

1. A mennyiségi (kvantitatív) analízis alapjai

„Az orvosi kémia és biokémia a laboratóriumokban” (szerk.: dr. Mandl József) hasonló című fejezetéből válogatta **dr. Tóth Miklós** és kiegészítéssel ellátta **dr. Solymossy Magda**

Kémiailag tiszta anyagok vagy keverékek összetételét kémiai elemzéssel (analízissel) tisztázhatjuk. Ilyenkor két kérdésre keresünk választ.

1. Milyen komponensekből van felépítve a vizsgálandó anyag? Ezt a feladatot a minőségi elemzés (kvalitatív analízis) módszereivel kell megoldanunk.
2. Gyakran azt is tudni kívánjuk, hogy a vizsgálandó anyagban az egyes komponensek milyen mennyiségben vannak jelen. Ennek megállapítása a mennyiségi (kvantitatív) analízis feladata.

A meghatározás ritkán úgy is keresztülvihető, hogy a meghatározandó anyagot tisztán elválasztjuk a többitől, és súlyát megmérjük. Általában azonban ennél bonyolultabb megoldást kell választanunk. Ilyenkor a meghatározandó anyagot valamilyen kémiai, fizikai-kémiai változásnak, illetve vizsgálatnak vetjük alá, és ennek eredményéből számítás útján határozzuk meg az egyes alkotórészek mennyiségét.

Ilyen fizikai-kémiai módszer pl. az, ha a NaCl-oldat koncentrációját az oldat fagyáspontcsökkenéséből számítjuk ki. A kémiai és fizikai-kémiai módszerek közötti határ nem éles.

1.1. Kémiai analitikai módszerek

A kémiai eljárások két klasszikus módszere a gravimetria és a titrimetria.

A **gravimetriában** (súlyanalitika) a meghatározás a közvetlen tömegmérésen alapul. A meghatározandó anyagot egy bizonyos reagenssel kvantitatíve oldhatatlan reakciótermékké alakítjuk át. A reakcióterméket rendszerint szűrés segítségével elválasztjuk, majd szárítás után tömegét analitikai mérlegen megmérjük. A tömegmérés eredményéből kiszámíthatjuk a meghatározandó anyag mennyiségét. A gravimetriás eljárások általában igen pontosak, de munka- és időigényesek.

A **titrimetriás** (térfogatós, volumetriás) módszerek közvetve szintén mérlegelésen alapulnak. Mérlegelés segítségével pontosan meghatározott normalitású mérőoldatot készítünk, amelyet bürettából adagolunk a meghatározandó anyag oldatához. A felhasznált mérőoldat térfogata és koncentrációja ismeretében számítjuk ki a meghatározandó anyag mennyiségét, illetve koncentrációját.

A titrimetriás eljárásoknak két alapvető feltétele van:

- a) A mérőoldatnak gyorsan és teljesen kvantitatíve kell reagálnia a meghatározandó anyaggal.
- b) A reakció végbemenetelét valamilyen módon érzékelnünk kell. Bizonyos esetekben, ha a meghatározandó anyag vagy a mérőoldat színes, a reakció lezajlását spontán színváltozás kíséri. Ha pl. a színtelen H_2O_2 -oldathoz cseppenként ismert normalitású $KMnO_4$ -

mérőoldatot adagolunk, a H_2O_2 a lila színű KMnO_4 -ot redukálja és az oldat mindaddig színtelen marad, míg H_2O_2 -ot tartalmaz. Miután a H_2O_2 elfogyott, a következő csepp KMnO_4 már rózsaszínűre festi a meghatározandó oldatot, és így a titrálás végpontját kellő pontossággal meg tudjuk állapítani.

Más esetekben a meghatározandó oldathoz hozzá kell tennünk egy olyan anyagot, amely a titrálás végpontjában színét változtatja és ily módon jelzi (indikálja) a keresett végpontot. Az ilyen tulajdonságú anyagokat **indikátoroknak nevezzük**.

A titrimetriás eljárásokat aszerint osztályozzuk, hogy milyen mérőoldatot alkalmazunk, illetve, hogy milyen típusú reakció zajlik le a titrálás alatt.

E csoportok a következők:

1. **Neutralizációs analízis** (acidi- és alkalimetria) (lásd 1.1.1)

Bázisok koncentrációját ismert koncentrációjú savval (acidimetria), savak koncentrációját ismert koncentrációjú lúggal (alkalimetria) való titrálással a közömbösítési reakció (neutralizáció) alapján határozhatjuk meg. Az ezek során felhasznált indikátorok az ún. sav-bázis indikátorok, más néven pH-indikátorok.

2. **Oxidáció és redukció alapuló** titrálási módszerek (oxidimetria és reduktometria) (lásd 1.1.2)

Ezek során teljesen végbemenő és jól indikálható oxido-redukciós folyamatokat használunk fel titrálásra. Aszerint, hogy milyen mérőoldatot használunk, a következő főbb módszerek tartoznak ide:

A módszer neve:	A mérőoldat:
permanganometria	KMnO_4
cerimetria	$\text{Ce}^{\text{IV}}(\text{SO}_4)_2$
kromatometria	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
bromatometria	KBrO_3
jodometria	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
aszkorbinometria	aszkorbinsav

Ezek közül a módszerek közül csupán a permanganometriával és a jodometriával fogunk részletesen foglalkozni.

3. **Csapadékos titrálási** módszerek (lásd 1.1.3)

Ennél a módszernél a titrálandó, illetve a titráló oldatban lévő komponensek közötti, teljesen végbemenő reakcióban csapadék képződik, s a megfelelően indikált csapadék-képződés szolgál a meghatározás alapjául.

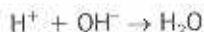
4. **Komplex vegyületek képződésén alapuló** módszerek (komplexometria; lásd 1.1.4)

A komplexometriában a titrálandó és a mérőoldat közötti reakciótermék komplex vegyület. A „kompleképző”, rendszerint szerves vegyületet a mérőoldat tartalmazza.

1.1.1. Neutralizációs analízis (acidi-alkalimetria)

A savak és bázisok koncentrációját közömbösítési reakció alapján határozhatjuk meg. A mérés elve, hogy az ismeretlen koncentrációjú sav (vagy bázis) oldatához annyi pontosan ismert koncentrációjú bázist (savat) adunk, hogy a titrálás végpontjában sem az oxónium-ionok, sem a hidroxidionok ne maradjanak feleslegben. A mérőoldat mennyiségéből szá-

mitjük ki az ismeretlen oldat koncentrációját. Az acidi-alkalimetria „egyenlete” vizes közegben:



Mint ahogy a H^+ a vízmolekulához kapcsolódik, és H_3O^+ -formában fordul elő, ezért az alábbi reakciót írhatjuk fel:



A titráláshoz szükségünk van pontos ismert koncentrációjú oldatokra (mérőoldatokra), továbbá pontos térfogatmérő eszközökre. A titrálás végpontjának megállapítására különböző pH-indikátorokat használunk.

Mérőoldatok

A lúgok titrálásához valamilyen erős savat, leggyakrabban HCl-at használunk. A mérendő oldat koncentrációjának megfelelően 1 N, 0,1 N vagy 0,01 N HCl-val végezzük a titrálást.

A savak koncentrációjának mérésére erős lúgot, NaOH-ot alkalmazunk. Itt is a mérendő sav koncentrációjától függően 1 N, 0,1 N vagy 0,01 N NaOH-ra lehet szükségünk.

Tudnivalók

A meghatározandó oldatot kétjeles pipettával mérjük a titráló lombikba. A pipettázásnak nagyon pontosan kell történnie, ezért fontos, hogy az oldat felszívása után a pipetta végét szűrőpapírral vagy papírvattával megtöröljük, hogy a kívülről rátapadó cseppek a mérést ne hamisítsák meg.

A 25-50 ml-es burettán a térfogatot egy tizedesjegy pontossággal olvashatjuk le. Mivel a század ml-ek a burettán nincsenek megjelölve, a 0,1 ml-es osztások közé eső értékeket csak szemmel becsüljük meg. A meniszkusz leolvasása előtt minden alkalommal kb. fél percet várunk, hogy a buretta falára tapadt folyadékréteg is lecsurogjon (utánfolyás).

A térfogatmérő eszközöket nem szabad melegíteni, vagy meleg oldattal megtölteni. Ha nem teljesen száraz mérőeszközökkel dolgozunk, használat előtt kiöblítjük őket. A pipetta és buretta öblítése azzal az oldattal történik, amelyet bele fogunk tölteni; a mérőlombikot desztillált vízzel öblítjük.

pH-indikátorok

Az acidi-alkalimetriában a savaknak bázisokkal és bázisoknak savakkal való közömbösítése során a titráló oldat erős sav, vagy erős bázis. A titrálendő sav, illetve bázis azonban különböző erősségű lehet. A gyenge savak disszociációja magasabb pH-nál lesz teljes, ezért a sav teljes közömbösítése is ezen a magasabb pH-n következik be. Az acidi-alkalimetriában célszerűen olyan pH-indikátort használunk, amely a teljes közömbösítésnek megfelelő pH-tartományban változtatja színét.

A leggyakrabban használt két indikátor a fenolftalein és a metilnarancs. A fenolftalein lúgos közegben csap át (pH 8,2-10,0), a metilnarancs átcsapási tartománya pH 3,1-4,4. Metilnarancsot használunk, ha gyenge bázist titrálunk erős savval; fenolftaleint, ha gyenge savat erős bázissal. Ha a sav is és a bázis is erős (pl. HCl-at NaOH-dal titrálunk), mindkét indikátor alkalmazható, de általában a metilnarancsot használjuk.

