

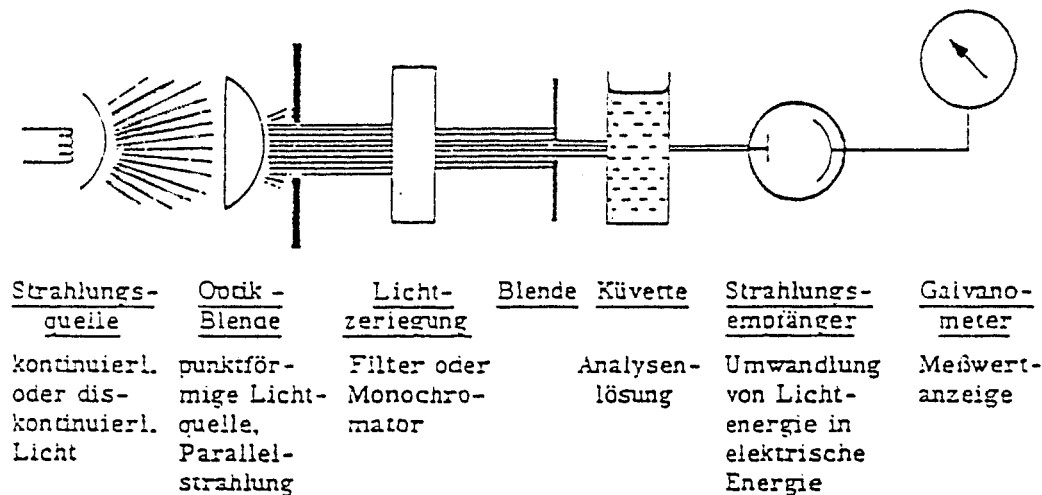
ABSCHNITT A: Photometrie und Titration

1. Photometrie

Theoretische Grundlagen der Photometrie

Bei der Photometrie wird Licht einer bestimmten Wellenlänge (monochromatisches Licht) durch eine in einem Meßgefäß (Küvette) befindliche Farbstofflösung geschickt. Bei Verwendung von ultraviolettem Licht können auch viele nicht farbige Substanzen photometriert werden. Die austretende Lichtstrahlung wird von einem photoelektrischen Wandler, z.B. einem Photomultiplier, in elektrischen Strom umgewandelt und dieser nach entsprechender Verstärkung von einem Meßgerät angezeigt.

Schematische Darstellung eines Photometers:



Beim Durchgang durch die Farbstofflösung nimmt die Lichtintensität ab. Ist I_0 die Intensität des eintretenden Lichtstrahles und I die Intensität des austretenden Lichtstrahles, so wird das Verhältnis I/I_0 als Transmission (T) bezeichnet.

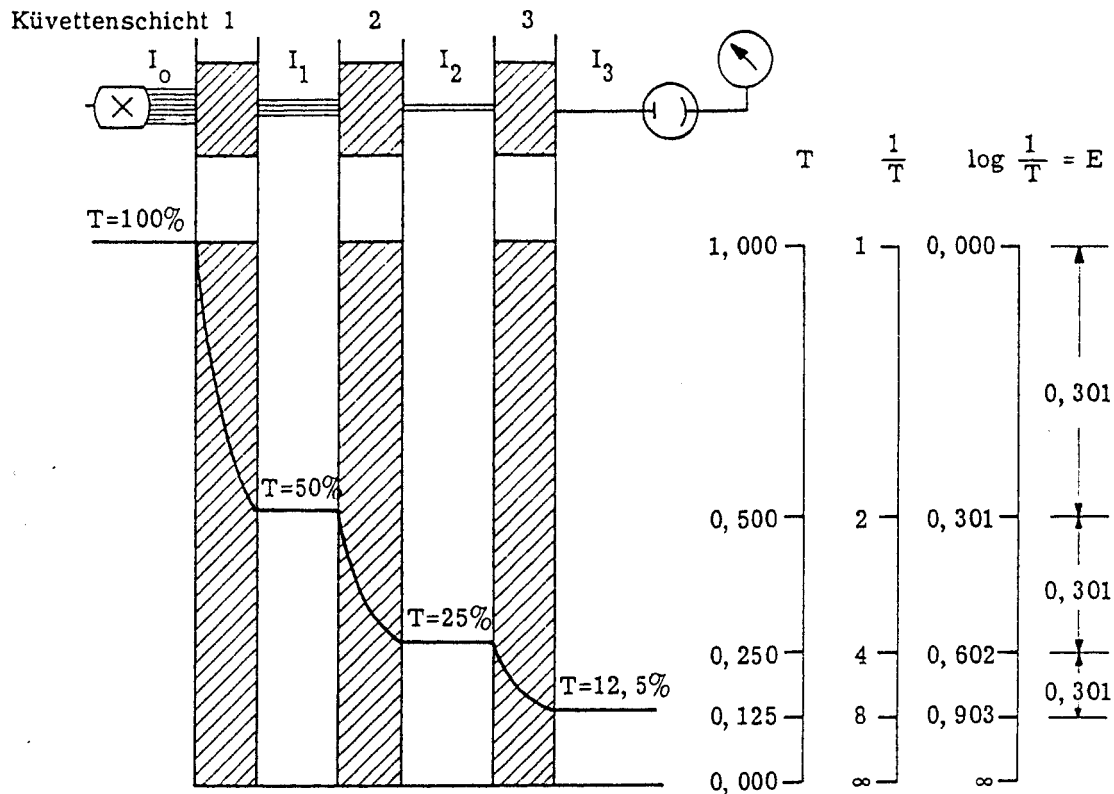
Wird die Transmission in % angegeben, so gilt:

$$T (\%) = \frac{I}{I_0} \times 100$$

Wird in einem Experiment die Intensität des Lichtes beim Durchgang durch eine Küvette mit Farbstofflösung auf die Hälfte geschwächt ($T = 50\%$) und bringt man eine zweite gleiche Küvette mit gleicher Farbstofflösung zusätzlich in den Strahlengang, so wird die Intensität erneut halbiert. Die Transmission nach Durchgang durch die zweite Küvette beträgt nur noch 25%, nach Durchgang durch eine dritte, gleichartige, nur noch 12,5%. Bringt man in dem gedachten Experiment nicht eine zweite und dritte Küvette mit Farbstofflösung hintereinander in den Strahlengang des Photometers, sondern verdoppelt oder verdreifacht die Farbstoffkonzentration in der ersten Küvette, so hat dies den gleichen Effekt. Auch hier beträgt dann die

A.2

Transmission nur noch 25 bzw. 12,5%. Die Transmission nimmt also exponentiell ab mit der Schichtdicke der Farbstoff lösung einerseits und mit der Konzentration c der Farbstofflösung andererseits.



