



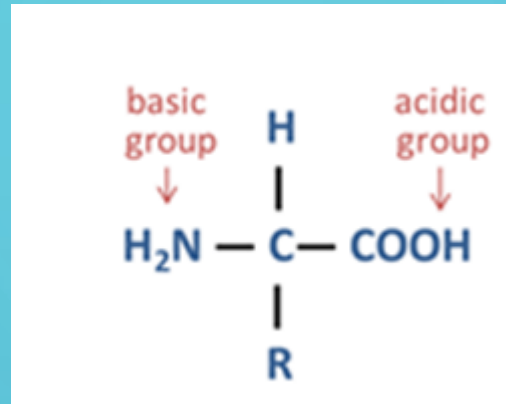
ΑΣΚΗΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΑ

- ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΕΣ
ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
- ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ
ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

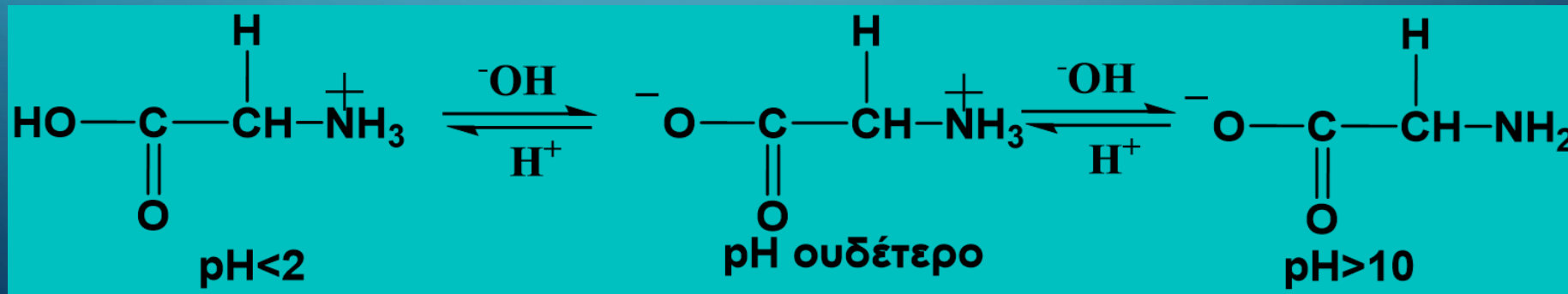


ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

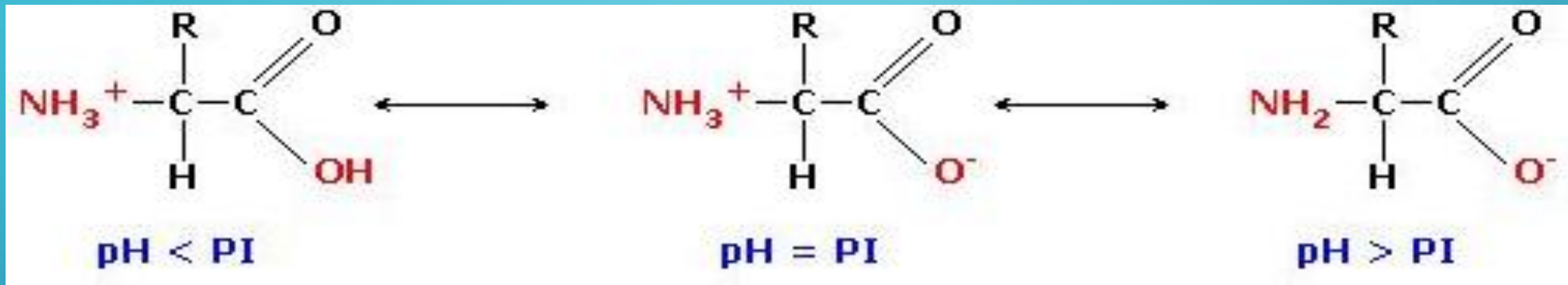
ΑΜΦΟΛΥΤΕΣ



Τα αμινοξέα επειδή περιέχουν μια καρβοξυλομάδα και μια αμινομάδα εμφανίζουν -ανάλογα με το περιβάλλον- όξινες ή βασικές ιδιότητες, δηλαδή είναι αμφολύτες.



ΙΣΟΗΛΕΚΤΡΙΚΟ ΣΗΜΕΙΟ (PI)



- Η χαρακτηριστική τιμή pH στην οποία σχηματίζονται τα διπολικά ιόντα ονομάζεται ισοηλεκτρικό σημείο (pI) ενός αμινοξέος.
- Στο ισοηλεκτρικό σημείο, η αμινομάδα είναι θετικά φορτισμένη και η καρβοξυλομάδα αρνητικά φορτισμένη, έτσι, το διπολικό ιόν είναι ουδέτερο (καθαρό ηλεκτρικό φορτίο μηδέν).
- Τα αμινοξέα σε υδατικό διάλυμα υπάρχουν κυρίως στην ισοηλεκτρική μορφή.

Καμπύλη τιτλοδότησης αμινοξέος

- Παρακολούθηση του pH διαλύματος αμινοξέος μετά από διαδοχική προσθήκη οξέος ή βάσεως.
- Η καμπύλη τιτλοδότησης είναι η απεικόνιση του pH σε συνάρτηση με τον όγκο του διαλύματος που προστίθεται ή ορθότερα με τον αριθμό των ισοδυνάμων που προστίθενται ανά mole του δείγματος.
- Κατά την ογκομέτρηση του αμινοξέος με οξύ, το αμινοξύ λειτουργεί ως μια βάση (A⁻).
- Κατά την ογκομέτρηση με βάση, λειτουργεί ως οξύ (HA).
- Για αυτή την τιτλοδότηση εφαρμόζεται η εξίσωση των Henderson-Hasselbalch και το αμινοξύ αντιστοιχεί είτε στο προϊόν σύζευξης βάσης A⁻ είτε στο συζυγές οξύ HA.