A metilnarancs gyenge sav, disszociációját a $\text{HInd} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{Ind}^-$ egyenlet írja le, melyből a disszociációs konstans:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{Ind}^-]}{[\text{HInd}]}$$

Ebből az egyenletből kifejezhető, hogy

$$\frac{K_a}{[H^+]} = \frac{[Ind^-]}{[HInd]}$$

A képletben szereplő Ind^- (indikátor-anion) és $HInd$ (indikátor-molekula) különböző színűek, az előbbi sárga, utóbbi vörös. Az emberi szem akkor érzékeli egyik, vagy másik színűnek az indikátort, ha a két színes alak közül az egyik tízszer nagyobb koncentrációjú, mint a másik. Pl. a metilnarancsot akkor látjuk vörös színűnek, ha a $HInd$ koncentrációja tízszer nagyobb, mint az Ind^- koncentrációja. A fenti összefüggés szerint a $HInd$ koncentrációja akkor lesz tízszer több, amikor a H^+ koncentrációja tízszer nagyobb, mint a K_a . Viszont az Ind^- koncentrációja akkor lesz tízszer nagyobb, mint a $HInd$ koncentrációja, amikor a H^+ koncentrációja tízszer kisebb, mint a K_a . Mindezekből következik, hogy az indikátorok K_a -értéke alapján megállapítható az a H^+ -koncentráció-intervallum, melyen belül a színváltozás bekövetkezik.

A titrálás alatt bekövetkező változások jól szemléltethetők, ha az oldat pH-változását a foygott titrációoldat mennyiségének függvényében ábrázoljuk. Nyilvánvaló, hogy a titrált oldat pH-ja pl. egy erős sav titrálása során egyre nő, mert a H^+ -ionokat a NaOH közömbösíti. Amikor pedig bekövetkezik a sav teljes közömbösítése, a NaOH további adagolásakor az oldat pH-ja meredeken emelkedik. Eltérő módon változik a pH gyenge sav titrálása során. Ha ecetsavat titrálunk NaOH-dal, először az ecetsav disszociációjából keletkezett H^+ -ionok közömbösítődnek. A disszociációs állandó a titrálás közben természetesen nem változik; állandóságát újabb ecetsav-molekulák disszociációja biztosítja, illetve tartja fenn. A disszociáció az oldatban lévő ecetsav teljes disszociációjáig, vagyis a teljes közömbösítésig folyik. A titrálás befejeztét itt is meredek pH-emelkedés kíséri, amely a közömbösítés után adott NaOH hatására következik be.

Minden titrálás, megfelelő indikátor mellett akkor fejeződik be, amikor a sav, vagy bázis disszociációja teljes, és a szabaddá vált H^+ , illetve OH^- -ionokat teljes mértékben közömbösítettük.

A disszociációs konstans ismeretében már a titrálás előtt eldönthetjük, hogy milyen pH-érték közelében fejeződik be a közömbösítés. Vegyük például az ecetsavat, amelynek a disszociációs konstansa:

$$K_a = \frac{[H^+] \cdot [CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = 1,85 \cdot 10^{-5}$$

Ebből kifejezve a $[H^+]$ -t:

$$[H^+] = K_a \frac{[CH_3COOH]}{[CH_3COO^-]}$$

A kifejezésből látszik, hogy amikor az ecetsav és az acetátionok koncentrációja egyenlő, az oldat H^+ -koncentrációja éppen a K_a értékével azonos. Amikor pedig az acetátionok koncentrációja százszorosa az ecetsavénak, a H^+ -koncentráció az oldatban a K_a értékének századrészére csökken. Ez azt jelenti, hogy az ecetsav titrálása ennél a pH-nál (H^+ -koncentrációnál) mintegy 99%-ban megvalósult. Minthogy az ecetsav K_a -értéke megközelítőleg 10^{-5} , kimondhatjuk, hogy az ecetsav titrálása 10^{-7} M H^+ -koncentrációnál

(pH 7-nél) megközelíti a 100%-ot. Az ecetsavnak 99,9%-a van közömbösítve, amikor a H^+ -koncentrációt további NaOH adásával 10^{-8} -ra csökkentjük; vagyis pH 8-nál a titrálást gyakorlatilag befejezetteknek kell tekinteni.

A példa egyrészt szemlélteti azt, hogy a K_a ismeretében a titrálás befejeztét egy pH-intervallumon belül előre megbecsülhetjük, másrészt számszerűen bizonyítja azt a már ismertettelt, szükséges feltételt, miszerint a gyenge sav titrálására pH 7 felett átcsapó indikátort kell használnunk. Mindez természetesen fordított értelemben a gyenge bázisok titrálására is érvényes.

1.1.1.1. 0,1 N HCl-oldat készítése és faktorozása

0,1 N HCl-oldatot cc. HCl hígításával készítünk. A cc. HCl koncentrációját közelítő pontossággal fajsúlyából (sűrűségéből) állapíthatjuk meg. A sűrűség első két tizedesének kétszerese megadja a HCl koncentrációját tömegszázalékban. Ez csak a HCl esetében van így. Pl. az $1,17 \text{ g/cm}^3$ sűrűségű cc. HCl koncentrációja 34 tömeg% (34 g HCl 100 g oldatban), más savaknál a sűrűség-koncentráció összefüggéseket feltüntető táblázatokból olvasható le a m/m% értéke.

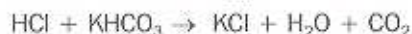
0,1 N HCl-oldatot cc. HCl megfelelő hígításával készíthetünk. Mivel azonban a sűrűség alapján történő koncentráció-meghatározás csak hozzávetőleges, és a hígítást sem tudjuk tökéletes pontossággal végezni, az így készült HCl-oldat koncentrációja nem lesz pontosan 0,1 N. Az acidimetriás mérésekhez pontosan ismert koncentrációjú mérőoldatra van szükségünk, tehát meg kell határozni ennek az eltérésnek a nagyságát. Az eltérést a mérőoldat faktorával jellemezzük.

A faktor az a szám, amely megmutatja, hogy a mérőoldatunk 1 ml-e hány ml pontos mérőoldatnak felel meg. Ha oldatunk pontosan 0,1 N, akkor faktora 1. Ha hígabb ennél, faktora egynél kisebb lesz, mert 1 ml-e kevesebb HCl-at tartalmaz, mintha pontosan 0,1 N lenne. Töményebb oldat faktora egynél nagyobb szám lesz, mert 1 ml-e több HCl-at tartalmaz, mint a pontosan 0,1 N oldat. Ha pl. 0,999 a mérőoldat faktora, ez azt jelenti, hogy 1 ml-e csak annyi HCl-at tartalmaz, mint 0,999 ml pontosan 0,1 N HCl-oldat. A titrálás eredményének kiszámításánál ezt az eltérést tekintetbe kell vennünk. Ha ilyen oldatból pl. 10 ml fogyott el a meghatározáshoz, ez annyit jelent, mintha a pontosan 0,1 N HCl-oldatból csak $10 \times 0,999 = 9,99$ ml fogyott volna.

A faktor megállapítása úgy történik, hogy valamilyen nagyon pontosan mérhető anyagot titrálunk meg a kérdéses mérőoldattal. A reakcióegyenlet alapján megállapítjuk, hogy ha oldatunk pontosan 0,1 N lett volna, mennyi HCl-nak kellett volna fogynia a titrálásakor. A mérőoldat pontatlansága miatt a gyakorlatban mért fogyás ettől eltér. A számított és a valóságban mért mennyiség hányadosa adja a faktort.

A HCl faktorának megállapítására $KHCO_3$ -ot használunk, ennek pontosan ismert mennyiségét titráljuk meg a HCl-oldattal. A $KHCO_3$ azért alkalmas a faktorozásra, mert nagyon pontosan mérhető, nem higroszkópos (nedvszívó), nem köt CO_2 -ot, levegőn nem változik, teljesen tisztán előállítható, kristályos anyag. Ezeknek a feltételeknek minden olyan anyagnak eleget kell tennie, amelyet bármely mérőoldat faktorozásához használni akarunk.

A HCl és $KHCO_3$ közötti reakció a következő egyenlet szerint megy végbe:



Egy molekula KHCO_3 1 molekula HCl -at fogyaszt el, a KHCO_3 egyenértéksúlya (az a mennyiség, amely egyenértékűlyni HCl -val reagál) tehát egyenlő a molekulásúlyával ($M_s=100,113$). 100,113 g KHCO_3 a titrálásnál gramm-egyenértékűlyni HCl -at fogyaszt el, vagyis pontosan 1,0 N oldatból 1000 ml-t, 0,1 N oldatból 10000 ml-t, 0,01 N oldatból 100 000 ml-t. Ennek alapján ki tudjuk számítani, hogy az általunk bemért mennyiségű KHCO_3 titrálására mennyi mérőoldatnak kellett volna fogynia, ha sósavunk pontosan 0,1 N koncentrációjú lenne. Ezt a számot elosztva a titráláskor fogyott HCl mennyiségével:

$$\frac{\text{számított HCl-fogyás}}{\text{mért HCl-fogyás}} = f,$$

megkapjuk mérőoldatunk faktorát.