Durch die Einführung eines Proportionalitätsfaktors ε (Extinktionskoeffizient) gilt für die Beziehung zwischen Transmission, Konzentration und Schichtdicke die Gleichung:

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon \times c \times d}$$

Da eine exponentielle Abhängigkeit für Berechnungen unpraktisch ist, verwendet man für Konzentrationsmessungen eine von der Konzentration linear abhängige Meßgröße, die Extinktion E (engl.: absorbance A), die durch Logarithmieren aus der Transmission hervorgeht:

$$E = -\log T = \log \frac{1}{T} = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \times c \times d$$

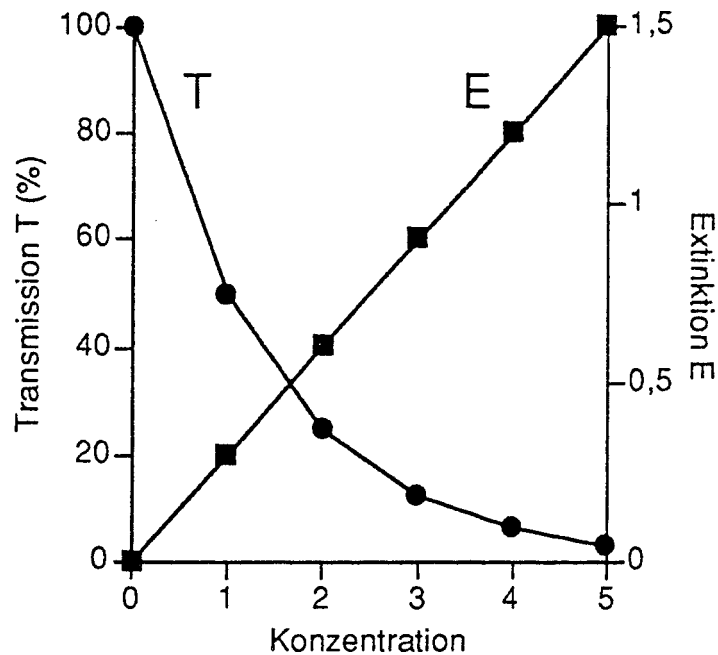
LAMBERT-BEER'sches Gesetz

E = Extinktion (dimensionslos)

ε = Extinktionskoeffizient $((\text{mol/l})^{-1} \times \text{cm}^{-1})$

c = Konzentration der Lösung (mol/l)

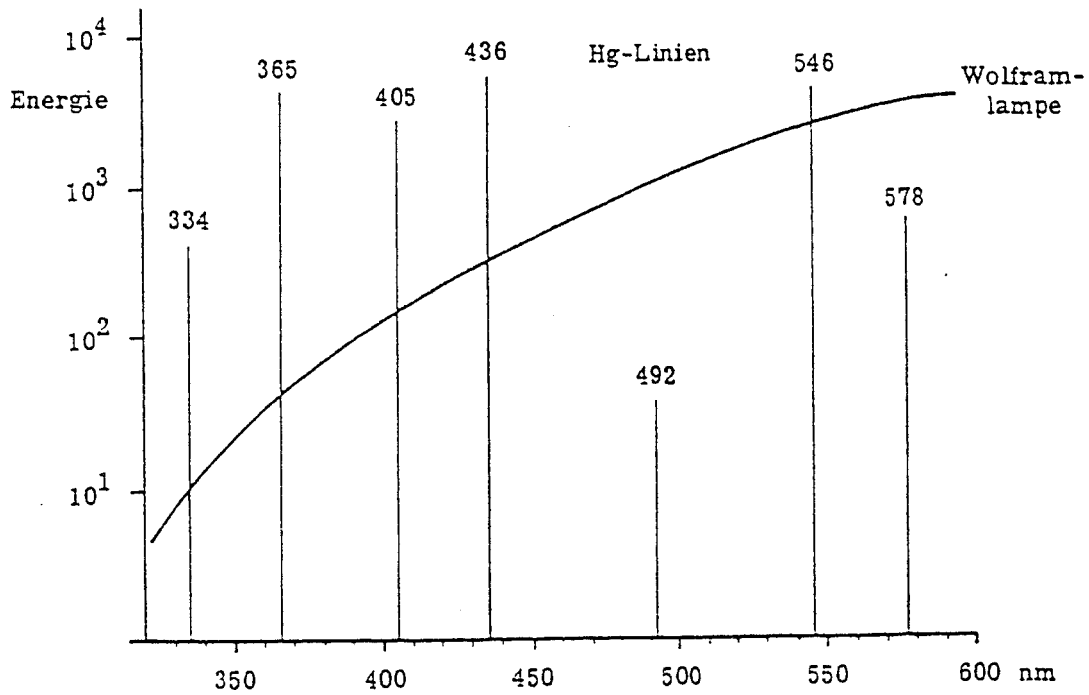
d = Schichtdicke (cm)



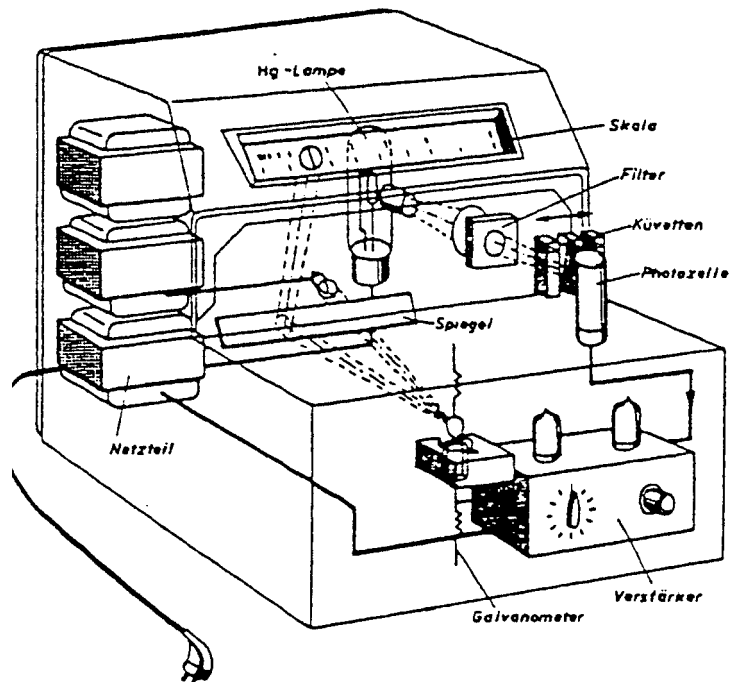
Der Extinktionskoeffizient ε ist die Extinktion einer Lösung der Konzentration $c = 1 \text{ mol/l}$ bei der Schichtdicke $d = 1 \text{ cm}$. ε ist eine für eine spezielle Substanz typische Größe und abhängig von der Wellenlänge. Ist ε bekannt, so läßt sich die Konzentration einer Substanz direkt aus der Extinktion berechnen. Dabei ist eine unspezifische Lichtabsorption, z.B. durch das Glas der Küvette und durch andere in der Lösung befindliche Substanzen, zu berücksichtigen. Praktisch erfolgt die eigentliche Messung im Photometer gegen einen entsprechenden Leerwert.

