

Bestimmung des isoelektrischen Punkts verschiedener Aminosäuren mit Cobra4 (Artikelnr.: P4120160)

Curriculare Themenzuordnung



Schwierigkeitsgrad



Schwer

Vorbereitungszeit



10 Minuten

Durchführungszeit



50 Minuten

empfohlene Gruppengröße



2 Schüler/Studenten

Zusätzlich wird benötigt:

- PC
- Phenylalanin
- Prolin
- Serin

Versuchsvarianten:

Schlagwörter:

Starke und schwache Säuren, starke und schwache Basen, Isoelektrischer Punkt, Säurehaltige Anionen, Basiskationen, Zwitterione, Äquivalenzpunkt (Flexion), pKs-Wert, pKB-Wert, Titration

Übersicht

Kurzbeschreibung

Verwandte Begriffe

Starke und schwache Säuren, starke und schwache Basen, Isoelektrischer Punkt, Säurehaltige Anionen, Basiskationen, Zwitterione, Äquivalenzpunkt (Flexion), pKs-Wert, pKB-Wert, Titration

Prinzip

In diesem Versuch werden die Aminosäuren Glycin, Prolin, Phenylalanin und Serin mittels pH-Wert-Titration untersucht. Durch Ansäuerung mit Salzsäure und die anschließende Titration mit 1 M Natronlauge werden die Carbonyl- und Aminogruppen der Aminosäuren ionisiert, wodurch sie am 1. Äquivalenzpunkt als Zwitterion und am 2. ÄP als Monoanion der jeweiligen Aminosäure vorliegen. Dadurch ist eine Vergleichbarkeit der sehr unterschiedlich aufgebauten Aminosäuren erreichbar. Weiterhin lässt sich der Vorgang bei einer Titration auf molekularer Ebene nachvollziehen und die Gemeinsamkeiten aufzeigen.