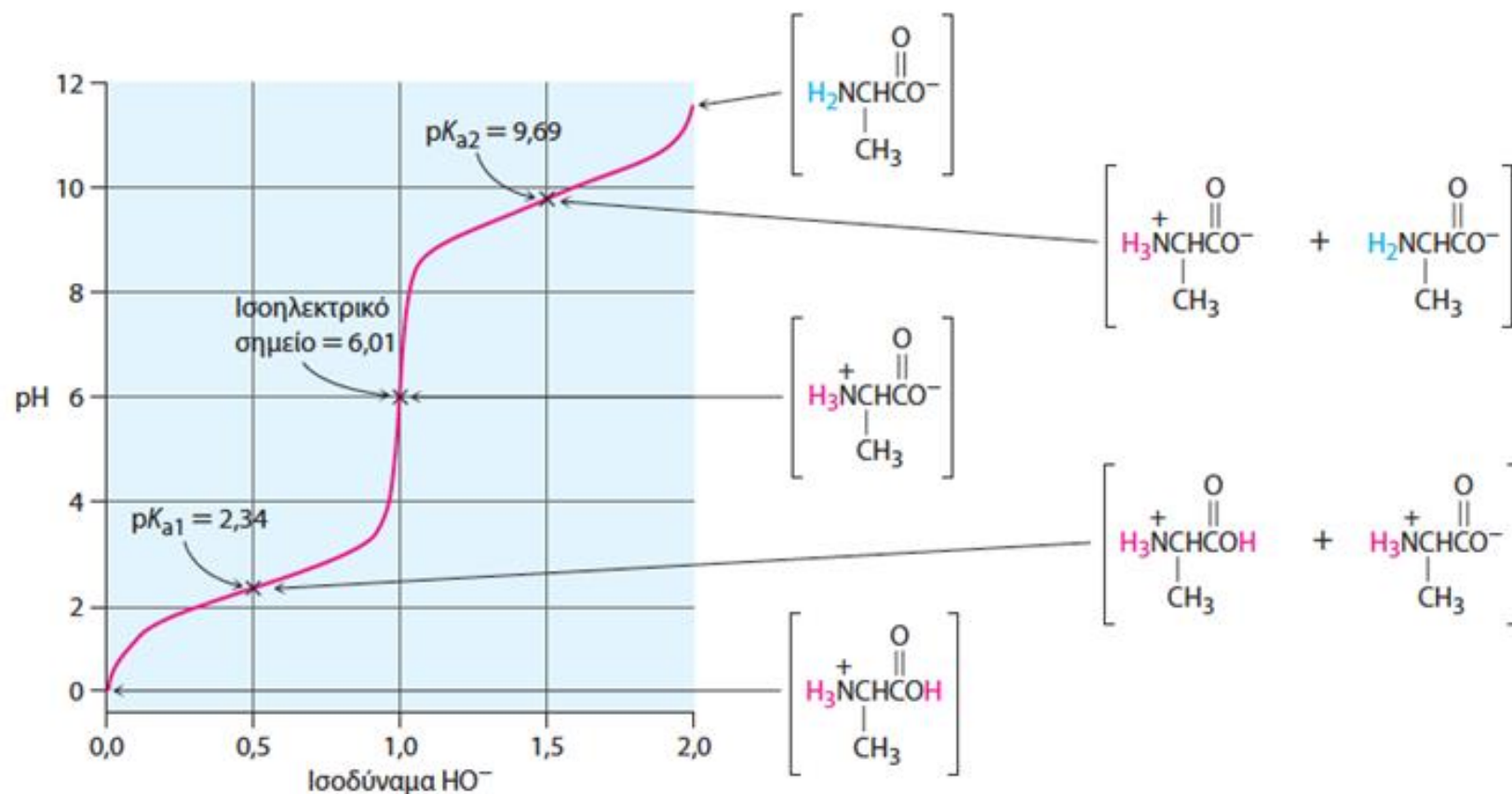
$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

- Το K_a, ή σταθερά διάστασης είναι ένα μέτρο της ισχύος του οξέος ή της βάσης.