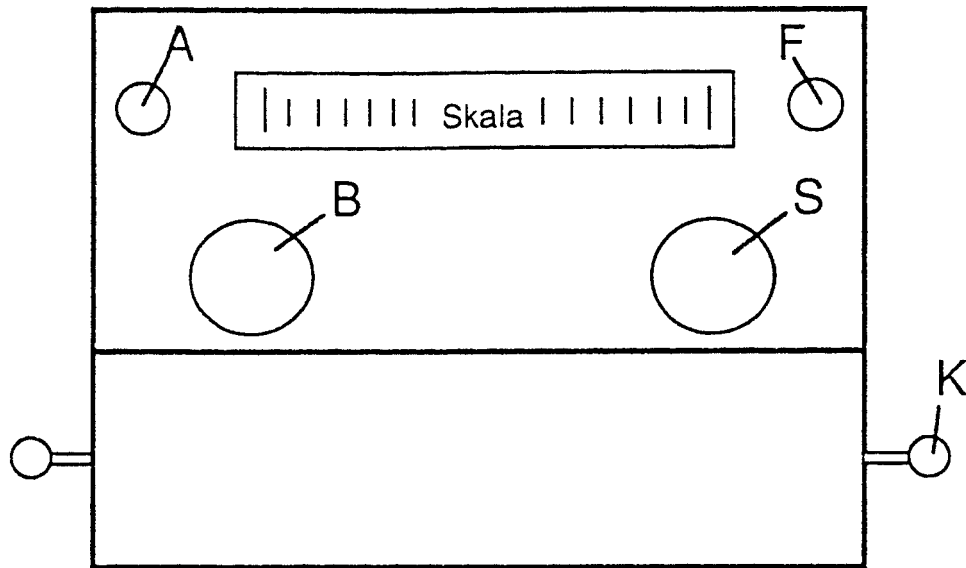
Die gebräuchlichen Photometer unterscheiden sich vor allem in der Art der Strahlungsquelle und der Lichtzerlegung. Bei Spektralphotometern kann die Wellenlänge des zur Messung benutzten Lichts kontinuierlich verändert werden. Dies setzt voraus, daß als Lichtquelle ein Kontinuumstrahler verwendet wird: eine Wolframlampe für den sichtbaren Bereich (350-700 nm), eine Wasserstoff- oder Deuteriumlampe für den ultravioletten Bereich des Spektrums (200-350 nm). Als Lichtquelle der Spektrallinienphotometer dient eine Quecksilber- bzw. Cadmiumdampfampe. Werden diese Elemente unter definierten Bedingungen erhitzt, so verdampfen sie und senden Licht bestimmter Linien (also ein diskontinuierliches Spektrum) aus. Mit geeigneten Filtern werden die Spektrallinien bzw. Gruppen solcher Spektrallinien isoliert.

Diskontinuierliches Linienspektrum einer Quecksilberdampfampe im Vergleich zur kontinuierlichen Lichtemission einer Wolframlampe:



Aufbau eines Spektrallinienphotometers:



Bedienungselemente und Eichung des Photometers:

B = Betriebsartenschalter, die Stellung A ist für normale Absorptionsmessungen vorgesehen. In der Stellung F wird die Verstärkung gegenüber der Stellung A ungefähr um den Faktor 10 erhöht

K = Küvettenwechsler

A = Abgleichknopf linkes Skalenende

S = Stufenschalter: Erhöhung der Verstärkung um eine Stufe (im Uhrzeigersinn) bewirkt Abnahme der angezeigten Extinktion um 0,20 Einheiten

F = Feinregler: überstreicht kontinuierlich den Bereich einer Stufe des Stufenschalters

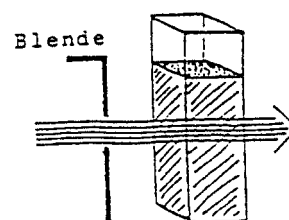
Einstellen/Eichen des Photometers:1. Abgleich linkes Skalenende:

Lichtweg entweder durch Entfernen des Filters aus seinem Schacht oder durch Einbringen eines schwarzen Blockes in den Küvettenhalter schließen. Mit Knopf A Lichtzeiger auf den linken Skalenendpunkt ($T = 0$; $E = \infty$) einstellen.

2. Abgleich rechtes Skalenende:

Mit eingesetzter Leerwert-Küvette bei offenem Lichtweg mit Hilfe des Stufenschalters (S) und des Feinreglers (F) Lichtzeiger auf den rechten Skalenendpunkt ($T = 1,0$; $E = 0$) einstellen. Bei längeren Meßserien ist dieser Abgleich häufiger zu wiederholen, um eine mögliche Drift des Photometers auszugleichen.

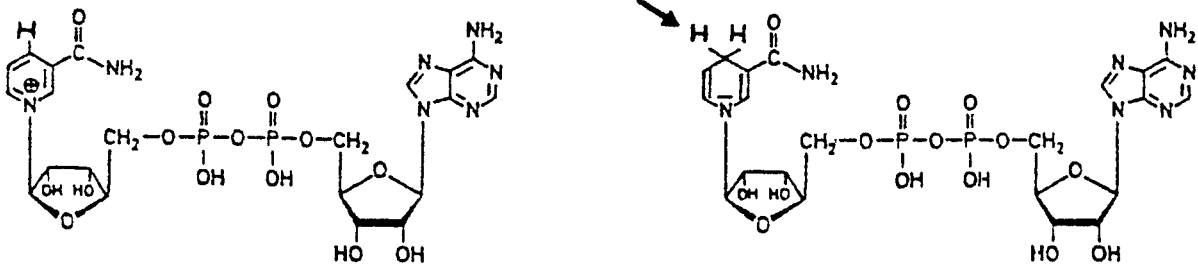
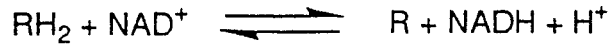
Alle Knöpfe und Hebel vorsichtig bewegen!
Niemals randvoll gefüllte Küvetten in das Photometer einsetzen! Küvette mit der planen Seite (nicht anfassen) in den Strahlengang!
Besondere Vorsicht bei aggressiven Substanzen!
Auf die Anwesenheit des richtigen Filters achten!
Bei jeder Wellenlänge das Photometer erneut eichen!



