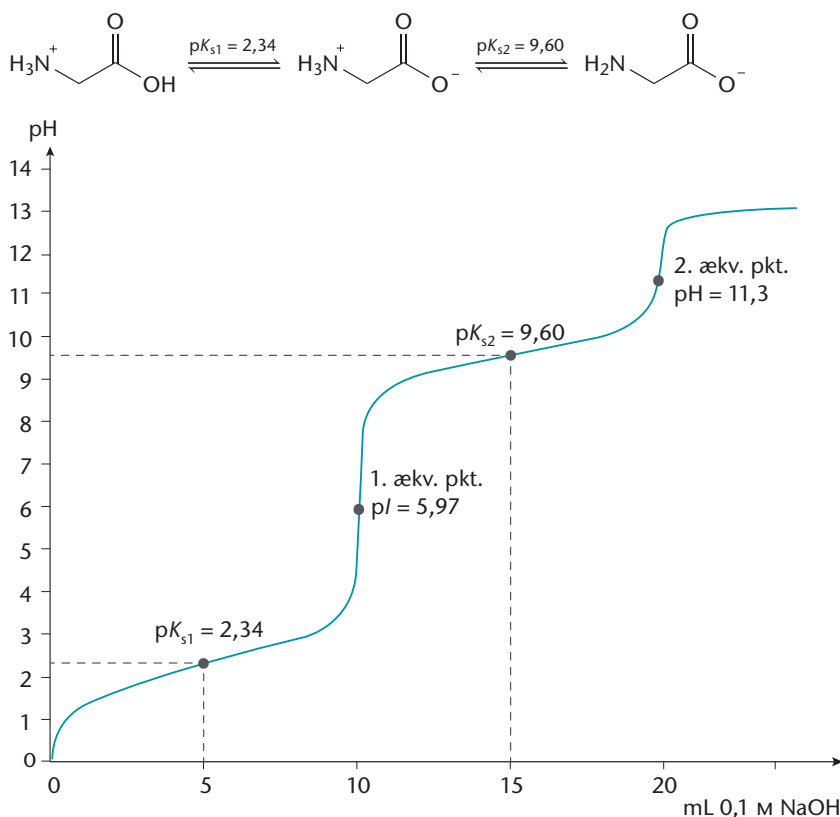




## Identifikation af ukendt aminosyre

Alle aminosyrer er amfolytter. Det betyder at de har syre-baseegenskaber da de indeholder mindst én aminogruppe og én carboxylsyregruppe der kan hhv. optage og afgive en hydron. Den form af aminosyren der er til stede i en vandig opløsning, afhænger derfor af pH-værdien af opløsningen.

I dette eksperiment er formålet at identificere en ukendt aminosyre ved syre-basetitrering.



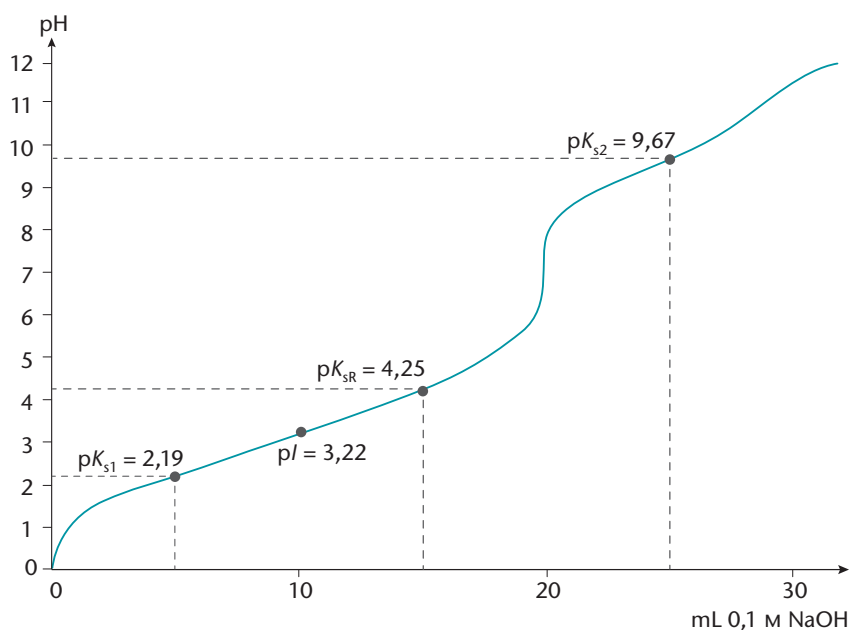
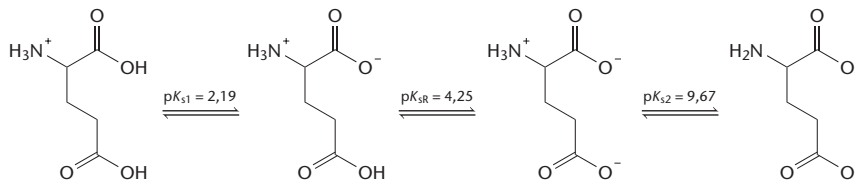
Figur 1. Titrering af 10 mL 0,1 M glycine.

Titration curves for amino acids are very useful for identification. As shown in the example with glycine in figure 1, a simple amino acid is a dihydrogen acid that at low pH can release a proton from its carboxyl group and at high pH can release another proton from its charged amino group. The two corresponding  $pK_s$  values can be determined from the two half-equivalence points that appear on the titration curve. The diagram also shows that there is a point on the curve where the amino acid behaves as an amphoteric ion with a net charge of zero. This point on the titration curve is the isoelectric point  $pI$ , and it can be calculated as the average of the two  $pK_s$  values:

$$pI = \frac{1}{2}(pK_{s1} + pK_{s2})$$



Nogle aminosyrer har sidekæder med syre-baseegenskaber. Disse aminosyrer har derfor tre  $pK_s$ -værdier hvilket bl.a. er beskrevet for glutamat (glutaminsyre) side 289-290 i bogen. Det giver også mere komplekse titreringskurver, se figur 2.



