

## Øvelser om aminosyrer og peptider

### Øvelse 2

Identifikation af et aminosyrehydrochlorid

#### Formål

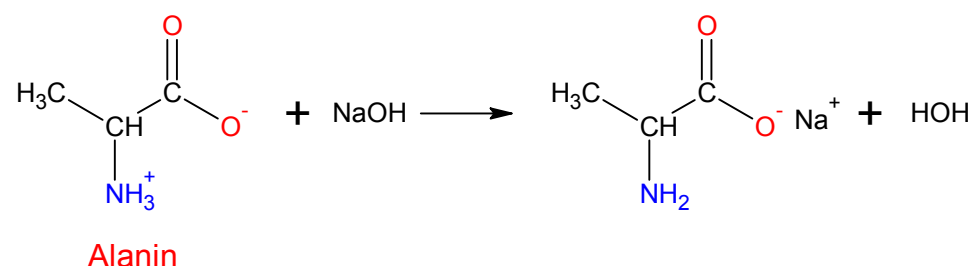
Forsøgets formål er at undersøge et af tre forskellige aminosyrehydrochlorider, som udleveres til klassen. Identifikationen baseres på titrering med natriumhydroxid, idet både  $pH$  og konduktiviteten måles. Herefter kan  $pK_s$  og  $pH_{iso}$  aflæses af titrerkurven, og den molare masse beregnes.

#### Kemikalier og apparatur

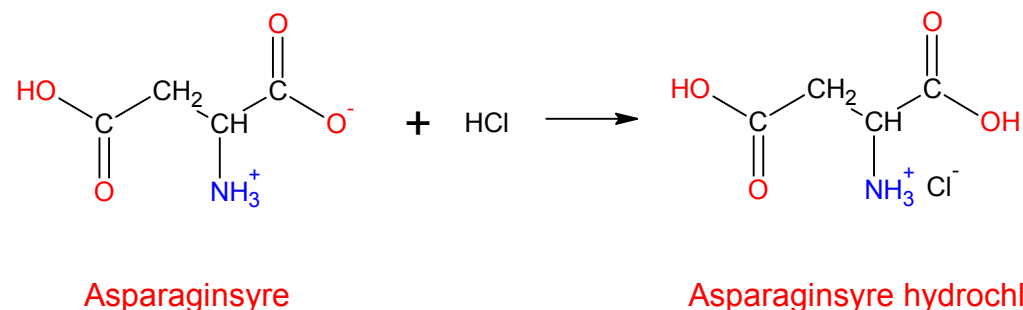
Aminosyrehydrochlorid fx L-argininhydrochlorid, L-glutaminsyrehydrochlorid eller L-histidinmonohydrochlorid, monohydrat, 0,100 M NaOH, 50 mL burette,  $pH$ -meter, ledningsevнемåler, magnetomrører, 100 mL bægerglas, demineraliseret vand til ledningsevнемåling.

#### Teori

Hvis en aminosyre bringes til at reagere med natriumhydroxid, dannes et natriumsalt:



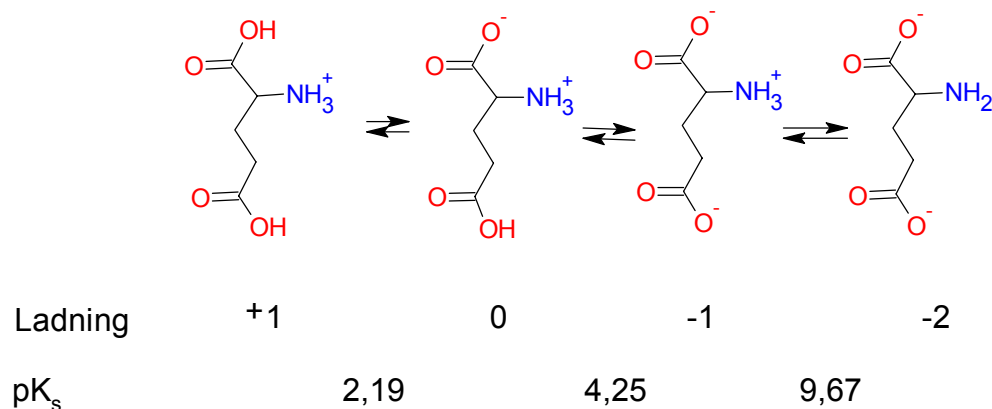
Hvis en aminosyre bringes til at reagere med saltsyre, dannes et aminosyrehydrochlorid:



Aminosyrehydrochloridet er velegnet at undersøge, da aminosyremolekylet forefindes med positiv ladning fra starten. Herved kan man ved base-tilsætning omdanne molekylet til dets forskellige former bl.a. passere man det isoelektriske punkt.

Som eksempel betragtes glutaminsyre. Den indeholder to syrergrupper og kaldes en sur aminosyre. Stoffet kan, afhængig af  $pH$ , optræde som fire forskellige ioner:

### Glutaminsyre



Aminosyremolekylets ladning ændres under titreringen, idet den er +1 før, 0 ved og -1 efter det isoelektriske punkt. Aminosyrens bidrag til konduktiviteten varierer derfor med  $pH$ . (Vi vælger at se bort fra  $Na^+$ -ionernes bidrag til konduktiviteten ved efterbehandlingen). Afbildes  $pH$  og konduktivitet i samme koordinatsystem, som funktion af mL tilsat 0,100 M NaOH, angiver minimum på konduktivitetskurven eller "knækkene" (da  $Na^+$ -ionernes bidrag jo ikke er modregnet) på kurven omtrent, hvor  $pH_{iso}$  kan findes på titrerkurven. Man kan så afgøre, om det er en sur, en neutral eller en basisk aminosyre man undersøger.