Richtig gefüllte Küvette

Extinktionsspektrum von NADH

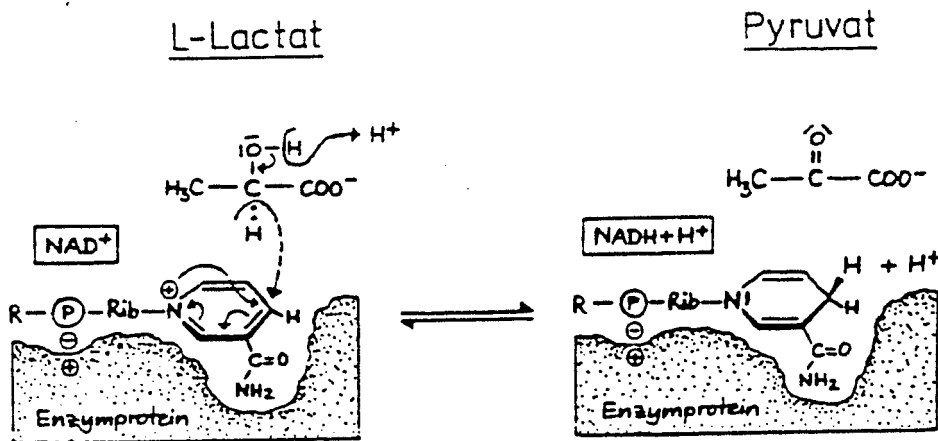
Nicotinamid-Adenin-Dinucleotide sind als Coenzyme von Dehydrogenasen an vielen Stellen des Stoffwechsels als Überträger von Reduktionsäquivalenten beteiligt. Dabei geht die oxidierte Form, NAD⁺, in die reduzierte Form, NADH, über:



NAD⁺
(oxidiertes Zustand)

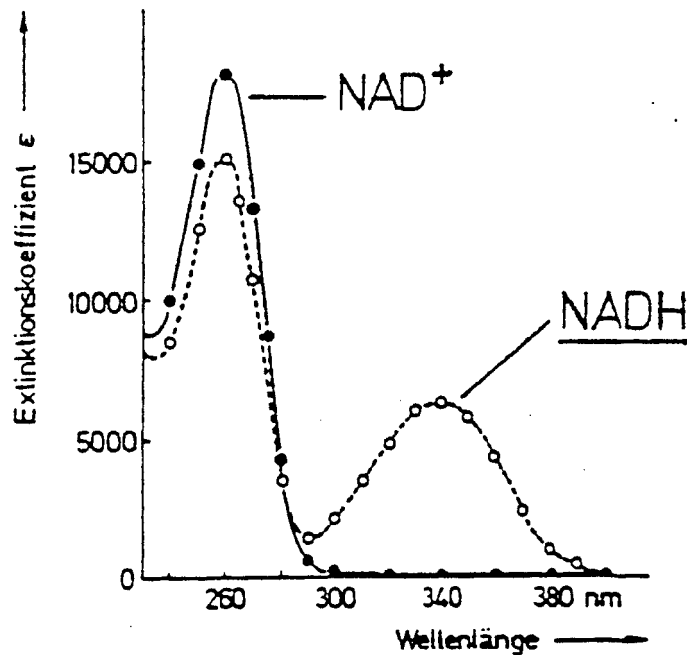
NADH
(reduziertes Zustand)

Das Prinzip der Wasserstoffübertragung auf Pyridinnucleotide (ein Hydridion H⁻ wird auf die C4-Position des Pyridinringes übertragen, der zweite Substratwasserstoff wird als Proton H⁺ freigesetzt) ist in der folgenden Abbildung schematisch am Beispiel der Lactatdehydrogenase-Reaktion dargestellt:



A.7

Durch die Extinktion der reduzierten Form, NADH, im nahen Ultraviolett mit dem Extinktionsgipfel bei 340 nm lässt sich die reduzierte Form von der oxidierten Form photometrisch unterscheiden. Darauf beruht ein großer Teil der biochemischen Analytik und der klinisch-enzymatischen Diagnostik ("Optischer Test" nach O. Warburg).



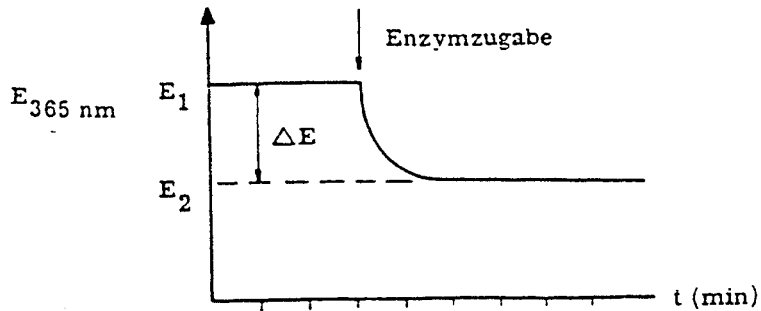
Neben NADH gibt es auch die phosphorylierte Form, NADPH, das reduzierte Nikotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat. In der Extinktion bei 340 nm unterscheiden sich NADH und NADPH nicht, wohl aber in ihrer Funktion im Stoffwechsel.

Extinktionskoeffizienten ϵ ($(\text{mol/l})^{-1} \times \text{cm}^{-1}$) für NADH und NADPH:

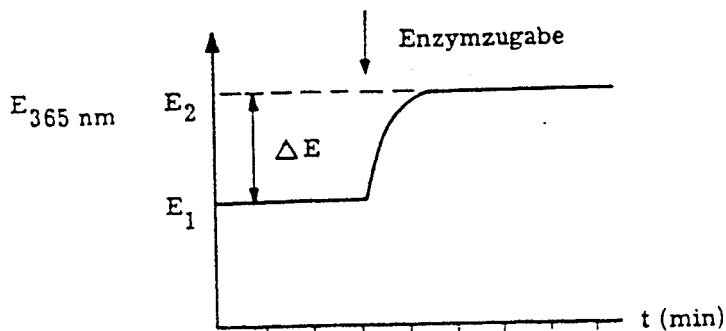
	NADH	NADPH
bei 334 nm	$6,18 \times 10^3$	$6,18 \times 10^3$
bei 340 nm	$6,30 \times 10^3$	$6,30 \times 10^3$

Beispiele für "optische Tests" zur Analyse von Substratkonzentrationen oder Enzymaktivitäten:

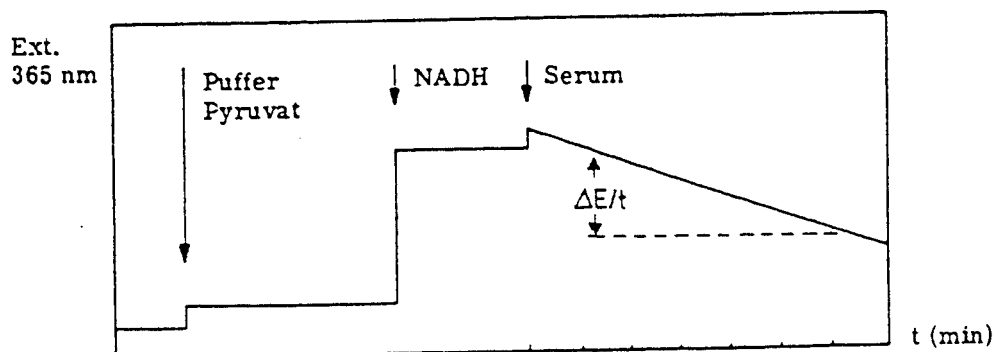
1. Ablauf einer Reaktion mit NADH-Verbrauch: z.B. Bestimmung des Pyruvatgehaltes einer Probe in einem Testansatz mit NADH und Lactatdehydrogenase (LDH) (E_1 = Ausgangsextinktion des Testansatzes).



2. Ablauf einer Reaktion mit NADH-Entstehung: z.B. Bestimmung des Lactatgehaltes einer Probe in einem Testansatz mit NAD^+ und LDH (E_1 = Ausgangsextinktion des Testansatzes).