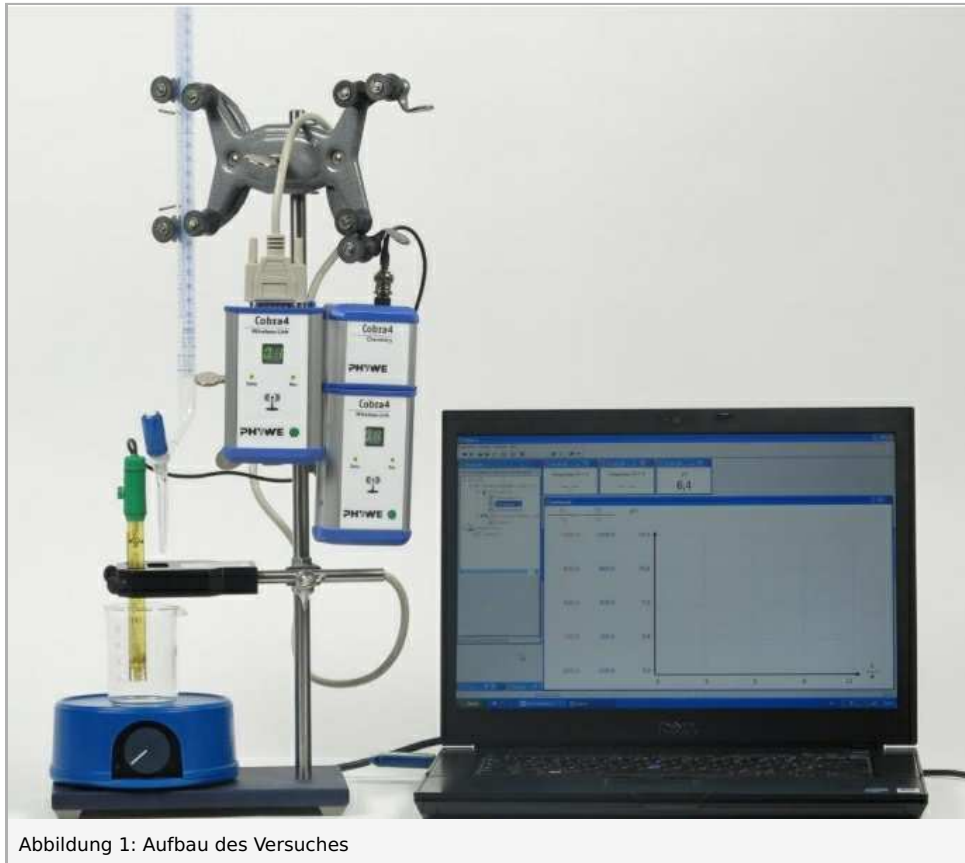


Abbildung 1: Aufbau des Versuches

Material

| Position | Material | Bestellnr. | Menge |
|----------|---|------------|-------|
| 1 | Cobra4 Wireless/USB-Link, inkl. USB-Kabel | 12601-10 | 2 |
| 2 | Cobra4 Sensor-Unit Drop Counter, Tropfenzähler | 12636-00 | 1 |
| 3 | Cobra4 Sensor-Unit Chemistry, pH und 2 x Temperatur NiCr-Ni | 12630-00 | 1 |
| 4 | pH-Elektrode, Kunststoff, Gelfüllung, BNC-Stecker | 46265-15 | 1 |
| 5 | USB-Ladegerät für Cobra4 Mobile-Link 2 und Wireless/USB-Link | 07932-99 | 2 |
| 6 | Halter für Cobra4 mit Stativstange | 12680-00 | 2 |
| 7 | Magnetrührer ohne Heizung für 3 Liter, 230 V | 35761-99 | 1 |
| 8 | Bürette mit seitlichem Normschliffhahn, 50 ml, Teilung 0,1 ml | 47151-01 | 1 |
| 9 | Magnetrührstäbchen 30 mm, zylindrische Form | 46299-02 | 1 |
| 10 | Messpipette 5 ml, Teilung 0,1 ml | 36599-00 | 1 |
| 11 | Uhrglasschale, d = 60 mm | 34570-00 | 1 |
| 12 | Pipettierball, Standardmodell (bis 10 ml), 3 Ventile | 47127-01 | 1 |
| 13 | Spritzflasche, 500 ml, Kunststoff | 33931-00 | 1 |
| 14 | Becherglas BORO 3.3, 100 ml, niedrige Form | 46053-00 | 1 |
| 15 | Becherglas DURAN®, hohe Form, 50 ml | 36001-00 | 3 |
| 16 | Messkolben 50 ml, NS 12/21 | 36547-00 | 4 |
| 17 | Trichter, Oben-d = 60 mm, Boro3.3 | 34458-00 | 1 |
| 18 | Löffelspatel, Stahl, l = 150 mm | 33398-00 | 1 |
| 19 | Präzisionswaage, Sartorius ENTRIS623-1S, 620 g / 0,001 g | 49294-99 | 1 |
| 20 | Pufferlösung pH 4,01, 1000 ml | 46270-12 | 1 |
| 21 | Pufferlösung pH 10,01, 1000 ml | 46272-12 | 1 |
| 22 | Natriumhydroxidlösung, 1,0M, 1000 ml | 48329-70 | 1 |
| 23 | Salzsäure, 1,0 mol/l, 1000 ml | 48454-70 | 1 |
| 24 | Glycin (Glykokoll) 100 g | 31341-10 | 1 |
| 25 | Wasser, destilliert 5 l | 31246-81 | 1 |
| 26 | Bürettenklemme mit 1 Rollenhalter | 37720-01 | 1 |
| 27 | Bunsenstativ, 210 x 130 mm, h = 500 mm | 37692-00 | 1 |
| 28 | Doppelmuffe -Kreuzklemme- | 37697-00 | 2 |
| 29 | Software measure Cobra4, Mehrfachlizenz | 14550-61 | 1 |



Aufgaben

- Bestimmung des isoelektrischen Punkts durch Aufzeichnung der Titrationskurve für verschiedene Aminosäuren.
- Nehmen Sie die Titrationskurven von verschiedenen Aminosäuren auf und erklären Sie die einzelnen Abschnitte.
- Arbeiten Sie die Unterschiede und Gemeinsamkeiten der Aminosäuren heraus.