0,1 N sósavoldatot a koncentrált, 37 tömeg%-os HCl -oldat hígításával készítünk. A cc. sósav koncentrációját közelítő pontossággal a sűrűségéből állapíthatjuk meg. Pl. az 1,183 g/ml sűrűségű sósav koncentrációja 37 tömeg%, azaz 37 g HCl van 100 g oldatban, vagy $100/1,183 = 84,53$ ml oldatban. Ebből számítható, hogy a cc. HCl -oldat 100 ml-e 43,77 g HCl -at tartalmaz (43,77 vegyes%-os).

Szükséges anyagok

- cc., azaz 37 tömeg%-os HCl -oldat, sűrűsége 1,183 g/ml
- 0,1 N KHCO_3 -oldat
- metilnarancs-indikátoroldat

Az eljárás

Számítsuk ki, hány ml cc. sósavoldat szükséges 500 ml 0,1 N HCl -oldat készítéséhez! A sósav móltömege 36,5 g/mol.

- A 37 tömeg%-os HCl -oldat 100 gramjában 37 g sósav van oldva.
- 100 g oldat térfogata a sűrűség alapján:

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{100 \text{ g}}{1,183 \text{ g/ml}} = 84,53 \text{ ml.}$$

- 84,53 ml oldatban van 37,00 g sósav
x ml-ben van 3,65 g, az 1000 ml 0,1 N HCl -hoz szükséges sósav tömege
- $x = \frac{84,53 \text{ ml} \cdot 3,65 \text{ g}}{37 \text{ g}} = 8,34 \text{ ml}$ cc. HCl -szükséges 1000 ml oldathoz,
- akkor 500 ml-hez $8,34 : 2 = 4,17 \text{ ml}$ 37 tömeg%-os sósav szükséges.

A cc. sósavoldatot pipettázni tilos, így a fülke alatt 10 ml-es mérőhengerbe mérjük be a szükséges mennyiséget, majd egy desztillált vízzel félig töltött 500 ml-es mérőlombikba öntjük át. A mérőhengert átmoszuk és a lombikot a jelig (500 ml-ig) töltjük desztillált vízzel, majd alaposan összerázzuk.

1.1.1.2. 0,1 N sósavoldat faktorozása

Szükséges anyagok

- az általunk készített 0,1 N HCl-oldat
- 0,1 N KHCO_3 -oldat
- metilnarancs-indikátoroldat
- horzsakő

Az eljárás

Titrálólombikokba kétjeles pipettával bemérünk 3×10 ml 0,1 N KHCO_3 -oldatot, hozzáadunk 1-2 szem horzsakövet és 3 csepp metilnarancs indikátort. Az oldat narancssárga színű lesz. A bürettát öblítsük ki először desztillált vízzel, majd a 0,1 N sósav mérőoldatunkkal, és töltsük fel. A kálium-bikarbonátot az átmeneti szín megjelenéséig titráljuk. A fogyott sósav mennyiségét az utánfolyás bevárása után 0,05 ml pontossággal olvassuk le. A titrált oldatot felforraljuk, ugyanis a titrálásor CO_2 fejlődik, ami a vízzel H_2CO_3 -ot alkot és az oldatot savanyítja, ezért a metilnarancs átcsap, mielőtt még a KHCO_3 titrálása befejeződne. Ennek a zavaró hatásnak a kiküszöbölésére az oldatot felforraljuk, így távolítva el a reakció folyamán képződött CO_2 -ot. A forró oldatot vízcsap alatt lehűtjük (az indikátor színátcsapása ugyanis változik a hőmérséklettel). Ha visszasárgul, tovább titráljuk az átmeneti szín megjelenéséig. Ezt a fogyást hozzáadjuk a forralás előtt mért értékhez, így kapjuk meg a titrálásor fogyott teljes sósavmennyiséget. A faktorozást háromszor végzük el. 10 ml 0,1 N KHCO_3 -ra az elméleti fogyás pontosan 10,0 ml 0,1 N HCl. A három mérés átlagából számoljuk ki a sósav-mérőoldat faktorát. Ha a faktor azt mutatja, hogy a mérőoldat nagyon pontatlan (faktora 0,9-nél kisebb vagy 1,1-nél nagyobb), ne használjuk ezt a további titrálásokhoz, hanem készítsünk új oldatot.

1.1.1.3 Ismeretlen koncentrációjú NaOH-oldat titrálása

Szükséges anyagok

- faktorozott 0,1 N HCl-oldat
- ismeretlen koncentrációjú NaOH-oldat
- metilnarancs-indikátoroldat

Az eljárás

Az ismeretlen nátrium-hidroxid-oldathból 10 ml-t kétjeles pipettával a titrálólombikokba mérünk (3-szor megismételve) és 3 csepp metilnarancs-indikátort adunk hozzá. A bürettát desztillált vizes kimosás, sósav-mérőoldattal való átöblítés után feltöltjük, majd megkezdjük a mérőoldat adagolását. Folyamatos keverés (rázogatózás) közben az átmeneti szín megjelenéséig titráljuk. Az első titrálás megközelítő pontosságú, általában túltitráljuk, vörös színű lesz az oldat. A másik két ismeretlen oldatot az átmeneti színig titráljuk, és ezek eredménye között 0,1 ml-nél nagyobb eltérés nem lehet.

Számítsuk ki a NaOH-oldat normál- és vegyes százalékos koncentrációját! A számolásnál vegyük figyelembe a mérőoldat faktorát! A számításhoz használható egyenlet:

$$f \times V_m \times 0,1 = 10 \times c_x$$

ahol V_m a mérőoldat fogyása ml-ben

c_x az ismeretlen oldat koncentrációja normalitásban kifejezve

f a mérőoldat faktora

1.1.1.4. 0,1 N NaOH-oldat készítése és faktorozása

Az alkalimetriás mérésekhez NaOH-mérőoldatot használunk. Ezt szilárd NaOH bemérésével és feloldásával készítjük. A szilárd nátrium-hidroxid erősen higroszkópos (vizet vesz fel), levegőn CO_2 -ot köt, és így Na_2CO_3 -tá alakul (karbonátosodik). Így a NaOH-ból nem tudunk közvetlen beméréssel pontosan 0,1 N oldatot készíteni, ezért meg kell határozni a mérőoldat faktorát. A NaOH faktorát a faktorozott sósav felhasználásával állapítjuk meg. Ismert faktorú sósavoldatból 10 ml-t titrálunk a NaOH mérőoldattal; kiszámítjuk, hogy a pontos koncentrációjú NaOH-oldatunkból mennyi fogyott volna. Ezt a számított értéket a titrálás során valóban fogyott ml-ek számával elosztva kapjuk a NaOH faktorát, vagy felhasználhatjuk a következő összefüggést:

$$f_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}} = f_{\text{HCl}} \times 10$$

Szükséges anyagok

- szilárd NaOH
- faktorozott 0,1 N HCl-oldat
- metilnarancs-indikátoroldat

Az eljárás

Kiszámítjuk, hogy hány g NaOH szükséges 500 ml 0,1 N NaOH-oldat készítéséhez. A szükséges mennyiségen felül kb. 10%-kal több szilárd NaOH-ot mérünk le a bekészített táramélegben. Az óraüvegről a bemért NaOH-ot óvatosan többször átmossuk desztillált vízzel először főzőpohárba, majd 500 ml-es mérőlombikba, amelyet jelig töltünk.

Faktorozás

10 ml faktorozott 0,1 N sósavat kétjelű pipettával a titrálólombikba mérünk és 3 csepp metilnarancs indikátort adunk hozzá. A bűrettát öblítés után az elkészített 0,1 N NaOH-mérőoldattal töltjük fel. A sósavat az átmeneti színig állandó keverés közben titráljuk. A mérést háromszor végezzük el és az egyes eredményekből középértéket számolunk. A sósav faktorának ismeretében kiszámítjuk, hogy mennyi pontosan 0,1 N NaOH fogyott volna el a titrálásnál. Ebből és az általunk mért értékekből a fentiek alapján kiszámítjuk a mérőoldat faktorát.

A faktort is beleszámolva:

$$f_{\text{HCl}} \times c_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} = f_{\text{NaOH}} \times c_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}$$

Ebből az egyenletből a faktor kifejezve:

$$f_{\text{NaOH}} = \frac{f_{\text{HCl}} \times c_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}}}{c_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}}$$

Például

10,0 ml 0,1 N, $f = 1,047$ HCl-ra fogy 10,5 ml, ismeretlen faktorú 0,1 N NaOH.

A NaOH faktora:

$$f_{\text{NaOH}} = \frac{1,047 \cdot 0,1 \text{ N} \cdot 10 \text{ ml}}{0,1 \text{ N} \cdot 10,5 \text{ ml}} = 0,997$$

Más módon kifejezve:

$$\text{faktor} = \frac{\text{elméleti fogyás}}{\text{gyakorlati fogyás}} = \frac{10 \text{ ml} \cdot 1,047}{10,5 \text{ ml}} = 0,997$$

1.1.1.5. Ismeretlen koncentrációjú sósavoldat titrálása

Szükséges anyagok

- faktorozott 0,1 N NaOH-oldat
- ismeretlen koncentrációjú HCl-oldat
- metilnarancs-indikátoroldat

Az eljárás

10 ml ismeretlen sósavoldatot kétjelű pipettával titrálólombikba mérünk, hozzáadunk 3 csepp metilnarancs-indikátort. A bürettát faktorozott 0,1 N NaOH-mérőoldattal feltöltjük, majd folyamatos rázogatós mellett az átmeneti szín (narancs) megjelenéséig titráljuk. A mérést még kétszer ismétljük meg, és az egyes eredményekből középértéket számolunk.