3. Bestimmung der Enzymaktivität in einer Probe: z.B. Bestimmung der Lactatdehydrogenase-Aktivität im Serum in einem Testansatz mit NADH- und Pyruvatzusatz.



BERECHNUNGSGRUNDLAGEN FÜR OPTISCHE TESTS

1. Berechnung von Substratkonzentrationen:

$$c \text{ (mol/l)} = \frac{\Delta E}{\epsilon \times d} \times \frac{V}{v} \quad (\times F)$$

c = Konzentration in der Probe

ΔE = Extinktionszu- oder -abnahme durch Entstehung oder Verbrauch der absorbierenden Substanz (z.B. NADH oder p-Nitroanilin)

ϵ = Extinktionskoeffizient der absorbierenden Substanz bei der gewählten Wellenlänge: $(\text{mol/l})^{-1} \times \text{cm}^{-1}$

d = Schichtdicke der durchstrahlten Lösung (Küvette): cm

V = Gesamtvolumen des Testansatzes: ml

v = Probevolumen im Testansatz: ml

F = Verdünnungsfaktor bei eventueller Verdünnung der Probe vor Einsatz in den Test

2. Berechnung von Enzymaktivitäten:

Die Aktivität von Enzymen ist definiert als Substratumsatz pro Zeiteinheit.

$$A \text{ (mol/l x min}^{-1}\text{)} = \frac{\Delta E/\text{min}}{\epsilon \times d} \times \frac{V}{v} \quad (\times F)$$

A = Enzymaktivität in der Probe (Substratumsatz in mol pro Liter und Minute).

1 U = 1 μmol Substratumsatz/min.

Im SI-System wird die Enzymaktivität nicht in U, sondern in Katal (kat) angegeben.

1 Katal = 1 mol Substratumsatz/ Sekunde

Richtiges Arbeiten mit der Automatik-Pipette:1. Füllen

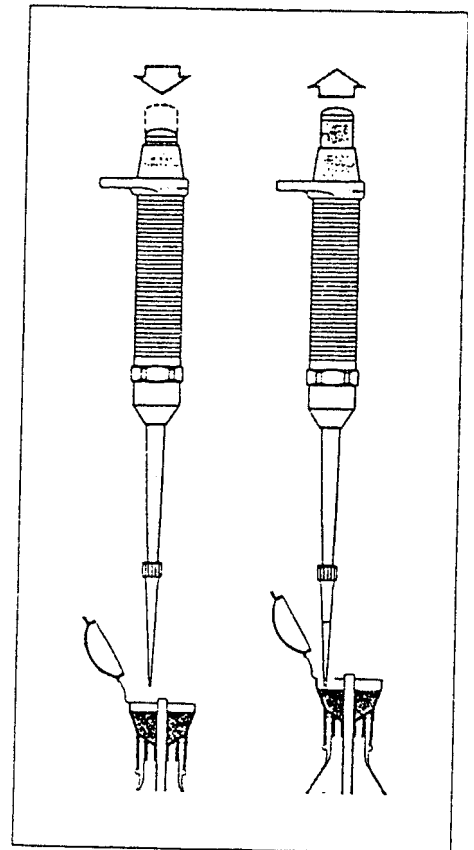
Ohne aufgesetzte Spitze darf mit der Pipette niemals Flüssigkeit angesaugt werden!

Achtung: Pipette nie mit Spitze hinlegen und immer mit der Spitze nach unten halten!

- Bedienungsknopf bis zum ersten Anschlag niederdrücken
- Pipettenspitze 2 - 3 mm in die Flüssigkeit eintauchen
- Bedienungsknopf langsam bis zum Anschlag zurückgleiten lassen

Achtung: Bedienungsknopf nie zurückschnappen lassen, Lösung schwappt in die Pipette!

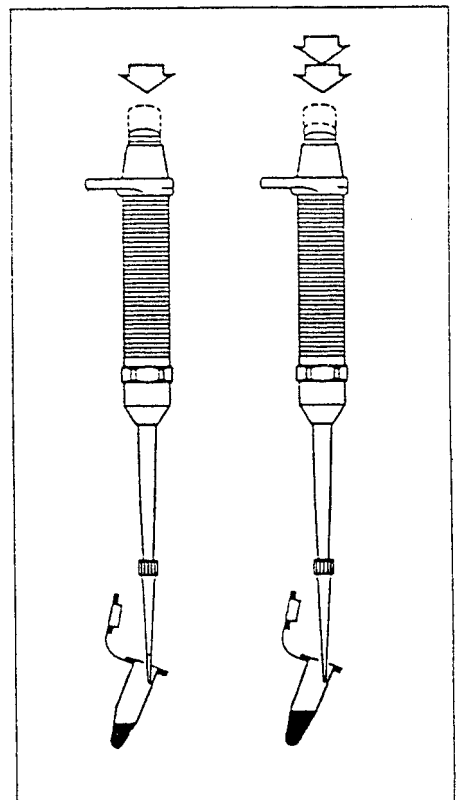
- Pipette unter Abstreifen der Spitze an der Gefäßwand herausziehen
- Pipettenspitze vorsichtig mit faserfreiem Zellstoff abwischen

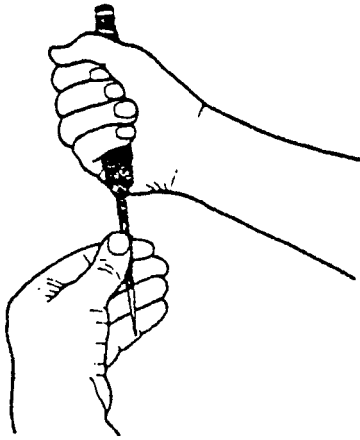
2. Entleeren

- Pipettenspitze gegen die Gefäßwand halten
- Bedienungsknopf langsam zum ersten Anschlag bewegen
- 2 - 3 sec halten
- Bis zum Endanschlag durchdrücken
- Bedienungsknopf halten und Pipette von der Gefäßwand abheben
- Bedienungsknopf bis zum Anschlag zurückgleiten lassen

Pipettenspitzen entsprechend Farbkodierung auswählen:

Pipetten 1- 100 µl: gelbe Pipettenspitzen
 Pipetten 120 - 1000 µl: blaue Pipettenspitzen
 Pipettenspitzen durch Drehung fest auf den Arbeitskonus aufstecken



Handhabung der Pipette:

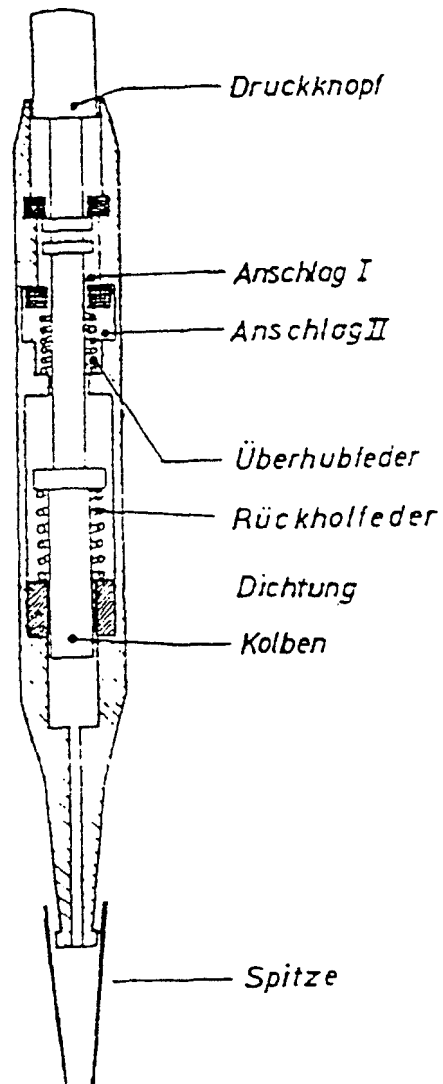
Aufstecken der Pipettenspitzen



Arbeitshaltung der Pipette

Schema des Aufbaus der
Automatik-Pipette

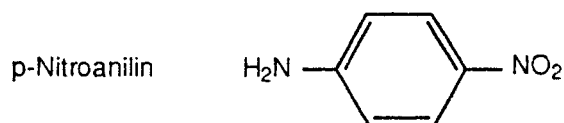
Beim Arbeiten mit der Pipette ist sorgfältig darauf zu achten, daß keine Flüssigkeit in den Pipettenkörper gelangt!



VERSUCH: PHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG EINES EXTINKTIONSKOEFFIZIENTEN

Um die Konzentration eines Stoffes aus der Extinktion berechnen zu können, muß der Extinktionskoeffizient ε bekannt sein. Dazu wird zunächst eine Eichkurve mit mehreren abgestuften bekannten Konzentrationen erstellt. Die gemessenen Extinktionen werden dann auf der Ordinate gegen die Konzentration aufgetragen. Wenn das LAMBERT-BEER'sche Gesetz erfüllt ist, so ist die Eichkurve eine Gerade und ε kann daraus abgelesen werden.

In diesem Versuch soll der Extinktionskoeffizient von p-Nitroanilin bestimmt werden. p-Nitroanilin ist gelb gefärbt und kann bei 405 nm photometrisch gemessen werden.



Versuchsdurchführung

Lösungen:

p-Nitroanilin-Stammlösung (40 nmol/ml, in Tris-Puffer)

Tris-Puffer (pH 7,4)

Pipettieren Sie in vorbereitete Reagenzgläser:

Ansatz	p-Nitroanilin (ml)	Tris-Puffer (ml)
1	0,5	2,5
2	0,5	2,5
3	1,0	2,0
4	1,0	2,0
5	1,5	1,5
6	1,5	1,5
7	2,0	1,0
8	2,0	1,0
9	2,5	0,5
10	2,5	0,5
11	3,0	0,0
12	3,0	0,0
Leerwert	0,0	3,0

Messen Sie die Extinktionen der Ansätze 1 - 12 bei der Wellenlänge 405 nm im Photometer in einer Küvette mit 1 cm Schichtdicke gegen eine Küvette mit Tris-Puffer (= Leerwert).

Auswertung: Stellen Sie die Abhängigkeit der Extinktion (Ordinate) von der Konzentration an p-Nitroanilin (Abszisse) graphisch dar. Ermitteln Sie den Extinktionskoeffizienten ε für p-Nitroanilin aus der Ausgleichsgeraden. Der Extinktionskoeffizient für p-Nitroanilin wird auch für den Abschnitt 1 (Enzyme) benötigt.

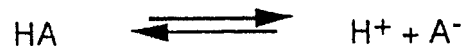
2. Titration

Theoretische Vorbemerkungen

Starke Säuren, starke Basen und die meisten Salze sind in wässriger Lösung völlig dissoziiert, z.B.



während bei schwachen Säuren und Basen ein Gleichgewichtszustand zwischen dissoziierter und undissoziierter Form besteht, auf den das Massenwirkungsgesetz anwendbar ist:



(HA: schwache Säure, A⁻ : Base)

$$K = \frac{[\text{H}^+] \times [\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Die Gleichgewichtskonstante wird als Dissoziationskonstante K bezeichnet. Durch logarithmische Umformung ergibt sich aus der Massenwirkungsgleichung die

HENDERSON-HASSELBALCH' sche Gleichung:

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

Wenn die Konzentration von

$$[\text{A}^-] = [\text{HA}]$$

ist, hat der Logarithmus den Wert Null und es gilt dann

$$\text{pH} = \text{pK}$$

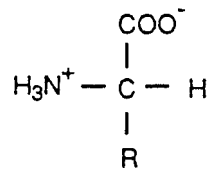
Dieser Fall tritt ein, wenn die Säure zur Hälfte in ihr Salz überführt worden ist bzw. zur Hälfte neutralisiert ist. Man nennt diesen Punkt in der Titrationskurve daher auch Punkt der halben Neutralisation.

Der pK-Wert einer schwach dissoziierten Säure ist daher definiert

1. als der negative dekadische Logarithmus der Dissoziationskonstanten,
2. als der pH-Wert, bei dem 50 % der Säure in das Salz umgesetzt sind.

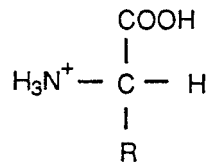
Aminosäuren können in Abhängigkeit vom pH-Wert der Lösung als Anionen, Kationen und Zwitterionen vorliegen:

Aminosäuren kommen bei einem pH-Wert, der genau dem jeweiligen isoelektrischen Punkt (I.P.) entspricht, als Zwitterion vor:



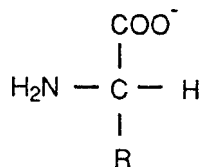
pH = I.P., Zwitterion

Herrscht im Medium ein Protonenüberschuß (sauer, pH < I.P.), wird an die COO⁻ Gruppe ein Proton angelagert:



pH < I.P., Kation

Herrscht ein Protonenmangel (basisch), gibt die NH₃⁺ - Gruppe ihr Proton ab (pH > I. P.):



