$

$$\text{p}K_a = 2\text{pH} - \text{p}[\text{HA}]$$

$$= 7.60 - 2 = 5.60$$

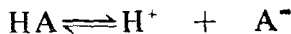
例题 1-5 一个弱酸 HA 的 $K_a = 1.6 \times 10^{-6}$

(a) 求浓度为 $10^{-3}M$ 的溶液 pH 值

(b) 求浓度为 $10^{-3}M$ 时溶液的解离度

(c) 计算 $\text{p}K_a, \text{p}K_b$

解: (a) 令 x 等于解离的 HA 的摩尔数



开始 $10^{-3}M$ 0 0

变化: $-xM$ $+xM$ $+xM$

平衡: $10^{-3}M - xM$ xM xM

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = \frac{x^2}{10^{-3} - x}$$

$$= 1.6 \times 10^{-6}$$

若 x 远小于未解离的酸的浓度 (即当酸的解离度小于 10% 时) 上式可简化成:

$$K_a = \frac{x^2}{10^{-3}} = 1.6 \times 10^{-6}$$

$$x = \sqrt{16 \times 10^{-10}} = 4.0 \times 10^{-5}$$

$$[\text{H}^+] = 4 \times 10^{-5} M$$

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+] = 4.398$$

$$(b) \text{ 解离度} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{HA}]_{\text{起始}}} \times 100\%$$

$$= \frac{4 \times 10^{-5}}{10^{-3}} = 4\%$$

$$(c) \text{p}K_a = -\log K_a = -\log 1.6 \times 10^{-6} = 5.796$$

$$\therefore \text{p}K_a + \text{p}K_b = 14$$

$$\therefore \text{p}K_b = 14 - 5.796$$

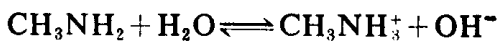
$$= 8.204$$

例题 1-6 甲基胺的 $\text{p}K_b = 3.4$ (25°C) 计算 $0.01M$ 水溶液的 pH 值。

$$\text{解: } \therefore \text{p}K_b = -\log K_b$$

$$\therefore K_b = 3.975 \times 10^{-4} M$$

令平衡



$$(0.01-x)M \qquad \qquad xM \qquad \qquad xM$$

$$\therefore K_b = \frac{[\text{CH}_3\text{NH}_3^+][\text{OH}^-]}{[\text{CH}_3\text{NH}_2]}$$

$$\therefore 3.975 \times 10^{-4} = \frac{x^2}{0.01-x}$$

$$x = 1.8 \times 10^{-3}$$

$$\text{即 } [\text{OH}^-] = 1.8 \times 10^{-3}$$

$$\therefore [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = 10^{-14} (\text{水离子积})$$

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = 5.55 \times 10^{-12} (M)$$

$$\text{即 } \text{pH} = 11.26$$

例题 1-7 电导测定证明 $0.1M$ 的丙酸 (CH_3CH_2COOH) 溶液在 $25^\circ C$ 解离 1.16% 。计算 (a) 酸解离时的解离常数 K_a 。(b) 溶液的 pH 值。(c) 与 $0.1M$ HCl 强酸溶液比较, 酸性弱多少倍?

解:



$$\text{起始:} \quad 0.1M \quad 0 \quad 0$$

$$\text{变化:} \quad -(1.16\% \times 0.1) \quad (1.16\% \times 0.1) \quad (1.16\% \times 0.1)$$

$$= -1.16 \times 10^{-3}M \quad 1.16 \times 10^{-3}M \quad 1.16 \times 10^{-3}M$$

$$\text{平衡:} \quad 0.1 - 1.16 \times 10^{-3}M \quad 1.16 \times 10^{-3}M \quad 1.16 \times 10^{-3}M$$

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = \frac{(1.16 \times 10^{-3})^2}{0.1 - 1.16 \times 10^{-3}}$$

∵ 解离度很小, 在求 K_a 值公式中, 分母的减法可省略, 故:

$$K_a = \frac{(1.16 \times 10^{-3})^2}{0.1} = 1.35 \times 10^{-5}M$$

$$(b) \quad pH = \log \frac{1}{[H^+]} = \log \frac{1}{1.16 \times 10^{-3}} = 2.94$$

(c) $0.1M$ HCl 溶液 100% 解离, 产生 $0.1M$ H^+ , 假定活度系数 $\gamma = 1$, 则:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = \log \frac{1}{10^{-1}} = 1$$