For en sur aminosyre - her glutaminsyre - findes  $pH_{iso}$  ved det første ækvivalenspunkt, og det gælder at:

$$pH_{iso} = \frac{1}{2}(pK_s(\alpha\text{-COOH}) + pK_s(\gamma\text{-COOH}))$$

Da de to  $pK_s$ -værdier ligger meget tæt, identificeres det første ækvivalenspunkt lettest ved, at det ligger midt imellem start og det andet ækvivalenspunkt, som er tydeligt markeret.

Man kan vise at for en neutral aminosyre findes  $pH_{iso}$  også ved det første ækvivalenspunkt, som middelværdien mellem  $pK_s(\alpha\text{-COOH})$  og  $pK_s(\alpha\text{-NH}_3^+)$ .

For dihydrochloridet af en basisk aminosyre findes  $pH_{iso}$  ved det andet ækvivalenspunkt. For monohydrochloridet findes  $pH_{iso}$  ved det "første" ækvivalenspunkt på grafen, og findes også her som middelværdien af  $pK_s(\alpha\text{-NH}_3^+)$  og  $pK_s(R\text{-gruppen})$ .

## Forsøgsbeskrivelse

Der afvejes nøjagtigt ca. 0,2 g af det udleverede aminosyrehydrochlorid, som kommes i et 100 mL bægerglas sammen med 40 mL demineraliseret vand (konduktiviteten ( $\kappa$ ) må højst være 5  $\mu\text{S/cm}$ ). Konduktiviteten og  $pH$  måles og der titreres med 0,100 M NaOH (magnetomrøring).  $pH$  og konduktiviteten aflæses for hver 1 mL tilsat titrator, idet hyppigere aflæsninger dog foretages omkring ækvivalenspunkterne. Titreringen stoppes, når  $pH = 12$ .

## Efterbehandling

- 1) Opskriv strukturformlerne for de tre mulige aminosyrer og tilsvarende aminosyrehydrochlorider, som klassen arbejder med. Find de respektive  $pK_s$ -værdier i Databogen. Udregn den forventede værdi af  $pH_{iso}$  i hver af de tre tilfælde. Bestem også den molare masse af aminosyrerne og af aminosyrehydrochloriderne (se skema på bilag).
- 2) Afbild  $pH$  og konduktivitet som funktion af mL tilsat 0,100 M NaOH i et passende graftegningsprogram (FPro er velegnet, da man her kan aflæse punkterne på kurven direkte).
- 3) Find de relevante ækvivalenspunkter, og aflæs  $pH_{iso}$  på titrerkurven. Aflæs også  $pK_s$ -værdierne og forklar, hvordan du gør.
- 4) Udfra den afvejede mængde aminosyrehydrochlorid og det antal mol base, der medgår til titrering af en carboxylsyregruppe (eller aminogruppe/R-gruppe), beregnes molarmassen.
- 5) Hvis muligt beregnes ækvivalentmassen, som massen af afvejet aminosyrehydrochlorid divideret med det antal mol base der medgår til fuldstændig titrering. (Kontroller at det passer med molarmassen).
- 6) Udfra dine oplysninger, og din viden om de mulige aminosyrehydrochlorider, ønskes dit stof identificeret.
- 7) Konstruer et Bjerrumdiagram (også i et graftegningsprogram) for aminosyren, og angiv en formel for syren i hvert af de forskellige områder af diagrammet. Marker  $pH_{iso}$  på diagrammet.
- 8) Brug programmet " $pH$ " til at tegne teoretiske titrerkurver for de forskellige aminosyrer. Kommenter kurverne i forhold til titrerkurven for dit aminosyrehydrochlorid.

.

## Bilag til efterbehandling af resultater

**Masse aminosyrehydrochlorid afvejet:** \_\_\_\_\_

[illegible]

**Bilag til efterbehandling af resultater**  
*Opskriv strukturformler for de aktuelle stoffer:*  
**Glutaminsyre**

**Glutaminsyre-hydrochlorid**

**Histidin**

**Histidin-monhydrochlorid,  
monohydrat**

**Arginin**

**Arginin-hydrochlorid**

Aminosyre	Glutaminsyre	Histidin	Arginin
Molekylformel			
Molarmasse g/mol			
Tabelværdier			
$pK_s$ ( $\alpha$ -COOH)			
$pK_s$ ( $\alpha$ -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )			
$pK_s$ (R-gruppe)			
$pH_{iso}$			
Målte værdier			
$pK_s$ ( $\alpha$ -COOH)			
$pK_s$ ( $\alpha$ -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )			
$pK_s$ (R-gruppe)			
$pH_{iso}$			
<b>Hydrochlorid</b>	<b>Glutaminsyre-</b>	<b>Histidin-</b>	<b>Arginin-</b>
Molekylformel			
Molarmasse g/mol (teori)			