pH > I.P., Anion

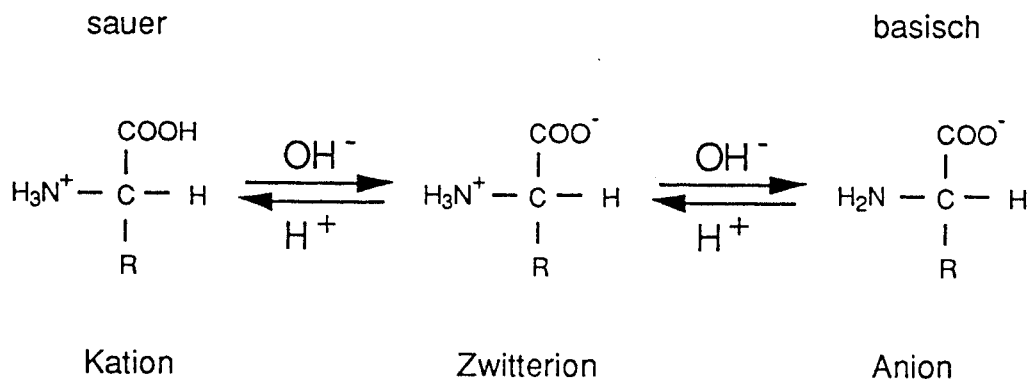
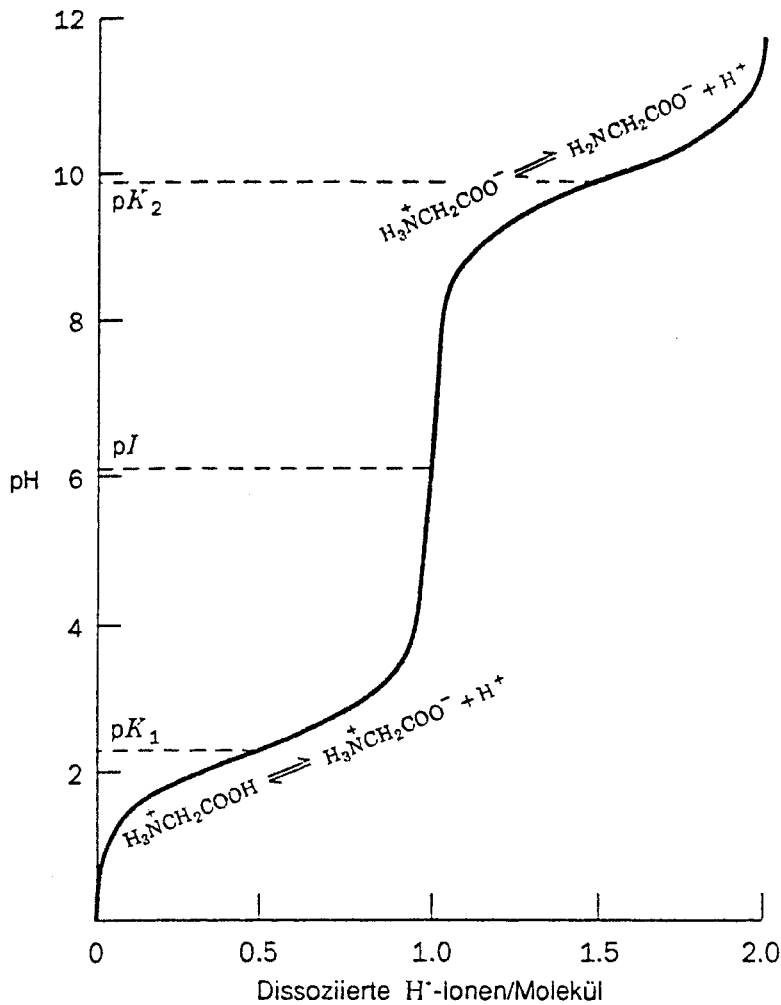
Für beide dissoziablen Gruppen gibt es einen pK-Wert: für die Carboxylgruppe (pK_1) liegt er bei den einfach aliphatischen Aminosäuren zwischen 2 und 3 und für die α -Aminogruppe (pK_2) zwischen 9 und 10. Bei einem bestimmten pH-Wert, dem isoelektrischen Punkt, ist die Zahl der positiven und die Zahl der negativen Ladungen gleich. Die Moleküle sind daher im Mittel (statistisch) neutral. Es erfolgt keine Wanderung im elektrischen Feld. Wechselwirkungen mit dem Dipol des Wassers sind minimal. Die Löslichkeit der Aminosäuren ist am isoelektrischen Punkt am geringsten. Bei Aminosäuren ohne dissoziablen Gruppen in der Seitenkette liegt der isoelektrische Punkt (I.P.) genau in der Mitte zwischen pK_1 und pK_2 .

$$\text{I.P.} = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

pK-Werte der ionisierbaren Gruppen einiger Aminosäuren bei 25 °C:

Aminosäure	pK_1	pK_2	pK_R
	α -COOH	α -NH ₃ ⁺	R-Gruppe
Glycin	2,34	9,60	
Alanin	2,34	9,69	
Leucin	2,36	9,60	
Serin	2,21	9,15	
Threonin	2,63	10,43	
Glutamin	2,17	9,13	
Asparaginsäure	2,09	9,82	3,86
Glutaminsäure	2,19	9,67	4,25
Histidin	1,82	9,17	6,00
Cystein	1,71	10,78	8,33
Tyrosin	2,20	9,11	10,07
Lysin	2,18	8,95	10,53
Arginin	2,17	9,04	12,48

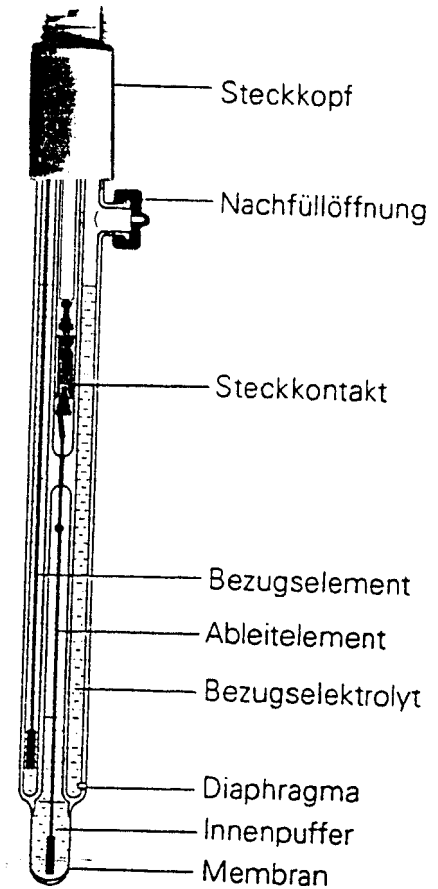
Gibt es zusätzliche dissoziierbare Gruppen in einer Aminosäure, so ist dies bei der Berechnung des I.P. zu berücksichtigen: der I.P. liegt hier zwischen den beiden pK-Werten, an denen der Übergang von der (statistisch) neutralen zur einfach geladenen Form erfolgt. Die Änderung der Aminosäure von der kationischen Form über das Zwitterion bis zum Anion kann aus der folgenden Titrationskurve am Beispiel des Glycins abgelesen werden:



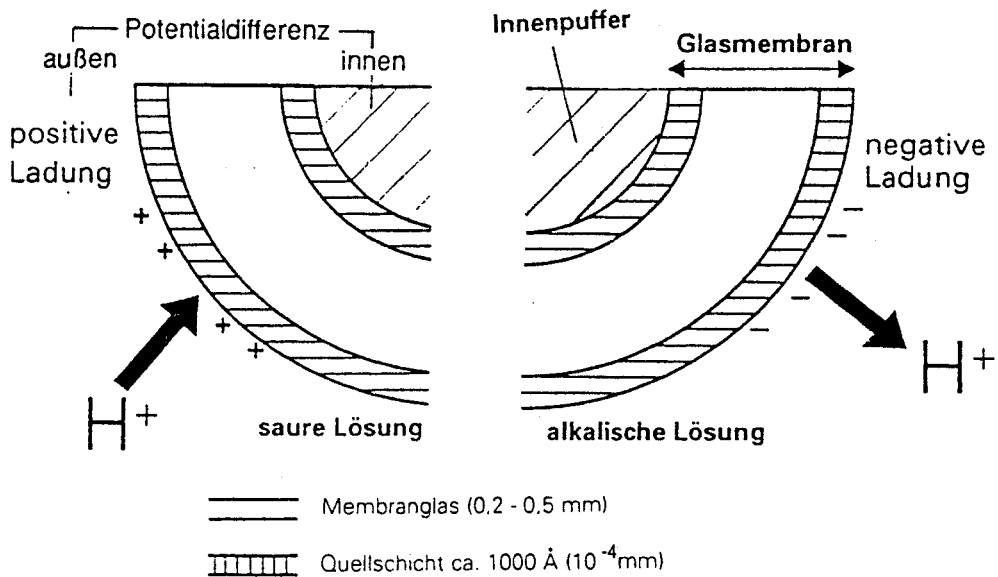
pH-Elektrode

Die heute allgemein benutzte Methode zur Messung des pH-Wertes ist eine potentiometrische Methode, bei der Konzentrationsänderungen in Form von Potentialdifferenzen gemessen werden. Hierzu wird in der Regel eine sog. Einstabmeßkette (pH-Elektrode) eingesetzt. Die Einstabmeßkette besteht aus einer Glaselektrode (der eigentlichen pH-Elektrode) und einer Bezugselektrode.

Die Glaselektrode bildet den Kern der Einstabmeßkette. Wird eine Glaselektrode in eine wäßrige Lösung getaucht, bildet sich am pH-sensitiven Membranglas eine Quellschicht. Dies geschieht auch an der Innenseite der Glasmembran, die mit einer definierten Pufferlösung (Innenpuffer) in Kontakt steht. Je nach pH-Wert der Meßlösung diffundieren die H⁺-Ionen aus der Quellschicht heraus oder in die Quellschicht hinein. Bei einer alkalischen Meßlösung z.B. diffundieren die H⁺-Ionen nach außen, wobei sich ein negatives Potential an der Quellschichtaußenseite aufbaut. Da der Innenpuffer einen konstanten pH-Wert hat (z.B. 7,0), ist das Potential dort während einer Messung konstant. Die Spannung ergibt sich aus der Potentialdifferenz innen/außen.



Aufbau einer Einstabmeßkette



Schematische Darstellung der Glasmembranfunktion

Die Bezugs elektrode umgibt die Glaselektrode konzentrisch. Sie besteht aus einem Bezugselement, welches sich in einer definierten Elektrolytlösung befindet. Dieser Elektrolyt muß ebenfalls mit der Meßlösung Kontakt haben. Dieser Kontakt wird in den meisten Fällen über ein poröses Keramikdiaphragma hergestellt. Die Spannung des Bezugselektrodensystems, die konstant und unabhängig von der Meßlösung sein muß, wird durch den Bezugselektrolyten (z.B. 3 M KCl) und das Bezugselement (z.B. Silber/Silberchlorid) definiert.

Die Messung der Spannungsdifferenz Glas- und Bezugselektrode erfolgt nach entsprechender Verstärkung mit einem auf pH-Einheiten geeichten Voltmeter. Da die Größe der Spannungsdifferenz nicht nur von der Potentialdifferenz zwischen der Pufferlösung in der Elektrode und der Meßlösung abhängt, sondern auch von der Art des Glases, der Herstellungsweise der Elektrode, der Meßtemperatur, dem Alter der Elektrode und der Pflege der Elektrode, sind nur Relativmessungen möglich. Deshalb muß immer eine Eichung der Apparatur mit mindestens zwei verschiedenen Eichpuffern (z.B. pH 7,0 und pH 2,0) erfolgen. Die Eichung der pH-Meter erfolgt einmal zu Beginn des Versuchs.

VERSUCH: TITRATION EINER AMINOSÄURE

In diesem Versuch sollen die pK-Werte und der isoelektrische Punkt einer Aminosäure festgestellt werden.

Versuchsdurchführung:

Die Aminosäuren sind in 0,1 N HCl gelöst, haben also bei 0 ml Zugabe von NaOH einen pH-Wert von 1,0.

Bedienung des pH-Meters und der pH-Elektrode:

Nach dem Einschalten ist das pH-Meter zuerst mit Hilfe der bereitstehenden Eichlösungen zu eichen. Die pH-Elektrode wird nach der Entnahme aus der KCl-Lösung und vor dem Eintauchen in die Lösungen mit destilliertem Wasser abgespült. Die pH-Elektrode ist immer senkrecht zu halten (Innenpuffer, Bezugselektrolyt!), sie darf nicht trocken werden und ist nach der Messung in die KCl-Lösung zurückzustellen.

BITTE GEHEN SIE VORSICHTIG MIT DER pH-ELEKTRODE UM: SIE IST ZERBRECHLICH UND TEUER!

Aminosäuretitration mit 1 N NaOH:

- a) pH-Meter auf Bereich 0 - 14 einschalten und mit mindestens 2 Eichlösungen eichen, pH-Elektrode wieder in die KCl-Lösung zurückstellen
- b) 20 ml der Aminosäure (0,5 M, ca. pH 1) in einen Meßzylinder dekantieren

- c) pH-Elektrode aus KCl-Lösung nehmen, spülen und in die Aminosäurelösung eintauchen
- d) pH-Wert ablesen und notieren (bei jeder Messung ca. 15 sec Äquibrierzeit)
- e) 1,0 ml NaOH (1 mol/l) zugeben, Magnetrührer einschalten (zur pH-Messung Magnetrührer wieder ausschalten!)

DER RÜHRKERN DARF AUF KEINEN FALL DIE ELEKTRODE BERÜHREN!

- f) Arbeitsgänge d) und e) wiederholen bis pH 12 (bei Lösung 2: pH 13) erreicht ist
- g) pH-Elektrode herausnehmen, mit dest. Wasser spülen und in KCl stellen.

BITTE LASSEN SIE DIE ELEKTRODE NIE LÄNGER ALS NÖTIG OHNE FLÜSSIGKEIT!

BITTE ACHTEN SIE NACH VERSUCHSENDE DARAUF, DASS BEIM WEGGIESSEN DER TITRIERTEN LÖSUNG DER RÜHRKERN NICHT IM ABFLUSS VERSCHWINDET!

Nach Gebrauch des pH-Meters wird dieses wieder ausgeschaltet!

Versuchsauswertung:

Stellen Sie die Ergebnisse graphisch dar (siehe: Theoretische Vorbemerkungen). Zeichnen Sie die pK-Werte und den isoelektrischen Punkt ein. Wieviele ionisierbare Gruppen hat die Aminosäure? Können Sie die Aminosäure identifizieren?