Sicherheitshinweis

Beim Umgang mit Chemikalien sollten geeignete Schutzhandschuhe, Schutzbrille und geeignete Kleidung getragen werden. Im Anhang werden detailliertere Angaben zu den einzelnen Chemikalien gemacht.



| Gefahrensymbol, Signalwort | Gefahrenhinweise | Sicherheitshinweise |
|--|--|--|
| Wasser | | |
| - | | |
| Glycin | | |
| - | - | - |
| Phenylalanin | | |
| - | - | - |
| Serin | | |
| - | - | - |
| Prolin | | |
| - | - | - |
| Salzsäure | | |
|  Gefahr | H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden. H335: Kann die Atemwege reizen. | P261: Einatmen von Staub/ Rauch/ Gas/ Nebel/ Dampf/ Aerosol vermeiden. P280: Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. P310: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. |
| Natronlauge | | |
|  Gefahr | H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden. | P280: Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. P310: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. |

Aufbau und Durchführung

Aufbau

- Der Versuch wird nach Abbildung 1 aufgebaut. Das bedeutet, dass sowohl der Drop-counter als auch die pH-Sonde über jeweils einen Wireless-Link und einen Wireless-Manager mit dem Computer verbunden werden. Das Becherglas wird auf dem Magnetrührer positioniert und alles so aufgestellt, dass sowohl die pH-Sonde als auch die Bürettenspitze durch den Tropenzähler in das Becherglas zielen.
- 50 mL einer angesäuerten Aminosäurelösung ($c_{\text{HCl}} = c_{\text{Aminosäure}} = 0,1 \text{ mol/L}$), wird hergestellt. Hierfür werden nacheinander 0,378 g Glycin, 0,826 g Phenylalanin, 0,576 g Prolin und 0,525g Serin abgewogen und über einen Trichter jeweils in einen Messkolben gefüllt.
- 5 mL von der 1 M Salzsäure in die Messkolben hinzugeben und anschließend bis auf 50 mL auffüllen.
- Die Aminosäuren sollten vollständig gelöst vorliegen.
- Nun wird das Magnetrührstäbchen in das Becherglas (100 mL) gegeben, der Inhalt eines der Messkolben hinzugefügt, auf den Magnetrührer gestellt und der Magnetrührer angestellt.
- Die Bürette wird über einen Trichter mit 20 mL 1 M Natronlauge befüllt. Davor muss überprüft werden, ob der Hahn der Bürette geschlossen ist.

Durchführung

- PC und Betriebssystem Windows starten.
- Cobra4 Wireless Manager in die USB-Schnittstelle des PCs stecken.
- Softwarepaket measure am PC starten.
- Die Cobra4 Sensor-Unit Chemistry wird auf den Cobra4 Wireless-Link befestigt und mit der pH-Elektrode verbunden.
Tip: Alternativ zur Sensor-Unit Chemistry kann auch die Sensor-Unit pH verwendet werden.
- Der Drop-Counter wird mit dem zweiten Cobra4 Wireless-Link verbunden.
- Die beiden Wireless-Links einschalten und warten bis das Programm die Messsensoren erkennt und über die Drop Counter Übersicht „unbekanntes Titrationsvolumen“ anwählen (siehe Abbildung 2).

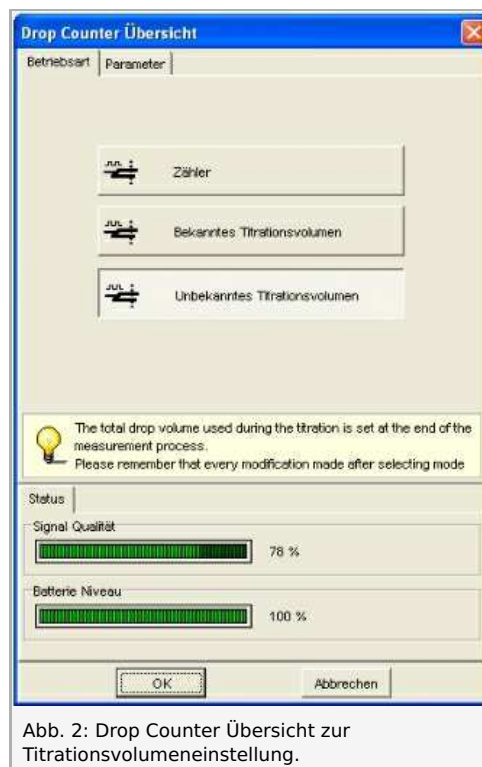


Abb. 2: Drop Counter Übersicht zur Titrationsvolumeneinstellung.