- *Számítsuk ki az ismeretlen sósav normál- és vegyesszázalékos koncentrációját!*

1.1.1.6. Ismeretlen koncentrációjú ecetsavoldat titrálása

Szükséges anyagok

- faktorozott 0,1 N NaOH-oldat
- ismeretlen koncentrációjú CH_3COOH -oldat
- fenolftalein-indikátoroldat

Az eljárás

10 ml ecetsavoldatot kétjelű pipettával titrálólombikba mérünk. 3 csepp fenolftalein-indikátort adunk hozzá (a fenolftalein semleges és savas közegben színtelen, lúgos közegben pedig piros színű). A bürettát öblítés után jelig töltjük NaOH-mérőoldattal. Az ecetsavoldatot folyamatos rázogatós közben halványpiros szín megjelenéséig titráljuk. A mérést kétszer ismétljük meg. Az eredményekből átlagot számolunk.

- *Számítsuk ki az ecetsav normál- és vegyesszázalékos koncentrációját!*

1.1.1.7. Ismeretlen koncentrációjú kénsavoldat titrálása

Szükséges anyagok

- faktorozott 0,1 N NaOH-oldat
- ismeretlen H_2SO_4 -oldat
- metilnarancs-indikátoroldat

Az eljárás

10 ml kénsavoldatot kétjelű pipettával titrálólombikba mérünk, és 3 csepp metilnaranccs-indikátort adunk hozzá. A bürettát jelig töltjük NaOH-mérőoldattal, majd a kénsavoldatot folyamatos rázogatózás közben átmeneti (narancsvörös) színig titráljuk. A mérést háromszor ismétljük, az eredményeket átlagoljuk.

- Számítsuk ki a kénsav normál-, mólos- és vegyesszázalékos koncentrációját!

1.1.18. Gyomornedv titrálása

Az emberi gyomornedv sósavon kívül egyéb, NaOH-ot fogyasztó anyagokat is tartalmaz (tejsav, fehérje stb.). Megfelelő indikátor alkalmazásával meghatározhatjuk a gyomornedv teljes savtartalmát (összaciditás) és szabad sósavmennyiségét, mely az összaciditás egy része.

Az eljárás azon alapszik, hogy különböző erősségű savak közömbösítése különböző pH-nál következik be. Ha az erős és gyenge savakat egyaránt tartalmazó gyomornedvet NaOH-dal titráljuk, a hozzáadott lúg először az erős savval reagál, a sósav közömbösítése már pH 4-nél gyakorlatilag teljesen végbemegy. A NaOH-ot fogyasztó egyéb anyagok (tejsav, fehérjék) pH 4-nél még nincsenek megtitrálva, és teljes neutralizálásuk csak pH 8 körül következik be. Ha két indikátort használunk a titrálásnál (metilvörös és fenolftalein), a metilvörös átcsapása jelzi a szabad sósav közömbösítését, a fenolftalein átcsapása jelzi a gyenge savak neutralizációját.

A gyomornedv savtartalmát klinikai vizsgálatokban két adattal jellemezzük:

- összaciditáson értjük 100 ml gyomornedv teljes semlegesítésekor (fenolftalein mellett) elfogyott 0,1 N NaOH ml-einek számát,
- szabad sósavtartalom a 100 ml gyomornedv sósavtartalmának semlegesítésére (metilvörös mellett) elfogyott 0,1 N NaOH ml-einek száma.

Például:

20 ml gyomornedv titrálásához fenolftalein mellett elfogy 10 ml 0,1 N 1,000 faktorú NaOH. Ugyanezen gyomornedv 20 ml-ére metilvörös mellett elfogy 4 ml 0,1 N NaOH ($f = 1,000$). A gyomornedv összaciditása tehát $5 \times 10 = 50$, szabad savtartalma $5 \times 4 = 20$. A titrálást úgy is el lehet végezni, hogy a két indikátort egyszerre alkalmazzuk, külön feljegyezzük a metilvörös átcsapásáig elfogyott lúg mennyiségét, majd tovább titráljuk ugyanazon oldatot a fenolftalein átcsapásáig.

A klinikai gyakorlatban indikátor-keveréket használnak a titráláshoz, ez az ún. Töpfer-reagens, mely fenolftalein és metilvörös keveréke. A metilvörös savanyú közegben piros, lúgos közegben sárga színű.

Normálisan a szűrt gyomornedv összaciditása 40-60, szabad sósavtartalma 20-40 közötti érték.

Szükséges anyagok

- faktorozott 0,1 N NaOH-oldat
- szűrt gyomornedv
- metilvörös-indikátoroldat
- fenolftalein-indikátoroldat

Az eljárás

20 ml gyomornedvet kétjelű hasas pipettával titrálólombikba pipettázunk. 3 csepp metilvörös-indikátort adunk hozzá, és folyamatos rázogatós mellett a 0,1 N NaOH- mérőoldattal az átmeneti narancsszín megjelenéséig titráljuk. Leolvassuk a fogyást, ebből kiszámoljuk a szabad sósavmennyiséget. Majd 3 csepp fenoltalein-indikátort adunk az oldathoz és folytatjuk a titrálást a fenoltalein rózsaszín árnyalatának megjelenéséig. A mérést háromszor végezzük el.

- *Számítsuk ki a lúg faktorának figyelembevételével az összaciditást és a szabad sósavmennyiséget!*

1.1.1.9. A neutralizációs analízis titrálási görbéi

A sav-bázis titrálások során a mérőoldat erős sav vagy bázis, míg a meghatározandó oldat erős vagy gyenge sav, illetve bázis lehet.

A titrálások során a titráló elegy pH-ja folyamatosan változik. Ez a változás pH-méréssel nyomon követhető.

Az erős savak titrálási görbéit a hozzáadott NaOH-dal történő titráláson mutatjuk be. A titrálás során az oldat H^+ -ion koncentrációja csökken, a pH folyamatosan emelkedik, majd elérünk a neutralizációs ponthoz ($pH = 7$), amely híg erős savak híg erős bázissal való titrálása során megegyezik az ekvivalenciaponttal. Az ekvivalenciapontban az erős savval egyenértékű erős bázis reakciója során sóoldat és víz keletkezik. A titráláskor a pH értéke az ekvivalenciapont körül ugrásszerűen megváltozik. Erős bázis erős savval történő titrálása esetén hasonló típusú, de ellenkező lefutású görbéhez jutunk.

Erős sav titrálása erős bázissal

A pH-mérő használata: a pH-mérő műszer egy feszültségmérő készülék. A műszerhez kombinált elektród van kapcsolva, amely üvegelektrodból (mérőelektrod) és kalomel-elektrodból (viszonyítási elektród) áll. Amikor a kombinált elektródot a mérendő folyadékba merítjük, mindkét elektród érintkezésbe lép a folyadékkal és így egy galvánelem jön létre. Mivel a galvánelem egyik elektródjának potenciálértéke a közeg H^+ -ion-koncentrációjától függ, a másik elektród potenciálértéke viszont attól független, állandó érték, a galvánelem feszültsége is a közeg pH-jának a függvénye lesz. Fontos, hogy a kalomel-elektrod is a folyadékba merüljön, vagyis az elektród gömb alakú üvegmembrán-része felett mintegy 1 mm magasan látható kis barna folt is a folyadék felszíne alatt legyen. Az is fontos, hogy az elektród membránja ne érjen hozzá az edény falához vagy fenekéhez, mert az üvegmembrán törékeny. A két elektródon fellépő potenciál különbségét a műszer méri és pH-értékre számítja át.

A műszer kezelése: A készülék bekapcsolva, beállítva van bekészítve. A kijelző egy állandó 7,01-7,15 körüli értéket mutat, ezzel jelezve, hogy a műszer mérésre alkalmas állapotban van. A mérés megkezdése előtt a „standby”-gombot ki kell engedni! Kérjük, hogy a műszer gombjait, kapcsolóit ne állítsák el, mert ekkor a készüléket újra kell kalibrálni.

Nagyon fontos, hogy a mérések elvégzése után az elektródot mindig mossuk le alaposan és desztillált vízben hagyjuk ott.

Két mérés között az elektródot desztillált vízzel gondosan le kell öblíteni, mivel az elektród felületén adszorbeálhatja a mért folyadékot, a későbbi öblítés ellenére is marad némi oldat

rajta, ami befolyásolja a következő mérést. Amíg az adszorbeált folyadék az új mérendő folyadékkal teljesen ki nem cserélődik, a pH-érték lassú, folyamatos változását tapasztaljuk. Az elektród mintegy „emlékszik” az előző mérésre. Célszerű ezért új oldat mérése során a leolvasással 1-2 percet várni. Ha a két mérés között pár percnél hosszabb szünetet hagyunk ki, úgy az elektródot desztillált vízbe kell meríteni.

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy az üvegelektrod törékeny és drága, ezért azt semmiféle ütődésnek, feszítésnek stb. ne tegyük ki!