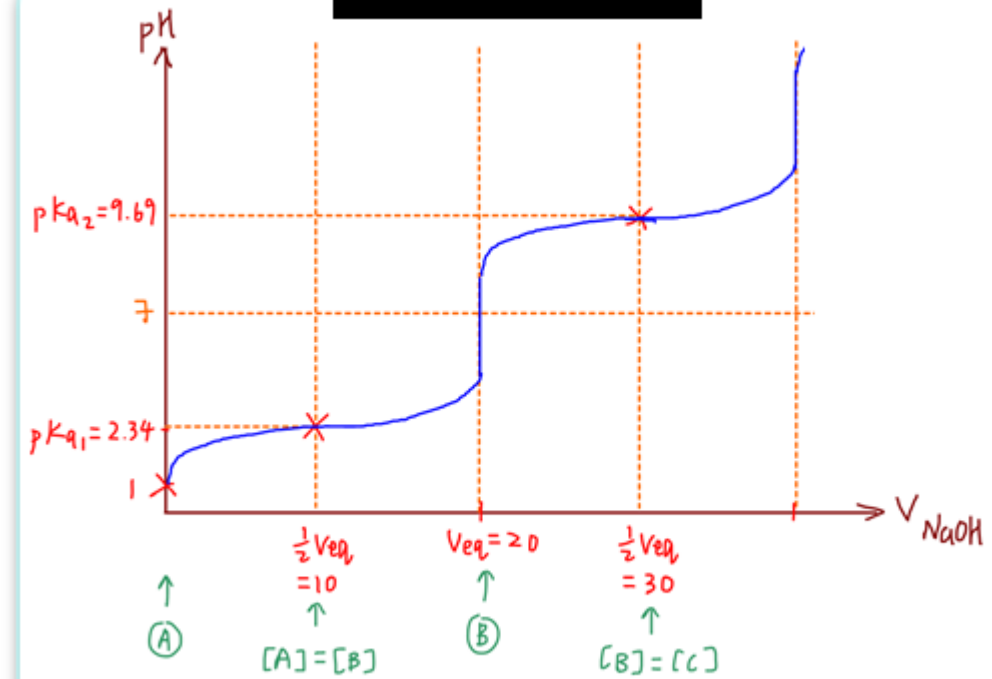
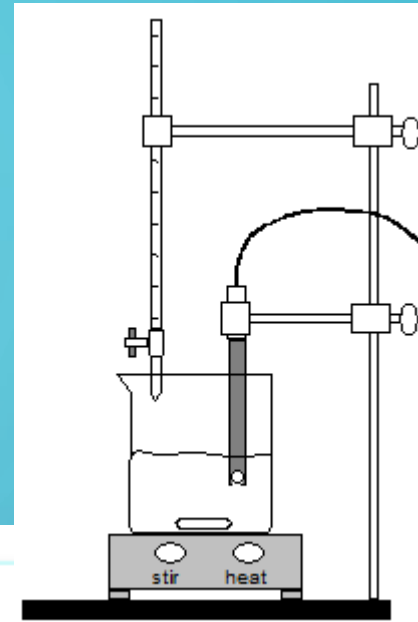
- Όταν η καμπύλη φθάσει στην πρώτη από τις δύο επίπεδες περιοχές (plateau) έχει αποπρωτονιωθεί το ήμισυ της καρβοξυλομάδας.

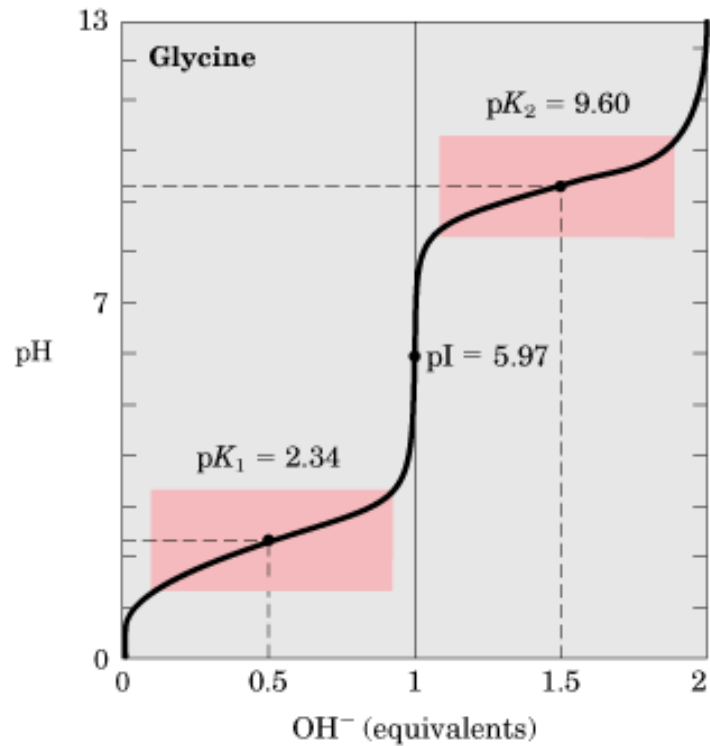
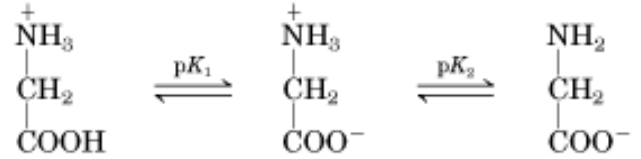
- Στο σημείο καμπής (σημείο B) η καρβοξυλομάδα είναι εντελώς αποπρωτονιωμένη και εδώ βρίσκεται το ισοηλεκτρικό σημείο. Σε αυτό το σημείο υπάρχει το αμινοξύ στην αμφοτερίζουσα μορφή.

- Στη δεύτερη από τις δύο επίπεδες περιοχές, (σημείο C), το μισό της αμινομάδας έχει πρωτονιωθεί.



- Το pK_a (-COOH) στην περίπτωση του αμινοξέος είναι ίσο με το pH στο οποίο η μισή ποσότητα του οξέος έχει αντιδράσει με τη βάση.
- Το pK_a (-NH₂) είναι ίσο με το pH στο οποίο η μισή ποσότητα της βάσης έχει αντιδράσει με τη οξύ.