Figur 2. Titreringskurve for titrering af 10 mL 0,1 M glutamat (glutaminsyre) med 0,1 M NaOH.

For aminosyrer med sure sidekæder vil der være to  $pK_s$ -værdier i det sure område og én  $pK_s$ -værdi i det basiske område. Det isoelektriske punkt beregnes da som gennemsnittet af  $pK_s$ -værdierne i det sure område, da de ved denne værdi vil have en samlet nettoladning på -1:

$$pI = \frac{1}{2}(pK_{s1} + pK_{sR})$$

For aminosyrer med basiske sidekæder forholder det sig lige omvendt. Her ligger der to  $pK_s$ -værdier i det basiske område, og  $pI$  beregnes som et gennemsnit af disse, da de ved denne værdi vil have en samlet nettoladning på +1:



Titreringskurver kan derfor anvendes til identifikation af aminosyrer idet:

1. Antallet af  $pK_s$ -værdier adskiller polære og ikke-polære aminosyrer fra aminosyrer med sure eller basiske sidekæder.
2. Beliggenheden af  $pK_s$ -værdien for en sidegruppe gør det muligt at adskille aminosyrer med sure sidekæder fra aminosyrer med basiske sidekæder.
3. Sammenligninger mellem eksperimentelle  $pK_s$ -værdier og tabelværdier gør det muligt at identificere en specifik aminosyre.

Hver gruppe får udleveret en vandig opløsning af aminosyren glycine samt én eller flere opløsninger med ukendte aminosyrer. Arbejdet tilrettelægges derefter med udgangspunkt i den beskrevne metode. Der kan med fordel udarbejdes et flowdiagram der beskriver fremgangsmåden i laboratoriet. Se beskrivelse af flowdiagram i nedenstående link:

[https://www.nucleus.dk/files/docs/l-gang-med-kemi/suppl-mat\\_igmk-kap0-eksperimenteltarbejdeikemi\\_v1-1.pdf](https://www.nucleus.dk/files/docs/l-gang-med-kemi/suppl-mat_igmk-kap0-eksperimenteltarbejdeikemi_v1-1.pdf)

## Materialer

- 0,100 M opløsninger af ukendte aminosyrer, pH = 7
- 0,100 M opløsning af glycine, pH = 7
- 0,100 M natriumhydroxid – NaOH(aq)
- 0,100 M saltsyre – HCl(aq)
- pH-elektrode med tilhørende udstyr til dataopsamling
- Puffere til kalibrering
- Demineraliseret vand
- Konisk kolbe (250 mL)
- Måleglas (100 mL)
- Fuldpipette (10 mL) med pipettebold
- Stativ med 2 klemmer
- Burette
- Lille tragt
- Magnetomrører + magnet
- Engangspipetter

## Metode

1. Anbring en burette i et stativ. Fyld buretten med 0,100 M NaOH og nulstil den.
2. Afmål 40 mL demineraliseret vand i måleglasset, og overfør det til en 250 mL konisk kolbe.
3. Overfør med fuldpipette 10,0 mL 0,1 M aminosyreopløsning til den koniske kolbe med vand.
4. Tilslut pH-elektrode til dataopsamlingsudstyr og kalibrer pH-elektroden vha. puffere.
5. Spænd pH-elektroden op i stativet.
6. Put en magnet i kolben, og anbring den på en magnetomrører under buretten og med pH-elektroden anbragt i opløsningen, så magneten kan dreje frit uden at ramme pH-elektroden.
7. Justér pH til 1,5 med 0,1 M HCl.
8. Titrer opløsningen i kolben med natriumhydroxid fra buretten. Notér sammenhørende værdier af volumen HCl og pH. Når et ækvivalenspunkt nærmer sig, titreres dråbevis.



9. Fortsæt herefter titreringen, først med enkelte dråber, derefter med større voluminer, indtil et nyt ækvivalenspunkt nærmere sig.
10. Titreringen fortsættes til pH er ca. 13.
11. Gentag titreringen 1-2 gange med samme prøve, dog med følgende modifikationer:
  - a. Hvis titreringen tyder på overlappende toppe for den ukendte aminosyre ved høj pH, startes titreringen ved pH på ca. 7, og der titreres med forholdsvis små voluminer.
  - b. Hvis titreringen tyder på overlappende toppe for den ukendte aminosyre ved lav pH, startes titreringen ved pH på ca. 7, og der titreres i stedet med 0,1 M HCl med forholdsvis små voluminer.

### Efterbehandling

1. Fremstil titreringskurver fra de forskellige titreringer, og markér ækvivalenspunkter og halvækvivalenspunkter.
2. Angiv de eksperimentelt bestemte  $pK_s$ -værdier.
3. Argumenter for hvordan  $pI$  skal beregnes, og vis beregningen.
4. Sammenlign de eksperimentelle værdier med tabelværdier, og identificer på det grundlag de titrerede aminosyrer.
5. Diskuter fejlkilder i eksperimentet. Hvilke fejlkilder er der ved bestemmelse af ækvivalenspunkter og halvækvivalenspunkter, og hvorfor afviger resultatet mellem titreringer af samme aminosyre?
6. Lav en konklusion på eksperimentet. Tag herunder stilling til om formålet med eksperimentet er opfyldt.