Szükséges anyagok

- 1 N NaOH-oldat
- 0,1 N HCl-oldat

Az eljárás

A bekészített 100 ml-es főzőpohárba mérőhengerrel kimérünk 50 ml titrálendő erős savat. Belehelyezzük a mágneses keverőt és rátesszük a keverőmotorra, amelyet bekapcsolunk és beállítjuk a kevertetés sebességét. Az alaposan lemosott, megtörölgetett elektródot óvatosan helyezzük az oldatba, ügyelve, hogy a mágnes forgás közben ne érintse az elektródot, illetve az elektród ne érintkezzen a főzőpohár oldalával, fenekével. Gondos kiöblítés után feltöltjük a bürettát a bekészített 1 N NaOH-oldattal. A titrálás megkezdése előtt feljegyezzük a kiindulási oldat pH-ját. A lúgot 0,5 ml-enként adagoljuk az oldathoz (lúg hatására az oldat pH-ja nő). Mielőtt leolvassánk az adott fogyáshoz tartozó pH-értéket, megvárjuk, míg az érték beáll. A titrálást akkor tekintjük befejezettnek, miután adott lúgmennyiségre már nem változik a pH. A titrálás befejeztekor az elektródot mindig gondosan öblítsük le.

A titrálási görbe szerkesztése számítással

Először kiszámítjuk a kiindulási oldat pH-ját, majd a hozzáadott lúg mennyiségének függvényében az ekvivalenciapont előtti szakasz pH-értékének kiszámítása következik. Végül ki kell számolni az ekvivalenciapont pH-ját is.

Ha 50 ml 0,1 N HCl-at titrálunk, akkor a kiindulási oldat pH-ja 1. **10%-os titrálás** esetén, amikor 0,5 ml 1 N NaOH-oldatot adtunk, a hidrogénion-koncentrációt a feleslegben lévő sósav határozza meg. Ugyanis maradt 45 ml 0,1 N HCl-oldat, amely 50,5 ml-re hígult. Tehát a hidrogénion-koncentráció:

$$\frac{45 \text{ ml} \cdot 0,1 \text{ N}}{50,5 \text{ ml}} = 0,089 \text{ N}$$

Ebből a $\text{pH} = -\lg [\text{H}_3\text{O}^+] = -\lg 0,089 = 1,05$.

50%-os titrálásnál, azaz 2,5 ml 1 N NaOH-oldat hozzáadásakor marad 25 ml 0,1 N HCl-oldat, amely 52,5 ml-re hígul fel. Az előzőek alapján a hidrogénion-koncentráció:

$$\frac{25 \text{ ml} \cdot 0,1 \text{ N}}{52,5 \text{ ml}} = 0,0476 \text{ N}$$

A $\text{pH} = -\lg 0,0476 = 1,32$.

90%-os titrálásnál, azaz 4,5 ml 1 N NaOH hozzáadásakor marad 5 ml 0,1 N HCl, amely 54,5 ml-re hígul. Tehát a H_3O^+ -koncentráció

$$\frac{5 \text{ ml} \cdot 0,1 \text{ N}}{64,5 \text{ ml}} = 0,00917 \text{ N}$$

A $\text{pH} = -\lg 0,00917 = 2,04$.

Végül teljes, **100%-os titrálásnál** fogy 5 ml 1 N NaOH. A pH = 7. Túltrálásnál a pH-t a feleslegben lévő lúg mennyisége határozza meg.

Például 110%-os túltrálásnál a hidroxidion-koncentráció:

$$[\text{OH}^-] = \frac{0,5 \text{ ml} \cdot 1 \text{ N}}{55,5 \text{ ml}} = 0,009 \text{ N}$$

A pOH = $-\lg [\text{OH}^-] = 2,045$, így a pH = $14 - \text{pOH} = 11,955$.

Az erős savak és erős bázisok titrálása során a görbe alakját és az ekvivalenciapontban történő „ugrás” nagyságát az oldat hőmérséklete és a sav, illetve a bázis koncentrációja befolyásolja.

Egy- és többértékű gyenge savak titrálása erős bázissal

Ha gyenge savat titrálunk erős bázissal, a titrálás során az ekvivalenciapont nem esik egybe a neutralizációs ponttal. Az ekvivalenciapont pontosan a sav mennyiségének megfelelő bázis hozzáadásával érhető el, azaz teljes, 100%-os közömbösítést jelent, míg a neutralizációs pont értéke pH 7. A gyenge savval egyenértékű erős bázis reakciója során keletkezett só hidrolízise miatt azonban az ekvivalenciapont a lúgos tartományban lesz. A neutralizációs pontban nem a gyenge sav teljes mennyiségét titráltuk meg. A pH-változást a fogyott NaOH függvényében a Henderson-Hasselbalch-egyenlet segítségével számíthatjuk ki, mivel a titrálás folyamán pufferoldat keletkezik.

Többértékű gyenge savak titrálási görbéjének pH-változása több szakaszban történik. Pl. a H_3PO_4 esetén 3 elkülöníthető szakaszt figyelhetünk meg, a három disszociációs lépcsőnek megfelelően. A különböző pH-kat a Henderson–Hasselbalch-egyenlet és a megfelelő disszociációs konstans segítségével számolhatjuk ki.

Gyenge bázisok erős savval való titrálásakor az ekvivalenciapont pH-ja a gyenge sav, vagy gyenge bázis disszociációs állandójától és az oldat koncentrációjától függ.

Szükséges anyagok

- 0,1 N CH_3COOH -oldat
- 0,1 M H_3PO_4 -oldat
- 1 N NaOH-oldat

Az eljárás

A bekészített 100 ml-es főzőpohárba mérőhengerrel kimérünk 50 ml titrálendő ecetsavat, illetve foszforsavat. Belehelyezzük a mágneses keverőt és rátesszük a keverőmotorra, amelyet bekapcsolunk és beállítjuk a kevertetés sebességét. Az alaposan lemosott, megtörölgetett elektródot óvatosan helyezzük az oldatba, ügyelve, hogy a mágnes forgás közben ne érintse az elektródot, illetve az elektród ne érintkezzen a főzőpohár oldalával, fenekével. Gondos kiöblítés után feltöltjük a burettát a bekészített 1 N NaOH-oldattal. A titrálás megkezdése előtt feljegyezzük a kiindulási oldat pH-ját. A lúgot 0,5 ml-enként adagoljuk az oldathoz (lúg hatására az oldat pH-ja nő). Mielőtt leolvasnánk az adott fogyáshoz tartozó pH-értéket, megvárjuk, míg az érték beáll. A titrálást akkor tekintjük befejezettnek, miután adott lúgmennyiségre már nem változik a pH. A titrálás befejezésekor az elektródot mindig gondosan öblítsük le.

A leolvasott pH-értékeket az ordinátán, a hozzáadott lúg mennyiségét az abszcisszán ábrázoljuk. Értékeljük az erős sav (HCl), illetve a gyenge savak (ecetsav és foszforsav) titrálá-

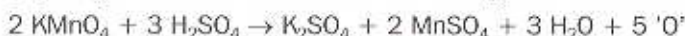
si görbéinek jellemző eltéréseit, határozzuk meg az ekvivalencia-pontok helyzetét és a két gyenge savra jellemző pK_a -értékeket!

1.1.2. Oxidoredukciós folyamatokon alapuló titrálások

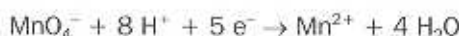
Az oxidoredukciós folyamatok reagenseinek koncentrációit titrálással szintén meghatározhatjuk. A reakció befejeztét jelezheti a titráló, illetve titrált vegyületnek a színváltozása, továbbá ezeknek egyéb anyagokkal képzett színes terméke (bővebben lásd a megfelelő helyen). Színváltozással jelzik a titrálás végét a redoxi-indikátorok is. Ezeknek különböző színű az oxidált és redukált alakja, ezért a standardpotenciál-értéküknél pozitívabb redoxpotenciálú közegben az oxidált alakjuk színe, negatívabb redoxpotenciálú közegben pedig a redukált alakjuk színe jelenik meg.

1.1.2.1. Permanganometria

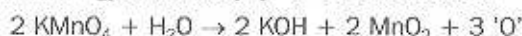
A $KMnO_4$ erősen savanyú közegben erőlyesen oxidál, miközben 5 elektront vesz fel, és a benne lévő VII vegyértékű mangán II vegyértékűvé redukálódik. Molekulasúlynyi $KMnO_4$ 5 egyenértéksúlynyi oxigént fordít az oxidációra az alábbi egyenlet szerint:



A $KMnO_4$ egyenértéksúlya erősen savanyú közegben a molekulasúly ötödrészevel egyenlő. lonegyenlettel:



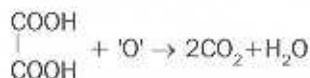
A keletkező Mn^{2+} felgyorsítja a reakciót (autokatalízis). A $KMnO_4$ oxidáló hatása nagymértékben függ az oldat hidrogénion-koncentrációjától. Gyengén savanyú, illetve neutrális közegben a $KMnO_4$ csak 3 egyenértéksúlynyi 'O'-t tesz szabaddá:



Itt a mangán oxidációs száma +7-ről +4-re csökken, így a fenti egyenlet szerint a $KMnO_4$ egyenértéksúlya a molekulasúly 1/3-ad része.

Ha azt akarjuk, hogy a $KMnO_4$ oxidációja egyértelmű legyen, nagy savfeleslegről kell gondoskodni.

Mivel pontos mérőoldatot a $KMnO_4$ -ból készíteni nem lehet, az elkészített mérőoldatot faktorozni kell. A faktorozást oxálsavra, vagy Na-oxalátra végezzük. Az oxálsav a következő egyenlet szerint reagál a $KMnO_4$ -ból felszabaduló oxigénnel:



Az oxálsav egyenértéksúlya a molekulasúly fele.