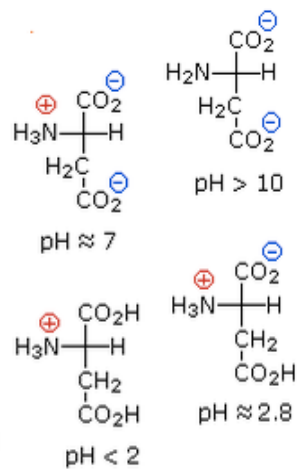
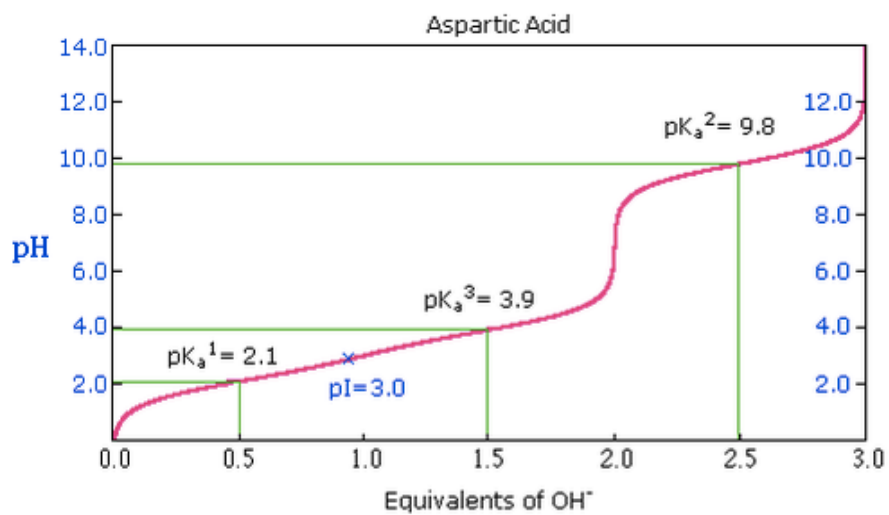




Το ισοηλεκτρικό σημείο ενός αμινοξέος μπορεί να υπολογιστεί σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

$$pI = \frac{pK_a[-COOH] + pK_a[-NH_3^+]}{2}$$

Η εξίσωση αυτή ισχύει μόνο στην περίπτωση των αμινοξέων που δεν φέρουν όξινη ή βασική ομάδα στην αλυσίδα R. Όπως για παράδειγμα η Γλυκίνη.

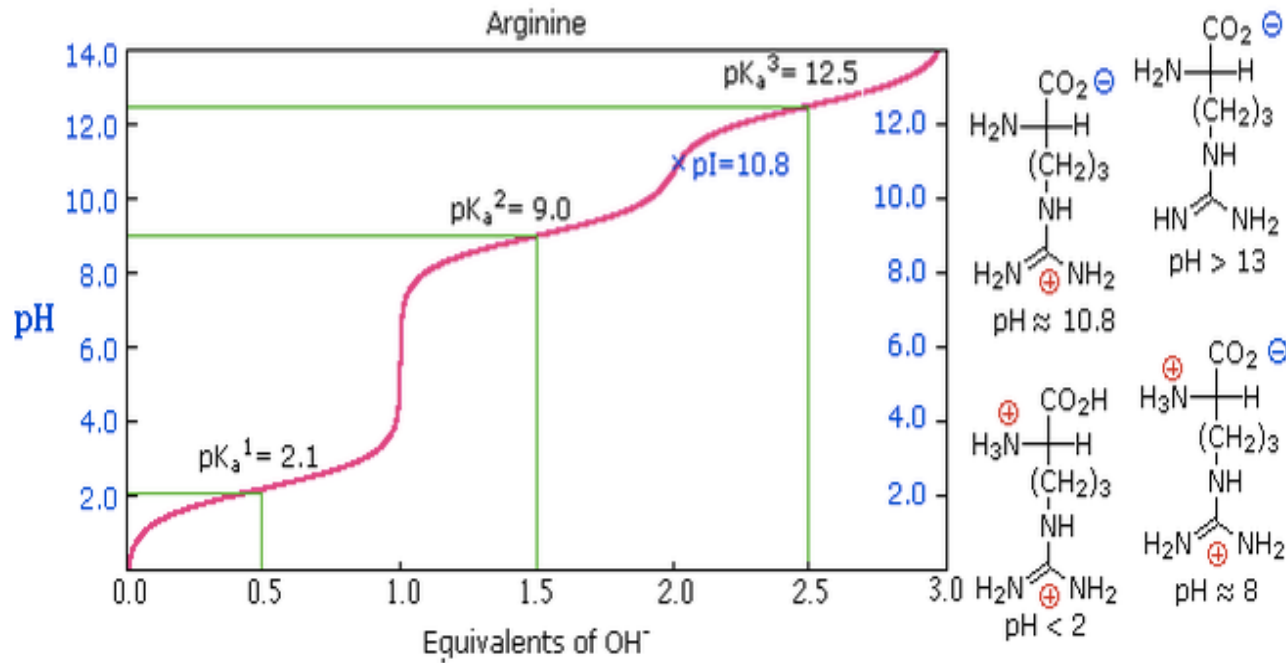


Η παρουσία επιπλέον όξινων ή βασικών ομάδων στη πλευρική αλυσίδα επηρεάζει το pI που δίνεται ως μέσος όρος των pKa των δύο οξέων ή βάσεων.

Έτσι, για το ασπαρτικό οξύ και το γλουταμικό οξύ με αρνητικά φορτισμένη πλευρική αλυσίδα

$$pI = \frac{1}{2}(pK_a^1 + pK_a^3),$$

όπου pK_a^1 είναι το pKa της πλευρικής αλυσίδας.

