

Øvelser om aminosyrer og peptider

Øvelse 1

Hydrolyse af aspartam - undersøgelse af "Canderel" sødetabletter.

Formål

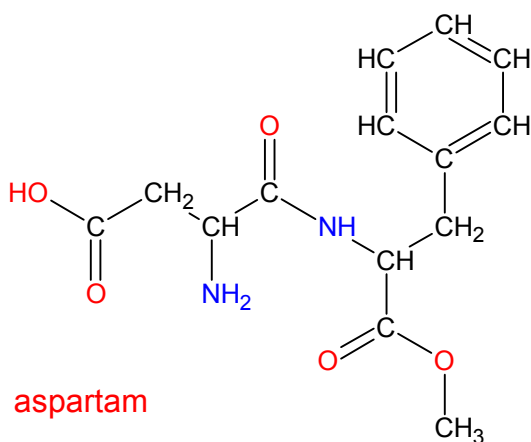
At undersøge hydrolysetiden for sødestoffet aspartam, og ved hjælp af TLC at identificere hydrolyseprodukterne. Klassen tilrettelægger et måleprogram, hvor der varieres på hydrolysetid og koncentration.

Kemikalier og apparatur

Aspartam ("Canderel"-tabletter - indeholder 15 mg aspartam pr. tablet), 4M HCl, 2M HCl og 1M HCl, 10 mL måleglas, refluxopstilling med 50 mL kolbe, pimpsten, TLC-plader og løbevæske (se lærervejledning), standarder til chromatografi: 0,01M asparaginsyre og 0,01M phenylalanin, ninhydrinopløsning til fremkaldelse af aminosyrerne, evt. forstøversprøjte, hårtørrer.

Teori

Peptidbindingerne i proteiner kan hydrolyseres med saltsyre under reflux. Det kunstige sødestof aspartam er metylesteren af dipeptidet aspartylphenylalanin (Asp Phe). Når aspartam hydrolyseres vil esterbindingen også spaltes og man vil få de oprindelige aminosyrer asparaginsyre og phenylalanin gendannet.

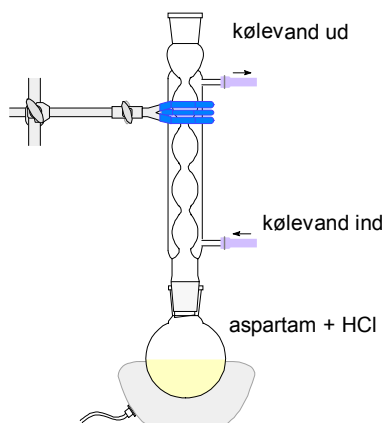


Forsøgsbeskrivelse

Tilrettelæg en forsøgsserie, hvor klassen i fællesskab undersøger kombinationer af hydrolysetid og saltsyrens koncentration for at sikre, at aspartam hydrolyseres. Når den enkelte gruppe ved hvilket forsøg den skal udføre, opstilles refluxstyret, 2 sødetabletter (knuses), tilsættes sammen med pimpsten og 25 mL saltsyre, hvorpå hydrolysen startes.

(Det kan blive aktuelt, at de hold, der har lange hydrolysetider, lader læreren stoppe forsøget, når tiden er gået).

Opstilling



Undersøgelse med TLC

Efter afkøling skal produkterne undersøges vha. TLC. Der klippes en TLC plade på ca. 5 x 9 cm². Der tegnes en startlinie nederst på pladen med en blød blyant. På denne startlinie anbringes pletter af hydrolyseproduktet og af de rene aminosyrer: phenylalanin og asparaginsyre. Påsætning af pletterne kan ske med udtrukne smeltepunktsrør og bør efter tørring gentages flere gange.

Chromatogrammerne placeres i karret, hvori atmosfæren er mættet med løbevæskens dampe. Løbevæsken skal stå 4-5 mm op i karret. Karret dækkes til og chromatogrammet tages op, når væskefronten er nået ca. 8 cm op af chromatografipladen. Marker straks væskefronten med en blød blyant inden pladen tørrer.

Når alle chromatogrammerne er færdige og tørre sprøjtes de af læreren med ninhydrinopløsning i stinkskab. Chromatogrammerne holdes med en tang og opvarmes forsigtigt med en hårtørrer (eller de tørres i varmeskab). Pletterne markeres med en blyantsring efterhånden som de fremkaldes.

Efterbehandling

- Forklar udseendet af gruppens chromatogram og identificer de forskellige pletter. Er der noget der tyder på at aspartam er blevet hydrolyseret? *Bemærk:* For at være sikker på at der *er* sket en hydrolyse, skal asparaginsyre findes i produktet, idet nogle sødetabletter udover aspartam også kan indeholde phenylalanin.
- Diskuter, om man kunne forbedre identifikationen af hydrolyseprodukterne.
- Lav en fælles opsamling af gruppernes resultater. Hvilke forsøgsbetingelser er optimale for at sikre en hydrolyse?
- Skriv til sidst reaktionsskemaet for hydrolyse af aspartam, idet stofferne skrives med strukturformler. Navngiv de dannede produkter.