- Den Virtuellen Kanal für die Bestimmung des Volumens legt das Programm eigenständig an.
- Bevor der Versuch gestartet wird, werden die Temperatureingänge der Cobra4 Sensor-Unit Chemistry deaktiviert. Dazu wird im „Navigator“ nacheinander „Temperatur T1“ und „Temperatur T2“ angewählt und diese auf „Inaktiv“ umgeschaltet, indem das Aktiv-Feld angewählt wird (siehe Abbildung 3).

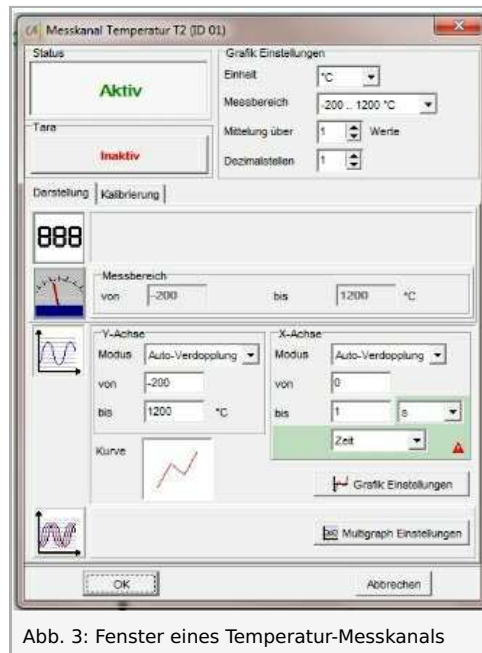
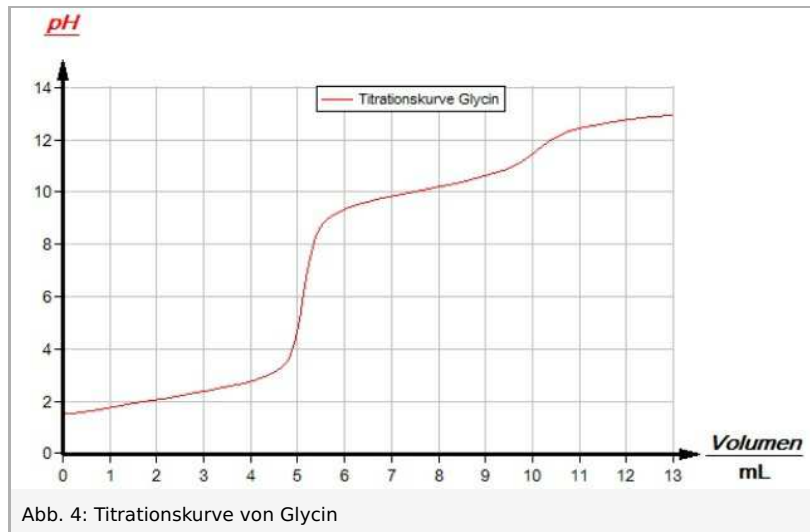


Abb. 3: Fenster eines Temperatur-Messkanals

- Die Messwertaufnahme starten in measure (●), nun wird die Titration begonnen indem der Hahn an der Bürette ganz vorsichtig geöffnet wird. Es sollte langsam getropft werden, maximal ein Tropfen pro Sekunde.
- Nach Beendigung der Titration wird die Messwertaufnahme gestoppt (■).
- In das erscheinende Fenster wird die Menge der verbrauchten Natronlauge eingegeben und bestätigt.
- Nachdem der Graph angezeigt wird, dauert es einen Moment, bis das Programm die Daten berechnet hat und die y-Achse angeglichen werden kann (durch einen Klick auf die Abbildung).
- Nun können in measure die pH-Werte gegen das Volumen aufgetragen werden (Kopieren der Daten aus der berechneten Tabelle → in measure → Messung → Messwerte importieren ...)
- Mit einem Doppelklick auf den Graphen können die Achsenbeschriftungen angepasst werden.