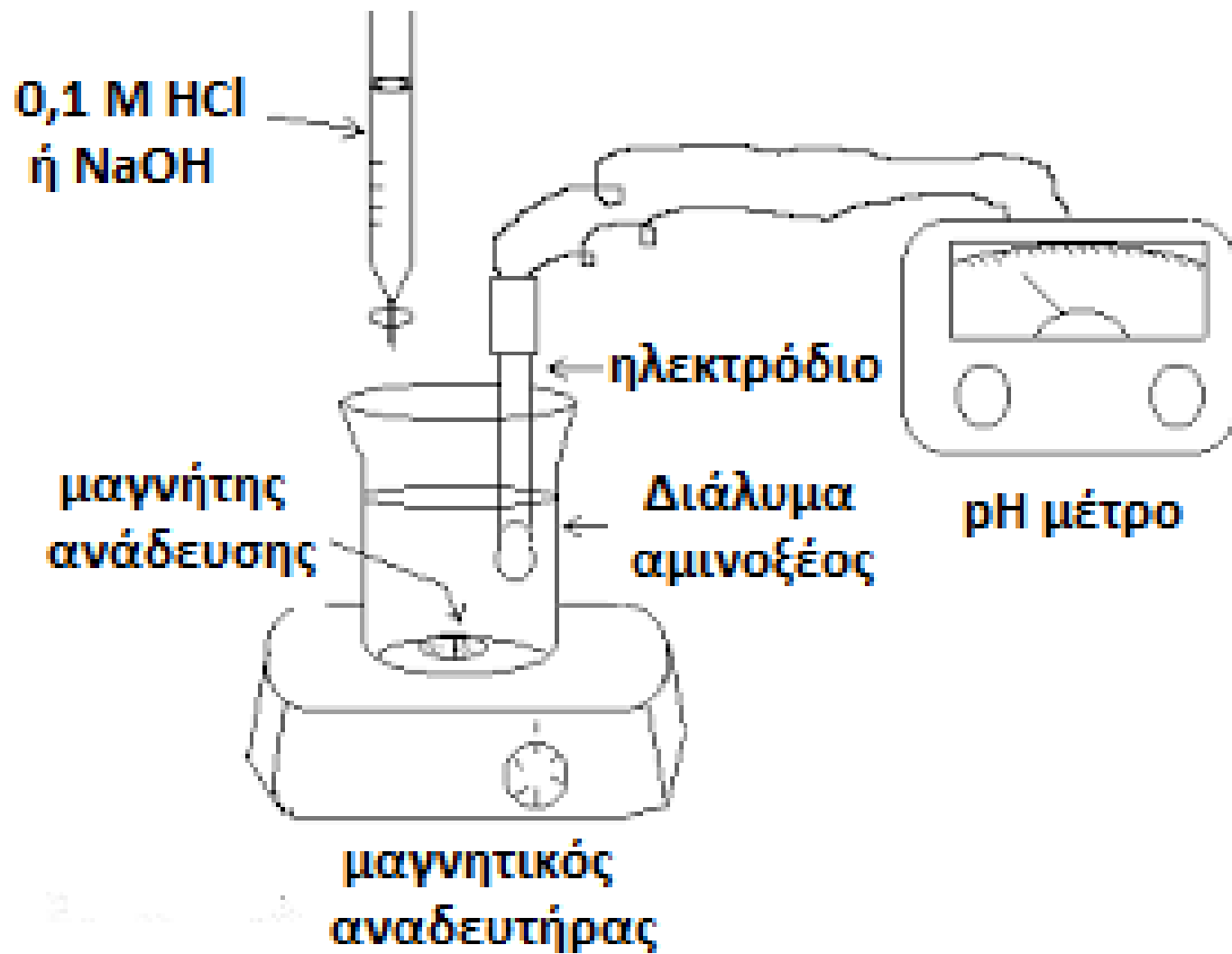
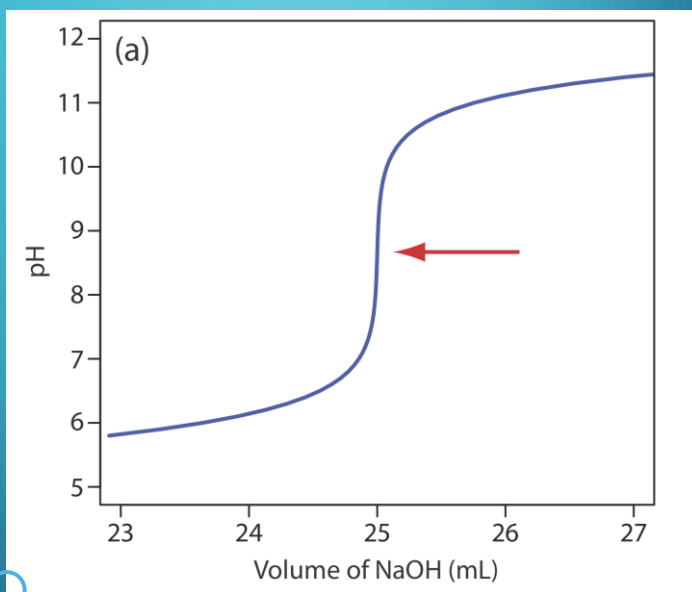


Για τη Ιστιδίνη και την
Λυσίνη και Αργινίνη με
θετικά φορτισμένη
πλευρική αλυσίδα ισχύει:

$$pI = \frac{1}{2}(pK_a^2 + pK_a^3)$$

όπου pK_a¹ είναι το pK_a της
πλευρικής αλυσίδας.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