A permanganometriában külön indikátorra nincsen szükség; a feleslegben lévő permanganátion lila színe jelzi a titrálás végét.

1.1.2.1.1. 0,1 N KMnO_4 -oldat készítése és faktorozása**Szükséges anyagok**

- ismeretlen töménységű KMnO_4 -oldat
- oxálsav: $(\text{COOH})_2$
- 20%-os kénsavoldat

Az eljárás

Először készítsünk pontosan 0,1 N oxálsavoldatot. (A kristályos oxálsav képlete: $(\text{COOH})_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, molekulatömege 126,068 g/mol). Az oxálsavat analitikai mérlegen mérjük le egy kis edénybe, majd üvegpothárba mossuk át, vigyázva, hogy veszteségünk ne legyen! Ha feloldódott az oxálsav, tölcsér és üvegbot segítségével, veszteség nélkül beleöntjük az 500 ml-es mérőlombikba, majd a lombikot desztillált vízzel jellegig töltjük. Az oldatot jól összerázzuk, és áttöltjük az előre elkészített, címkével és névvel megjelölt 500 ml-es folyadéküvegbe.

Az így elkészített 0,1 N oxálsavoldat 10 ml-éhez kb. 10 ml 20%-os kénsavat adunk, majd titrálólombikban forrásig hevítjük és melegen titráljuk halványibolya színig a készen kapott KMnO_4 -oldattal. A titrálást háromszor végezzük el. A titrálási eredmények közepértékéből kiszámítjuk, hogy hogyan kell hígítani a kapott KMnO_4 -oldatot, hogy 0,1 N mérőoldatunk legyen.

Például

10 ml 0,1 N oxálsavoldatra fogyott 8,2 ml KMnO_4 -oldat, tehát 8,2 ml KMnO_4 -oldat felel meg 10 ml 0,1 N KMnO_4 -oldatnak, ennyit kell 10 ml-re hígítani. 500 ml oldathoz tehát $8,2 \times 50 = 410$ ml KMnO_4 -oldatot hígítunk 500 ml-ig desztillált vízzel. Az így kapott 0,1 N oldatot ugyancsak névvel megjelölve a másik 500 ml-es folyadéküvegbe öntjük. Ezután ennek az oldatnak a faktorát állapítjuk meg a pontosan 0,1 N oxálsavoldatunkkal. E célból a bürettát kimossuk, megtöltjük a kb. 0,1 N KMnO_4 -oldattal, és az előbbi módon ugyancsak háromszor megtitráljuk vele a 0,1 N oxálsavat. A fogyott mennyiségek közepértékéből meghatározzuk a 0,1 N KMnO_4 -oldat faktorát.

1.1.2.1.2. Ismeretlen koncentrációjú Mohr-só-oldat Fe^{2+} -tartalmának meghatározása**A meghatározás elve**

A Mohr-só kettős só, képlete: $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$.

A titrálás folyamán a ferro(II)-ion oxidálódik:



lonegyenletben:



Az egyenértéktömeg tehát megegyezik a vas atomtömegével.

Szükséges anyagok

- általunk faktorozott 0,1 N KMnO_4 -oldat
- ismeretlen koncentrációjú Mohr-só-oldat 20%-os kénsavban oldva

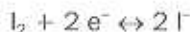
Az eljárás

Az ismeretlen Mohr-só 20%-os kénsavas oldatából 10 ml-l mérőhengerben kimérünk (a kénsav miatt nem pipettázzuk) és titráló lombikba öntjük, kénsavat már nem adunk hozzá. A titrálást hidegen végezzük. A végpontban az oldat maradandó rózsaszínű. Három párhuzamos mérést végezzünk. A titrálás befejezése után a bürettából engedjük le a 0,1 N KMnO_4 -oldatot, öntsük ki és a bürettát mossuk ki vízzel, majd desztillált vízzel.

- Számítsuk ki az oldat vastartalmát g/literben kifejezve!

1.1.2.2. Jodometria

A jodometriás meghatározásokat két nagy csoportra osztjuk. A mérések egyik csoportjában KI-os jódoldatot használunk mérőoldatnak. Ilyen esetben a meghatározandó redoxrendszer standard redoxpotenciálja kisebb, mint a jód-jodid rendszeré, tehát a jód-jodid rendszerrel oxidálunk.



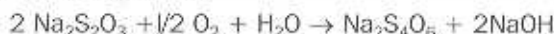
A meghatározások másik csoportjában a nagyobb standard redoxpotenciálú rendszerrel a feleslegben adott jodidionokat oxidáljuk, majd az oxidálószer hatására képződött, ekvivalens mennyiségű jódot nátrium-tioszulfát-mérőoldat segítségével határozzuk meg. A jodidion a nagyobb redoxpotenciálú rendszerrel szemben redukálószerként, az elemi jód pedig a kisebb redoxpotenciálú rendszerekkel szemben oxidálószerként viselkedik. Mindazok az oxidáló anyagok, amelyek redoxpotenciálja nagyobb a jód-jodid rendszerénél, a feleslegben adott jodidionokkal kvantitatíve redukálhatók, az egyenértéknyi mennyiségben keletkező jód pedig nátrium-tioszulfát-mérőoldat segítségével megmérhető.



A $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ fehér színű, kristályos anyag, amely pontosan bemérhető és összetétele a képletének megfelelő. A belőle készített mérőoldat az analitikában használt mérőoldatok közül a legbomlékonyabb. A levegő CO_2 -tartalmával az alábbi egyenlet szerint reagál:



A levegő oxigénjével is reakcióba lép:

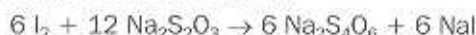


A kénbaktériumok a $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -nak szulfittá történő átalakulását segítik elő; a kénbaktériumok elszaporodását 1%-os izobutil-alkohollal lassíthatjuk.

A fentiek értelmében a $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -mérőoldat koncentrációját gyakran kell ellenőrizni, ismerni kell pontos faktorát. A faktor meghatározásához kálium-bijodátot használunk, amely fehér, kristályos, pontosan mérhető anyag, oldata megfelelő tárolás esetén hosszú ideig változatlan marad. A kálium-bijodát savas közegben a feleslegben adott kálium-jodidból ekvivalens mennyiségű jódot tesz szabaddá (oxidál).



A felszabaduló jódot mérjük a tioszulfát-oldattal:



1 mol $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ 12 mol jódattal és 12 mol $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -tal ekvivalens. A reakcióegyenlethez látható, hogy a jód egyenértékű tömege egyenlő az atomtömegével:

- $1/2 \text{ mol I}_2 = 126,91 \text{ g}$;

1.1.3. Csapadékos titrálás

Oldatok koncentrációjának meghatározását olyan reakciók alapján is végezhetjük, amelyek csapadékképződéssel járnak. Ilyen pl. a NaCl és AgNO_3 között végbemenő reakció. Ha egy ismeretlen koncentrációjú NaCl-oldathoz annyi ismert koncentrációjú AgNO_3 -oldatot adjunk, amennyi éppen elegendő ahhoz, hogy a NaCl teljes mennyiségét AgCl -dá alakítsa. Az ehhez elfogyott AgNO_3 mennyiségéből ki tudjuk számítani a jelenlévő NaCl mennyiségét.

A csapadékos titrálásnál használt mérőoldat 0,1 N, 0,05 N vagy 0,01 N koncentrációjú AgNO_3 . Ez nagy pontossággal lemért, kristályos AgNO_3 feloldásával készíthető. A mérőoldat faktorát tisztított, kiszáftott, pontosan bemért NaCl-ra szokták beállítani.

A csapadékos titrálásoknál speciális indikátorokat használunk. Ha NaCl-ot titrálunk AgNO_3 -oldattal, indikátorul K_2CrO_4 -ot alkalmazunk. Az Ag^+ -ionok nemcsak kloridionokkal, hanem a kromationokkal is csapadékot adnak; előbbivel fehér színű AgCl -ot, utóbbival vörös Ag_2CrO_4 -ot. Mindaddig, amíg kloridionok vannak jelen, csak AgCl -csapadék válik ki az oldatból. Az ezüst-kromát képződésére csak akkor kerül sor, amikor a kloridionok elfogytak, tehát a teljes NaCl-mennyiség átalakult már AgCl -dá. Az Ag_2CrO_4 -csapadék megjelenése, amely vörös színéről azonnal felismerhető, tehát azt jelzi, hogy a NaCl és AgNO_3 közötti reakció teljesen végbement, a titrálás befejeződött.

A titrálást csak semleges közegben végezhetjük, mert sav hatására az Ag_2CrO_4 feloldódik, lúg hatására pedig már az első csepp AgNO_3 -ból Ag_2O képződik.

A csapadékos titrálás alapelveinek felhasználásával a sók oldékonysági szorzata is meghatározható. A nem oldódó csapadék első megjelenéséig elfogyott AgNO_3 mennyiségéből, a hígulás figyelembevételével, az oldékonysági szorzat kiszámítható.

