

## 實驗二十四 丙胺酸等電點的測定

**目的** 利用簡單的滴定操作，求得丙胺酸的滴定曲線，再由滴定曲線找出丙胺酸的等電點。

**原理** 胺基酸 (amino acid) 是蛋白質的基本構造單位。自然界存有約三百餘種胺基酸，其中只有二十種參與蛋白質的合成。每個胺基酸都是由四個不同的分子基團與中心的  $\alpha$ -碳鍵結而成，如圖 24.1 所示。

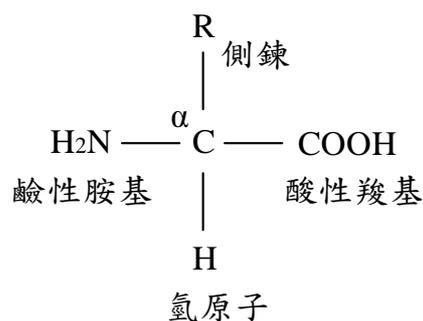
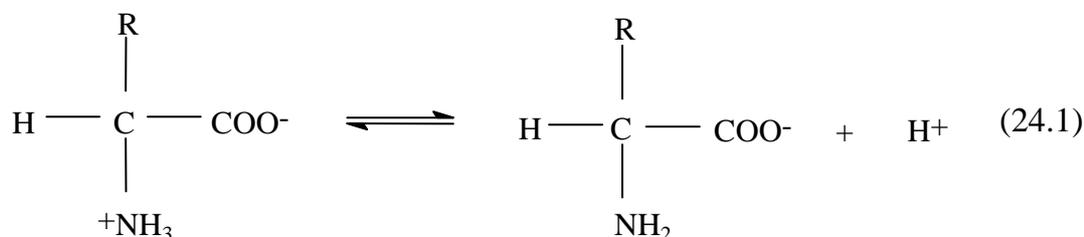
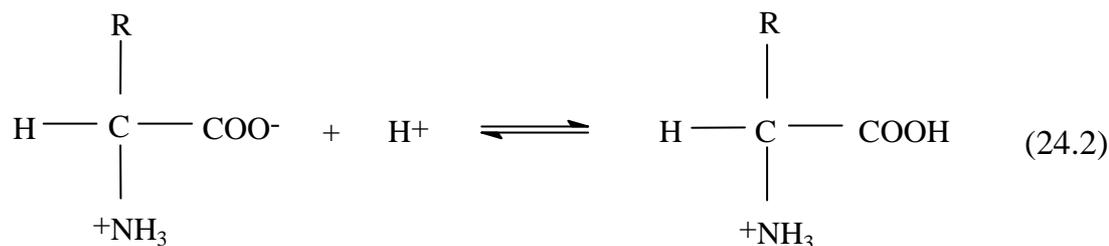


圖 24.1 胺基酸的基本結構

一個胺基酸分子通常同時具有鹼性基團 ( $-\text{NH}_2$ ) 及酸性基團 ( $-\text{COOH}$ )，因此隨著溶液的酸鹼值 (pH 值) 不同，將使胺基酸形成不同的離子結構。比較特別的是，當鹼性基團 ( $-\text{NH}_2$ ) 質子化而酸性基團 ( $-\text{COOH}$ ) 失去質子，此時分子中正負電荷並存但淨電荷為零，以致同時具有酸(質子提供者)和鹼(質子接受者)的性質，如式(24.1)和 (24.2)，因此這種結構稱為兩性離子 (zwitterion，德文 zwitter 是混種或兩性體之意)，而使胺基酸剛好呈現兩性離子的溶液 pH 值，即稱為此胺基酸的等電點 (isoelectric point or isoelectric pH，以 pI 表示)。

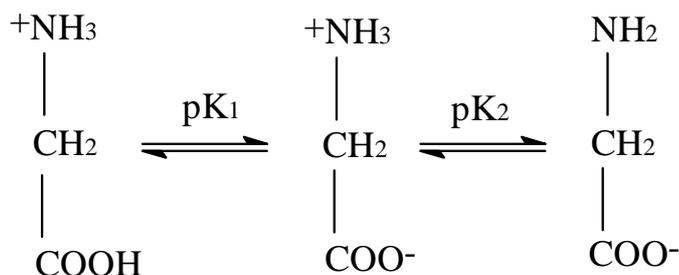
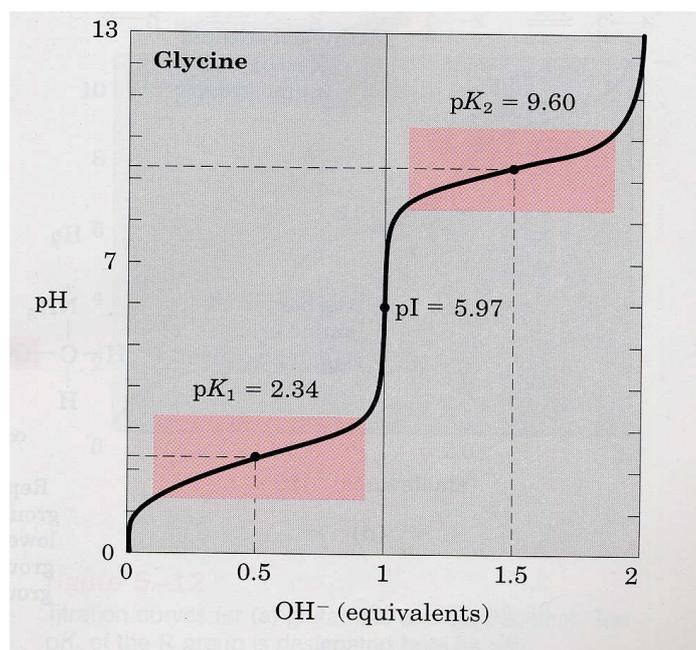