同样浓度的弱酸丙酸的 pH 值比强酸 HCl 溶液 pH 值小 2 个 pH 单位, 即酸性弱 100 倍。

第二节 缓冲液*及缓冲容量

<缓冲液> 缓冲液是维持溶液 pH 值几乎恒定的溶液。当外加少量的 H^+ 或 OH^- 离子时, 溶液的 pH 值不会产生较大的变化。缓冲液一般由两种物质作成, 一种是共轭酸, 一种是共轭碱。

* 本节所指的缓冲液, 实际上是酸碱缓冲液的简称。

酸性缓冲液由弱酸(共轭酸)和弱酸盐(共轭碱)组成; 而碱性缓冲液含有弱碱(共轭碱)和弱碱盐(共轭酸)。比如: 醋酸缓冲液由 HAc 和 NaAc 组成, 而 Tris 缓冲液由共轭碱 Tris⁰ 和共轭酸 Tris⁺ 组成。

缓冲液之所以能维持 pH 值接近恒定, 在于缓冲体系能吸收外加的 H⁺ 或 OH⁻。以醋酸缓冲液为例, 当外加少量 H⁺ 时, H⁺ 与共轭碱 Ac⁻ 结合形成 HAc, 而外加少量 OH⁻ 时, OH⁻ 与共轭酸 HAc 反应, 生成 H₂O 和 Ac⁻。由于共轭酸和共轭碱对外加 H⁺ 和 OH⁻ 的中和作用, 能及时地排除外加酸碱的干扰, 使体系的 pH 值不致于有较大的变化。但是, 此时缓冲液 pH 值并非完全不改变, 只不过是变化较小而已。

若已知弱酸(或弱碱)的 K_a (或 K_b), 利用 Henderson-Hasselbalch 方程很容易计算出溶液的 pH 值。以弱酸 HA 为例, 其解离常数为 K_a , 则:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$$[\text{H}^+] = K_a \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

两端取对数并乘以 -1:

$$-\log [\text{H}^+] = -\log K_a - \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

同样可以得到:

$$\text{pOH} = \text{p}K_b + \log \frac{[\text{R}-\text{NH}_3^+]}{[\text{R}-\text{NH}_2]}$$

若已知 $\text{p}K_a$ 和共轭碱/共轭酸之比就可以求出溶液的 pH 值。反之, 若知溶液的 pH 和 $\text{p}K_a$ 就可以求出共轭碱/共轭酸的比例。

正如前文所述, 当外加 H⁺ 或 OH⁻ 时, 缓冲系统 pH 并非完全

不变, 而是稍有变化, 此变化可用 Henderson-Hasselbalch 方程计算出来。比如: 由弱酸 HA 作为共轭酸, 以 A^- 为共轭碱作成缓冲液, 其浓度各为 $0.01M$, 而 HA 之 K_a 为 10^{-5} , 则:

$$\frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_a$$

$$\therefore \frac{[H^+](10^{-2})}{(10^{-2})} = 10^{-5}$$

其 $[H^+]$ 必然为 $10^{-5}M$ 。即 $pH=5$ 。如果加入 $10^{-3}MH^+$, 假定 $10^{-3}MH^+$ 全部和 A^- 结合成 HA, 则:

$$[HA] = 10^{-2}M + 0.1 \times 10^{-2}M = 1.1 \times 10^{-2}M$$

而 $[A^-]$ 减少:

$$[A^-] = 10^{-2}M - 0.1 \times 10^{-2}M = 0.9 \times 10^{-2}M$$

把 $[HA]$ 和 $[A^-]$ 代入 Henderson-Hasselbalch 方程, 因 K_a 值不变:

$$\frac{(10^{-5})(0.9 \times 10^{-2})}{1.1 \times 10^{-2}} \approx 10^{-5}$$

显然溶液的 H^+ (即 pH) 必然发生变化, 但变化不大:

$$\begin{aligned} pH &= pK_a + \log \frac{0.9}{1.1} \\ &= 5 - 0.087 = 4.913 \end{aligned}$$

<缓冲容量> 所谓缓冲容量就是指一个缓冲体系抗拒 pH 变化的能力。如果加很少量 H^+ 或 OH^- , pH 值就发生明显变化, 此缓冲系统的缓冲容量较低。反之, 加入相当量的 H^+ 或 OH^- 后, 缓冲液的 pH 值仅有微小的变化, 此体系缓冲容量较大。缓冲液的缓冲容量是一个重要问题, 尤其自己设计实验选择缓冲系统时, 如果疏忽了缓冲容量这一环节, 反应系统的 pH 恒定可能得不到保证, 实验也可能因此而失败。从实验经验上得知, 缓冲液的浓度越大, 其缓冲容量越大。 $0.2M$ 的缓冲液比 $0.1M$ 的同一缓冲液抗