1.1.3.1. NaCl-oldat koncentrációjának meghatározása

Szükséges anyagok

- ismeretlen koncentrációjú NaCl-oldat
- faktorozott 0,05 N AgNO_3 -oldat
- 5%-os K_2CrO_4 -oldat

Az eljárás

10 ml NaCl-oldatot titrálólombikba pipettázunk kétjelű hasaspipettával. Három párhuzamos mérést végezzünk. Cseppentővel 4-5 csepp 5%-os K_2CrO_4 -indikátoroldatot adjunk hozzá, az indikátor színe citromsárga. A bűrettát mossuk ki desztillált vízzel, majd töltsük fel 0,05 N ezüst-nitrát-mérőoldattal. A titrálólombik körkörös rázogatója közben a bűrettából óvatosan adagoljuk a mérőoldatot (tejfehér csapadék jelenik meg). A titrálást a vörösbarna-barna szín állandósulásakor fejezzük be.

- Számítsuk ki a NaCl-oldat normál és százalékos összetételét!

1.1.3.2. Ismeretlen koncentrációjú Cl^- -tartalmú oldat titrálása

Szükséges anyagok

- faktorozott 0,05 N AgNO_3 -mérőoldat

- ismeretlen koncentrációjú CaCl_2 -oldat
- 5%-os K_2CrO_4 -indikátoroldat

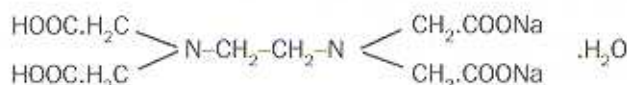
Az eljárás

A második ismeretlen meghatározása is hasonlóan történik. 10 ml ismeretlen kalcium-klorid-oldatot kétjelű pipettával titrálólombikba pipettázunk. 4-5 csepp 5%-os kálium-kromát-indikátor jelenlétében, folyamatos rázogatózás közben állandósult rozsdabarna színig titráljuk. A mérést még kétszer megismételjük. A titrálás végeztével a bürettában maradt 0,05 N ezüst-nitrát-mérőoldatot főzőpohárba engedjük ki és erre a célra rendszeresített bama gyűjtőüvegbe öntsük, majd a bürettát mossuk ki desztillált vízzel.

- Számítsuk ki az oldat kloridion-tartalmát g/l-ben kifejezve!

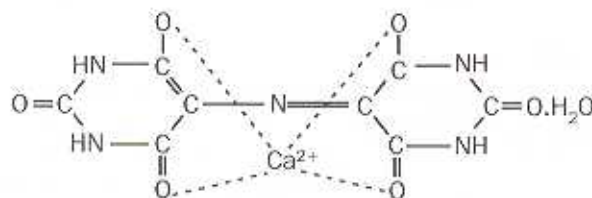
1.1.4. Komplexometria

A komplexometriás titrálások alkalmasak fémionok gyors és pontos térfogatossághatározására. E célra olyan mérőoldatokat használunk, amelyek a meghatározandó ionokkal igen rosszul disszociáló komplex vegyületet képeznek; ilyen pl. a Komplexon-III-oldat. Ez a vegyület az etilén-diammin-tetra-ecetsav dinátrium-sójának hidrátja (más néven Na-verzenát):

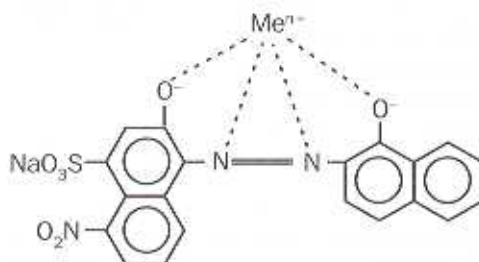


A mérőoldat a pro anal. készítményből közvetlen beméréssel készíthető. A 0,1 M-os mérőoldat készítésekor 37,22 g Komplexon-III-at oldunk fel 1 liter desztillált vízben. Hígabb mérőoldatokat a 0,1 M-os oldat megfelelő hígításával készítünk. A mérőoldat faktorát ZnSO_4 -oldatra, vagy kristályos MgSO_4 -ra lehet beállítani.

Indikátorként olyan komplexképző vegyületeket használunk, amelyek az illető fémion meghatározására alkalmas pH-n a fémionnal szintén vízben oldható komplexet képeznek, amely komplexnek a színe más, mint az eredeti indikátoré. Az indikátort úgy választjuk meg, hogy az indikátor-fém-komplex disszociációs állandója mindig nagyobb legyen, mint a fémion Komplexon-III-mal képzett komplexéé. Így a Komplexon-III a fémiont az indikátor-fém-komplexből fokozatosan elvonja, és a végpontban az indikátor eredeti színe jelenik meg. Gyakran használt



1.1 ábra. A murexid Ca^{2+} -komplexe



1.2 ábra Az eriokrómfeke-T fémkomplexe

komplexometriás indikátor a murexid (ammónium-purpureát) és az eriokrómfekete T (1.1 és 1.2 ábra).

1.1.4.1. Réz-szulfát-oldat koncentrációjának meghatározása

Szükséges anyagok

- 0,02 M faktorozott Komplexon-III (EDTA)-mérőoldat
- ismeretlen koncentrációjú CuSO_4 -oldat
- 25%-os NH_4OH -oldat
- szilárd murexid-indikátor

Az eljárás

10 ml ismeretlen CuSO_4 -oldatot kétjelű hasaspipettával titrálólombikba mérünk. Hozzáadunk 10 ml desztillált vizet, majd mérőhengerben kimért kb. 5 ml 25%-os NH_4OH -oldatot (*ne pipetázzuk!*), majd a szilárd murexid-indikátort adjuk az oldathoz, a műanyag kanál kisebbik felének kb. negyednyi mennyiségét. Az oldatot jól keverjük össze, hogy az indikátor feloldódjon, majd folyamatos rázogatós/keverés mellett a titrálást a 0,02 M EDTA-mérőoldattal végezzük. A végpontot az indikátor eredeti püspöklila színének megjelenése jelzi. A mérést háromszor végezzük el.

Mivel egy molekula EDTA egy molekula rézionnal képez komplexet, a fém egyenértékűmege egyenlő az atomtömegével.

- Számítsuk ki az oldat normál és százalékos koncentrációját!

1.1.4.2. Kalcium- és magnéziumionok egymás melletti meghatározása és ennek elvi alapjai

A meghatározás elve

A meghatározást a következőképpen végezzük: először a Ca^{2+} -ionokat lúgos közegben murexid-indikátor alkalmazásával megtitraljuk, majd a murexidet elbontjuk és ammóniával történő visszalúgosítás után a Mg^{2+} -ionokat eriokrómfekete T-indikátor jelenlétében titraljuk meg. A módszert kiterjedten használják az orvosi gyakorlatban is a vérszérum és vizelet Ca- és Mg-tartalmának meghatározására.

Szükséges anyagok

- 0,02 M Komplexon-III (EDTA)-mérőoldat
- ismeretlen koncentrációjú Ca^{2+} -, Mg^{2+} -oldat
- 10%-os NaOH-oldat
- 5 N HCl-oldat
- 25%-os NH_4OH -oldat
- szilárd murexid-indikátor
- szilárd eriokrómfekete T-indikátor

Az eljárás

10 ml ismeretlen Ca^{2+} - Mg^{2+} -oldatot kétjelű hasaspipettával titrálólombikba pipetázunk, majd 10 ml desztillált vizet adunk hozzá és mérőhengerben kimért 2 ml 10%-os NaOH-oldattal lúgosítjuk meg. Az indikátor szilárd murexid, mennyisége a műanyag kanál kisebb-

bik felének kb. negyede. Az oldatot jól keverjük össze, hogy az indikátor feloldódjon, majd folyamatos rázogatós mellett a rózsaszín oldatot 0,02 M EDTA-mérőoldattal titráljuk a liláskék szín eléréséig. Feljegyezzük a fogyást, amely az ismeretlen oldat kalciumion-tartalmát jelzi.

A következő lépés a murexid elroncsolása 3 ml 5 N HCl-oldattal, amit mérőhengerrel mérünk be. Az oldatot jól keverjük össze és várjuk meg, amíg elszíntelenedik. Ezután a pH-t ismét lúgosra állítjuk vissza a mérőhengerben kimért 8 ml 25%-os NH_4OH -oldattal, majd az előzőeknek megfelelő mennyiségű eriokrómfekete T-indikátort adunk az elegyhez. Az indikátor feloldódása után az oldat vörösbarna színű lesz, majd megkezdjük a titrást a 0,02 M EDTA-mérőoldattal folyamatos rázogatós mellett. A végpontot az indikátor eredeti sötétkék színe jelzi. Az utóbbi fogyás adja meg az oldat Mg^{2+} -ion tartalmát. A mérést még kétszer ismétljük meg.

Az egyenértéktömegek megegyeznek a Ca és Mg atomtömegével.

- Számítsuk ki az oldat Ca^{2+} - és Mg^{2+} -tartalmát g/literben kifejezve!