酸(質子提供者)



鹼(質子接受者)

由於胺基酸的離子結構，隨著溶液酸鹼值變化而改變，因此藉由胺基酸的滴定曲線，可以觀察出離子結構的變化情形。以甘胺酸 (glycine,  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ) 為例，如圖 24.2，當溶液 pH 值很小的時候，甘胺酸因胺基- $\text{NH}_2$  質子化而主要以  $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$  結構存在；隨著溶液酸性變小，其羧基- $\text{COOH}$  失去質子而形成兩性離子  $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ ，此時溶液 pH 值為 5.97，此即為甘胺酸的等電點；接著溶液鹼性增加， $-\text{NH}_3^+$  釋放質子而形成  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ 。由圖 24.2 亦可看出甘胺酸的羧基及胺基所對應的  $\text{pK}_a$  值分別是 2.34 和 9.60 ( $5.97 = (2.34+9.60)/2$ )。



(甘胺酸在溶液中，對應於滴定過程，其離子結構的變化情形)

圖 24.2 甘胺酸的滴定曲線

本實驗以丙胺酸(alanine, 構造如圖 24.3)為樣品, 將丙胺酸溶於 HCl 溶液, 再以 NaOH 溶液滴定之, 藉以得到丙胺酸的滴定曲線, 並進一步由滴定曲線找出丙胺酸的等電點。

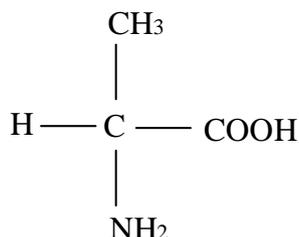


圖 24.3 丙胺酸的分子結構

器材 滴定管, 蝴蝶夾, 250 mL 燒杯, 玻棒, pH 計, 100 mL 量筒, 天平

藥品 丙胺酸 (Alanine), 0.10 M NaOH, 0.10 M HCl, 蒸餾水

#### 實驗步驟

1. 取 1.0 M NaOH 10 mL, 加蒸餾水稀釋至總體積為 100 mL (此時濃度約 0.10 M), 混合均勻, 貼上標籤備用。
2. 滴定管清洗乾淨並以 0.10 M NaOH 潤洗至少 2 次, 再將 0.10 M NaOH 裝入滴定管 (可利用漏斗), 滴定之前必須確定滴定管前端完全充滿 NaOH, 漏斗亦不在滴定管上。
3. 以乾燥乾淨的 250 mL 燒杯, 精稱約 0.27 g 的丙胺酸, 加入 30 mL 0.10 M HCl, 攪拌使丙胺酸完全溶解。
4. 以 pH = 4.0 及 pH = 7.0 的標準緩衝液校正 pH 計。
5. 將步驟 3 所得的丙胺酸溶液, 以 0.10 M NaOH 滴定之, 操作裝置如圖 24.4。每加 0.50 ~ 1.00 mL NaOH, 記錄 NaOH 讀數 (滴定管最初的初讀數必須讀取) 及溶液 pH 值 (溶液攪拌均勻後靜置, 待 pH 計螢幕出現 ready 後, 記錄讀數), 直到 pH 讀數達 12.0 或 100 mL 0.10 M NaOH 溶液用完為止。

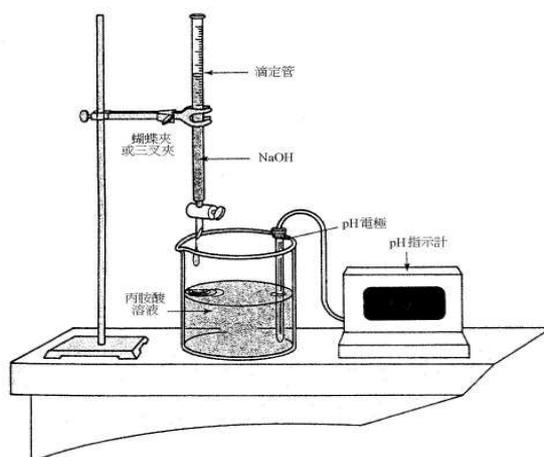


圖 24.4 丙胺酸的滴定裝置























2. 繪圖：以 NaOH 毫莫耳數(mmol)為橫軸，pH 讀數為縱軸，用方格紙畫出丙胺酸的滴定曲線圖（圖形上請標示出丙胺酸的等電點，並參照圖 24.2，註明溶液中因酸鹼值不同，所產生不同的離子結構）。

\*由滴定曲線圖得知丙胺酸的等電點為\_\_\_\_\_。

討論