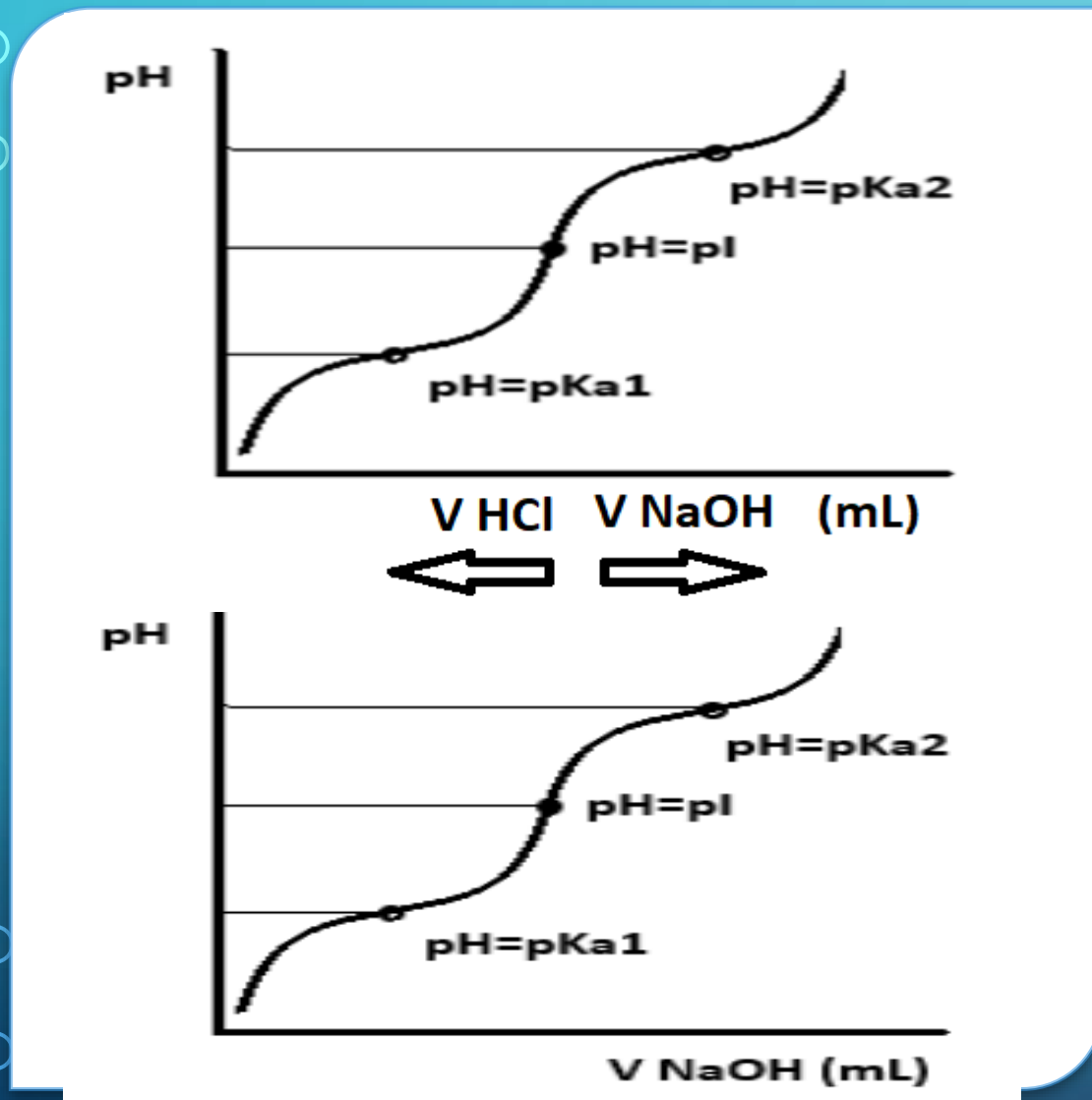
Πειραματική διαδικασία

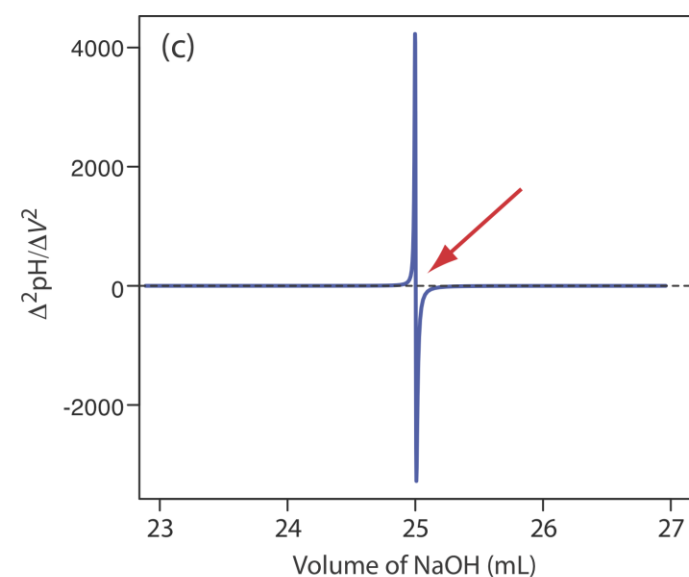
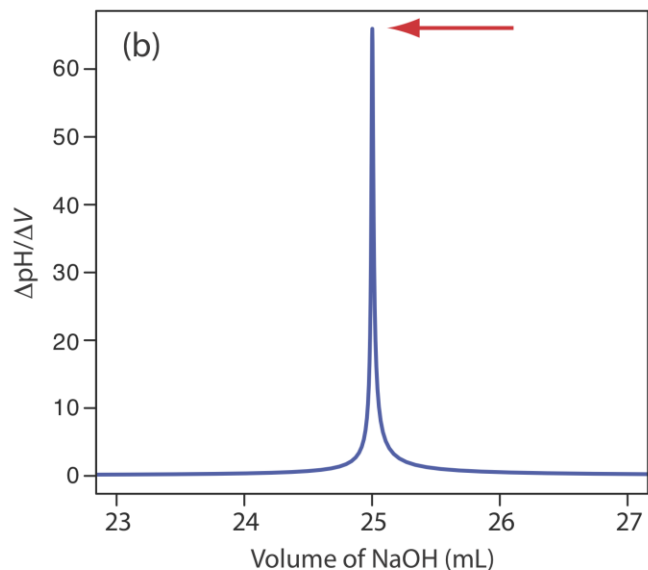
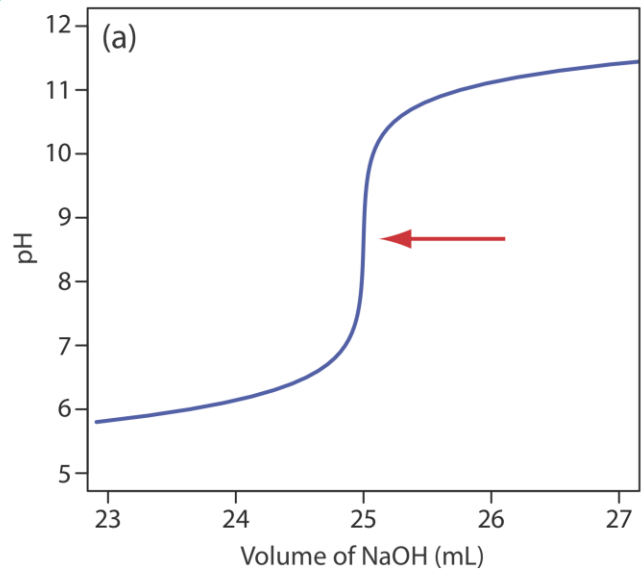
A. ΤΡΟΠΟΣ

- Α. Όγκομέτρηση με HCl - ΜΕΤΡΗΣΗ pH έως όξινο
- Β. Όγκομέτρηση με NaOH-ΜΕΤΡΗΣΗ pH από όξινο έως βασικό

B. ΤΡΟΠΟΣ

- Α. Όγκομέτρηση με HCl - ΜΕΤΡΗΣΗ pH έως όξινο
- Β. Όγκομέτρηση με NaOH-ΜΕΤΡΗΣΗ pH έως βασικό





Η πρώτη παράγωγος δίνεται από τον λόγο $\Delta pH/\Delta V$, όπου ΔpH είναι η μεταβολή του pH ανάμεσα σε δύο όγκους τιτλοδότη (1 προσθήκη). Παράδειγμα για τις μετρήσεις:

pH	V		
6.00	23.65		
6.10	23.91	$\Delta pH/\Delta V = (6.10 - 6.00) / (23.91 - 23.65) = 0.385$	για $V_{μέσο} = 23.78$ mL
6.20	24.13	$\Delta pH/\Delta V = (6.20 - 6.10) / (24.13 - 23.91) = 0.455$	για $V_{μέσο} = 24.02$ mL

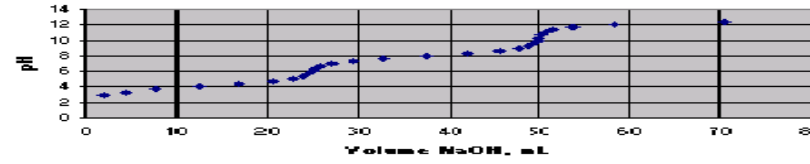
Η 2^η Παράγωγός δίνεται από τον λόγο $\Delta(\Delta pH/\Delta V)/\Delta V$ ή $\Delta^2 pH/\Delta V^2$

Χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα της 1^{ης} Παραγωγού

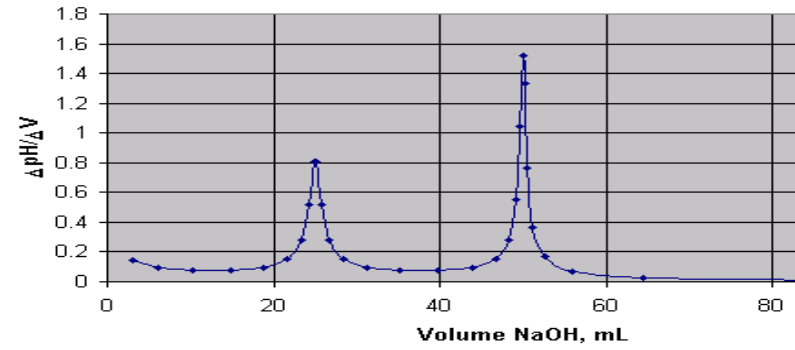
$$\Delta^2 pH/\Delta V^2 = (0.455 - 0.385) / (24.02 - 23.78) = 0.292$$