Beobachtungen und Ergebnisse

Abbildung 4 zeigt den Verlauf der Titration von Glycin. Analog hierzu sind auch die Kurven von Prolin, Serin und Phenylalanin aufgenommen worden. Diese sind vollständig ausgewertet in den Abbildungen 10, 11, 12 und 13 zu sehen.

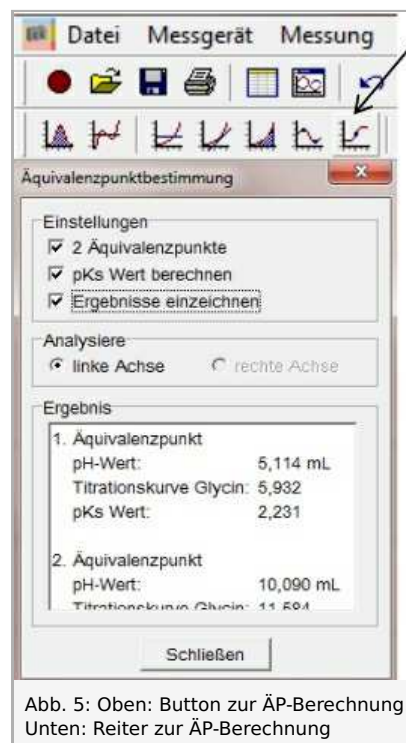


Auswertung

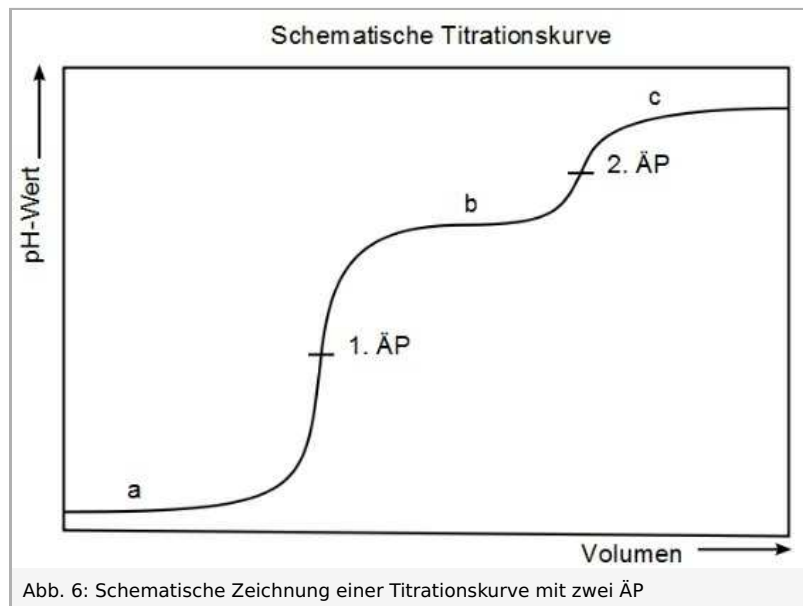
Folgende Punkte der Kurve sollen beschriftet werden:

- 1. pK_S -Wert
- 1. Äquivalenzpunkt (1. ÄP)
- 2. pK_S -Wert
- 2. Äquivalenzpunkt (2. ÄP)

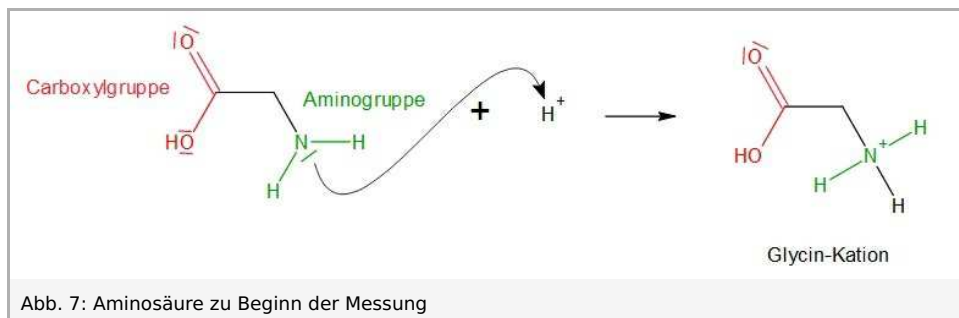
Dazu wird in der Auswahlleiste der Button für die Äquivalenzpunktbestimmung angeklickt (siehe Pfeil in Abbildung 5), anschließend werden alle Möglichkeiten angewählt und das Fenster geschlossen (Abbildung 5).