拒 pH 变化的能力大, 这是众所周知的, 但缓冲液的浓度加大, 环境的离子强度增大, 有些反应系统对离子强度的大小是有所要求的, 因此不能任意使用高浓度缓冲液以增加缓冲容量。另外, 从弱酸弱碱的滴定曲线 (pH 对 $[\text{OH}^-]$ 或 $[\text{H}^+]$ 作图) 中可见在 $\text{pH} = \text{p}K_a$ 时, pH 变化最平稳, 即滴定曲线的斜率最小, 所以对同一缓冲液来讲在 $[\text{H}^+] = K_a$ 附近使用时容量较大。如图 1-1 所示。

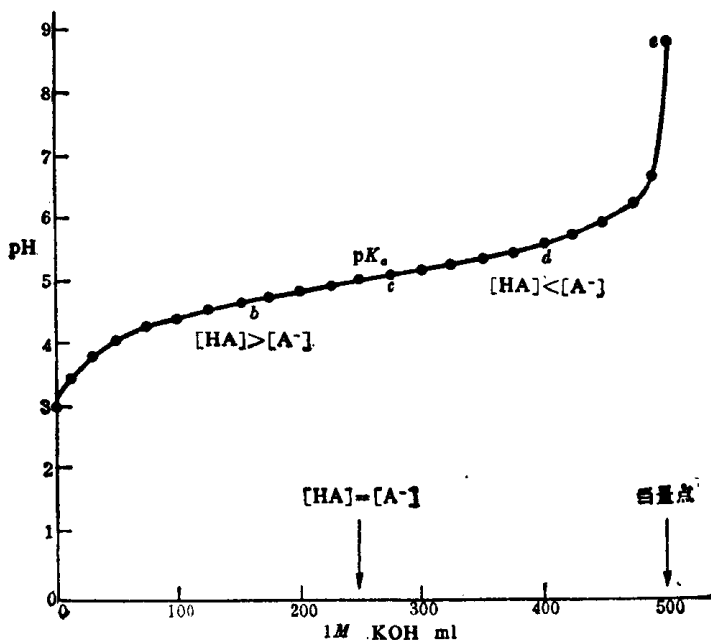


图 1-1 强碱滴定弱酸 $\text{p}K_a = 5.0$, 开始时 $[\text{HA}] = 0.1$

上述结论也可以通过计算得到。总之, 缓冲液的容量可以这样定义: 使每升某缓冲液发生给定的 pH 变化 (例如 1 个 pH 单位) 所需的 H^+ 或 OH^- 离子的摩尔数。我们以 β 表示缓冲液容量的瞬时值, 实际上 β 是滴定曲线上任一点斜率的倒数。其数学表达式为:

$$\beta = \frac{d[\text{A}^-]}{d\text{pH}} = -\frac{d[\text{H}^+]}{d\text{pH}}$$

利用 Henderson-Hasselbalch 方程 可以得到弱酸 HA 及其共轭碱 A^- 所组成的缓冲溶液的 β 表达式:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

设缓冲液的总浓度为 C , 即 $[C] = [A^-] + [HA]$, 则:

$$\begin{aligned} pH &= pK_a + \log \frac{[A^-]}{([C] - [A^-])} = pK_a + \log [A^-] \\ &\quad - \log ([C] - [A^-]) = pK_a + \frac{\ln [A^-]}{2.3} \\ &\quad - \frac{\ln ([C] - [A^-])}{2.3} \end{aligned}$$

对 $[A^-]$ 微分:

$$\begin{aligned} \frac{dpH}{d[A^-]} &= \frac{1}{2.3[A^-]} + \frac{1}{2.3([C] - [A^-])} \\ &= \frac{[C]}{2.3[A^-]([C] - [A^-])} \end{aligned}$$

$\therefore d[A^-]$ 与 $d[H^+]$ 是一样的, 所以:

$$\frac{d[H^+]}{dpH} = \frac{2.3[A^-]([C] - [A^-])}{[C]} = \beta$$

或者
$$\beta = \frac{2.3[A^-][HA]}{[A^-] + [HA]}$$

或者以 K_a 表示 β 值

$$\therefore K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

$$[HA] = \frac{[H^+][A^-]}{K_a} = \frac{[H^+]([C] - [HA])}{K_a}$$

$$\begin{aligned} K_a[HA] &= [H^+]([C] - [HA]) \\ &= [H^+][C] - [H^+][HA] \end{aligned}$$

$$[HA] = \frac{[H^+][C]}{K_a + [H^+]}$$