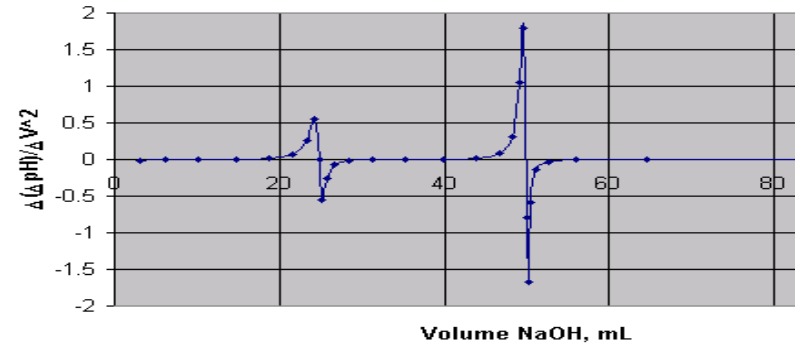
Titration Curve




First Derivative



Second Derivative



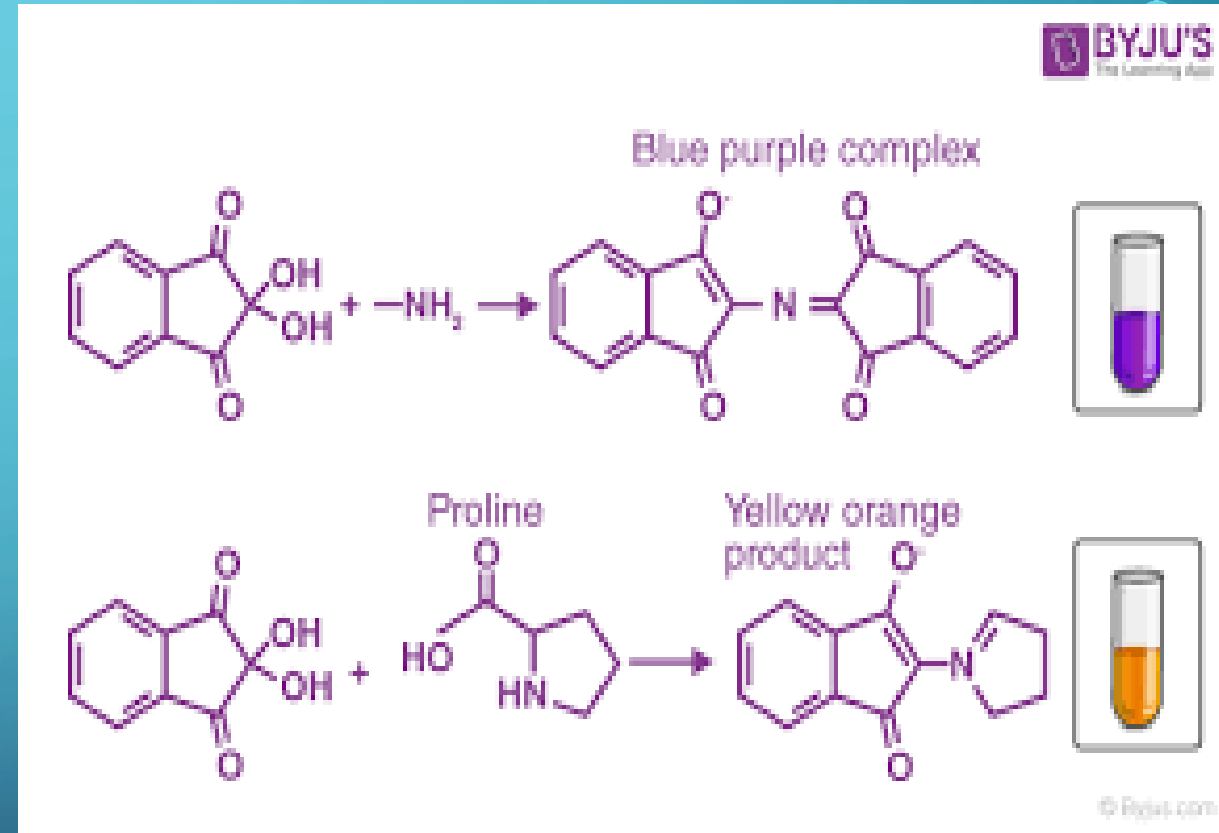
- <https://www.youtube.com/watch?v=PER6afZrEFk>



ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

Αντίδραση Νινυδρίνης

- Η νινυδρίνη αντιδρά με όλα τα α-αμινοξέα και δίνει διμοριακή κυανή ένωση, εκτός της προλίνης με την οποία δίνει κίτρινο χρώμα.
- Το εμφανιζόμενο χρώμα μπορεί να είναι και κόκκινο ή και καφέ ανάλογα με τη φύση της πρωτεΐνης.
- Με την αντίδραση νινυδρίνης δίνουν επίσης κυανο-ιώδες χρώμα η αμμωνία και οι 1ο ταγείς αμίνες



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



Παρασκευή Αντιδραστηρίου Νυιδρίνης :

- Για την Παρασκευή 100 mL αντιδραστηρίου διαλύονται 1g Νυιδρίνης σε 100mL Αιθανόλης

Διαδικασία

1. 1 mL δείγματος τοποθετείται το στον καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα

ΔΕΙΓΜΑΤΑ: Γλυκίνη, Προλίνη, Αλβουμίνη Σόγια

2. Περίπου 0,5 ml (5 σταγόνες) αντιδραστηρίου **Νυιδρίνης** προστίθεται στο δείγμα.

3. Ο δοκιμαστικός σωλήνας τοποθετείται πάνω από το υδατόλουτρο για 3-5 λεπτά