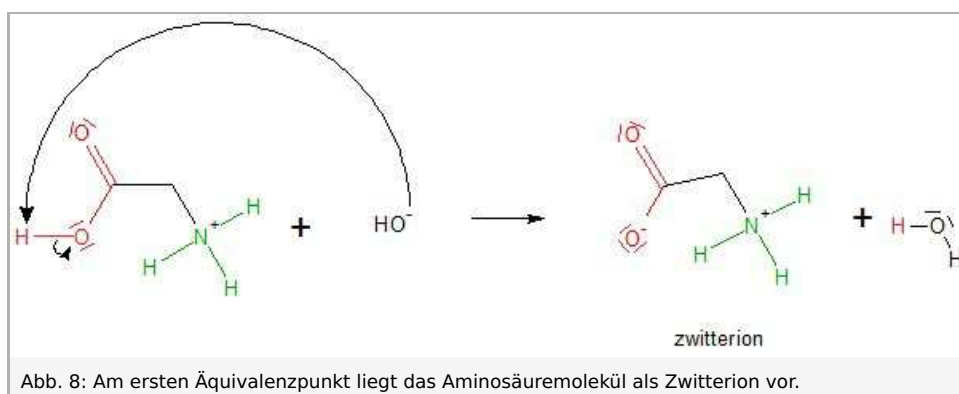
Im Folgenden soll eine Titrationskurve mit zwei Äquivalenzpunkten am Beispiel von Glycin erklärt werden.



Zu Beginn der Messung liegt die Aminosäure in saurem Milieu vor. Durch diesen Überschuss an Protonen bildet sich das Kation der Aminosäure (siehe Abbildung 7, Bereich a).

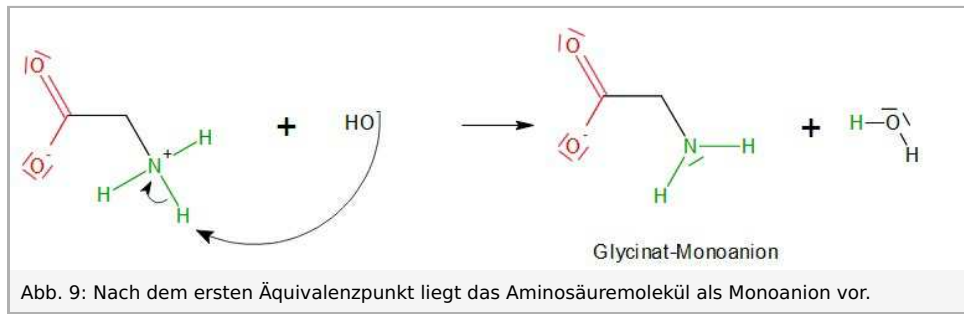


Durch die Zugabe der Natronlauge und dem damit verbundenen Anstieg an Hydroxidionen bilden sich die Zwitterionen der Aminosäure aus. Am ersten Äquivalenzpunkt schließlich liegen alle Aminosäuremoleküle als Zwitterionen vor (siehe Abbildung 7, Bereich 1. ÄP).



Nach dem ersten Äquivalenzpunkt herrscht ein Überschuss an Hydroxidionen, wodurch das Zwitterion ein Proton abgibt und sich Wasser bildet. Es entsteht das Glycinat-Monoanion (siehe Abbildung 8).

Am zweiten Äquivalenzpunkt liegen alle Aminosäuremoleküle als Glycinat-Monoanion vor. Danach steigt der pH-Wert aufgrund der weiteren Hydroxidionen-Zugabe an (siehe Abbildung 9).



Am Äquivalenzpunkt einer Säure-Base-Titration liegen äquivalente Stoffmengen der an der Titration beteiligten Säure und Base vor.

Der isoelektrische Punkt einer Titration von Aminosäuren ist bei dem pH-Wert erreicht, der sich einstellt, wenn die Anzahl der negativ geladenen Säuregruppen der Anzahl der positiv geladenen Aminogruppen entspricht. An diesem Punkt ist die Summenladung der Moleküle neutral.