3. Spektrofotometria

dr. Mészáros György

A vizsgálandó anyag szerkezetének, koncentrációjának, vagy egyéb tulajdonságainak meghatározására azok a vizsgálatok alkalmasak, amelyek a fénysugarak és a vizsgált anyag közti kölcsönhatásokon alapulnak. Fizikából már tanulták a fény tulajdonságait, s tudják azt is, hogy az elektromágneses sugárzások hullámhossztartománya 10^{-7} cm-től több kilométerig terjedhet. Ebből a széles skálából az infravörös tartomány (hullámhossz: 10^{-1} – 10^{-4} cm-ig), a látható 350 nm – 800 nm-ig és az ultraibolya (UV) 190-350 nm-ig terjedő tartománya használatos a spektrofotometriában leginkább

A molekula-spektroszkópia azon az elven alapul, hogy az egyes atomoknak, molekuláknak az sugárzási energiával való kölcsönhatása kvantált, azaz a felvett, vagy kibocsátott (fény)energia nem tetszőleges, hanem csak meghatározott értékű lehet. Két energianívó között ennek különbsége az $E_2 - E_1 = h\nu$ egyenlettel jellemezhető, ahol a h a Planck féle állandó, a ν pedig a frekvencia. Ez az összefüggés mind az **emissziós**, mind az **abszorpció**s spektroszkópiára érvényes. Az emissziós spektroszkópia alkalmazásakor a molekulát valamilyen módon gerjesztik, majd amikor a molekula visszatér az alapállapotába, olyan fényt bocsát ki, ami megfelel a rendszerben megengedett átmeneteknek (lásd a fenti egyenletet). Az abszorpció s spektrofotometria azon alapul, hogy az eredetileg alapállapotban levő molekulák olyan frekvenciájú fényt nyelnek el, amely megfelel a gerjesztett állapotokban megengedett átmeneteknek.

Az anyag szerkezetének vizsgálatához felhasznált spektroszkópiákkal (infravörös, magrezonancia, röntgensugár-diffrakció s) most nem foglalkozunk, ezeket majd későbbi tanulmányaik során ismerhetik meg.

A biokémiai mérés technika egyik kedvelt módszere az ún. **abszorpció s spektroszkópia**, ahol az oldatok anyagszerkezetétől és/vagy koncentrációjától való fényelnyelést használjuk fel. A mérés során meghatározhatjuk azt a hullámhosszot, amelynél a vizsgált anyag maximálisan elnyel,

- azaz kvalitatíve következtethetünk a vizsgált minta szerkezetére,
- illetve mérhetjük a mintán egy adott hullámhosszú fény abszorpcióját is, amivel a kérdéses anyag koncentrációját határozhatjuk meg.

Számos anyag színes, azaz bizonyos hullámhosszú fény elnyelésére képes. Kémiai reakciók segítségével a színtelen anyagok is általában átalakíthatók színesekké, ekkor ezek az anyagok már fotometráálhatók (pl. aminosavak meghatározása ninhidrinnel, a fehérjék koncentrációjának meghatározása biuret-reakcióval, a keményítő koncentrációjának meghatározása Lugol-oldattal stb.).

A fényelnyelés mértékét vagy a transzmisszióval (%-os átbocsátás = $I/I_0 \times 100$), vagy az extinkcióval ($E = \log I_0/I$), másnéven optikai sűrűséggel (denzitással: „OD”) számszerűsíthetjük, ahol az I a mintán átbocsátott (a minta után mért) fény intenzitása, az I_0 pedig a mintára bocsátott fény intenzitását jelöli.

Nagyon sok anyag nem a látható, hanem az ultraibolya vagy az infravörös tartományban nyeli el a fényt. Ezen anyagok mennyisége szintén meghatározható az illető hullámhossz-tartományokban mérő spektrofotométerekkel.

A peptidek és fehérjék mennyiségének meghatározására használt spektrofotometriás eljárásoknál a peptidkötésre jellemző 190-200 nm-es elnyelési maximumnál, vagy a fehérjealkotó aminosavak kromofor aromás oldalláncainak 280 nm-es maximumánál mérhetjük az oldat fényelnyelését. Az optikai denzitás (a fényelnyelés) ugyanazon fehérje esetében a fehérje koncentrációjával arányos. Különböző fehérjék esetén (az egyes fehérjékben a gyűrűs aminosavak száma eltérő) viszont csak közelítő értéket kaphatunk, azaz azt feltételezzük, hogy a kromofor csoportok mennyisége az egyes fehérjékben azonos. Egyes kromatográfiás tisztításoknál, ahol az egyes minták (frakciók) relatív fehérje-koncentrációjának ismerete szükséges, a spektrofotometria igen jól alkalmazható. Egyes anyagokra, például tiszta fehérjékre az irodalomban az ún. moláris extinkciós koefficiens értékét is megtalálhatjuk, ez az adat a mólós oldat extinkcióját adja meg 1 cm-es átvilágított rétegben (1 cm szélességű küvettában) mérve. A moláris extinkciós koefficiens birtokában, az oldat extinkciójának ismeretében egyszerű aránypárral kiszámíthatjuk az oldat koncentrációját.

Hasonlóképp használhatjuk a nukleinsav-bázisok 260 nm-en mutatkozó elnyelési maximumát koncentráció-meghatározásra.

A **Lambert-Beer-törvény** a fényabszorpción alapuló koncentráció meghatározást teszi lehetővé:

$$\log I_0/I = \epsilon \cdot c \cdot d,$$

ahol I_0 az elnyelő oldatba belépő fény,

I az oldatból kilépő fény intenzitása (ennek a két értéknek a hányadosa a fényelnyelés mértéke)

ϵ a vizsgált anyag moláris extinkciós koefficiense

c a vizsgált oldott anyag koncentrációja

d az átvilágított réteg vastagsága centiméterben (leggyakrabban 1 cm).

Amennyiben az oldat koncentrációja egységnyi, azaz 1 mólós az oldat és az átvilágított rétegvastagság 1 cm, akkor a **moláris extinkciós koefficiens** arányossági tényező éppen megegyezik az optikai denzitás értékével.

Fotometrálskor azonos intenzitású fénynyalábot bocsátunk át azonos rétegvastagság mellett az ismeretlen koncentrációjú oldaton, illetve a tiszta oldószeren, és összehasonlítjuk a kilépő fény intenzitását. Megbízhatóan akkor dolgozunk, ha az ismeretlen koncentrációjú oldat fényelnyelését egy olyan ún. vakpróba („blank oldat”) fényelnyelésével hasonlítjuk össze, amely a kérdéses kromofor vegyülettől eltekintve minden egyéb oldószert és oldott anyagot tartalmaz. A „vak” oldatra beállítjuk a 100% transzmissziót, vagy a nulla extinkció-értéket, ami azt jelenti, hogy ha (pl. szennyezés vagy az oldószert saját extinkciója miatt) a vak oldatunk nyelne is el fényt, ezt a nemkívánatos fényelnyelési „hibát” a műszer beállításával kompenzáljuk. Így a mérendő anyag által okozott fényelnyelést mérjük csak és nem a szennyezések által okozott fényelnyeléssel növelt hibás értéket.

Mindig olyan hullámhosszú fényben mérünk, amelyet az illető anyag a legjobban abszorbeál (látható fénynél a meghatározandó anyag színének komplementerét). Az ideális hul-

lámhossz meghatározásához meg kell határozni a kérdéses anyagra a hullámhossz–extinkció–függvényt, amelynek alapján kiválaszthatjuk azt a hullámhosszt, amelynek a továbbiakban mérni fogunk.

A fotométerben, mint ezt már biofizikából tanulták, a fény intenzitását fotocella segítségével mérjük. A fotocellában keletkezett áram erőssége – bizonyos határok között – a fény intenzitásával arányos. Az áramerősséget galvanométerrel mérjük, a fotométeren pedig a mért anyag koncentrációjával egyenesen arányos – lineáris skálán – a transzmissziót (T), vagy közvetlenül – a logaritmikus skáláról – az extinkciót (E) olvashatjuk le. A tapasztalat szerint a Lambert–Beer-törvény csak meghatározott koncentráció-tartományban alkalmazható, töményebb oldatokban nem lineáris a koncentráció és az extinkció közötti arányosság. A függvény érvényességének határait kalibrációs görbe felvételével állapítjuk meg; erre minden új meghatározás beállításánál, az egyes reagensek cseréjénél is szükség van. Kalibrálásakor a kérdéses anyag különböző koncentrációjú oldataiban elvégezzük a fotometriás mérés alapjául szolgáló színreakciót. Az optikai denzitást a koncentráció függvényében ábrázoljuk. A kalibrációs görbének az origóból kell kiindulnia, a mérési pontoknak egy egyenes mentén kell elhelyezkedniük. A kalibrációs görbét csak a lineáris tartományban, tehát a lehajló szakaszig használhatjuk. A görbe felvétele tájékoztat minket arról, hogy a Lambert–Beer-törvény technikailag milyen koncentráció-tartományban érvényes.

Ismeretlen koncentrációjú oldat esetén a leolvasott extinkcióhoz tartozó koncentrációt a görbe alapján állapítjuk meg. Kalibrációs görbét akkor is célszerű felvenni, ha a moláris extinkciót ismerjük, hiszen ebben az esetben is csak a lineáris tartományban mérhetünk.

A gyakorlaton használt fotométerek kezelésre vonatkozó utasításokat a fotométerek mellett találjuk. Az egyes fotométerek típusától függetlenül minden fotométernél először a rés szélességét állítjuk be, majd a „vak” oldalra „nullázzuk” a készüléket.

Néhány gyakorlati tanács a fotometráshoz:

1. A küvetákat soha ne fogjuk meg a polírozott oldaluknál.
2. Ügyeljünk a küvetta behelyezésére: a polírozott oldal essen a fénysugár útjába.
3. A küvetta külső részét puha, nem karcoló ruhával töröljük szárazra a fotométerbe való behelyezés előtt.
4. A mintával ne színültig, csupán kb. 2/3–3/4 részéig töltsük a küvetát és fedjük le az erre a célra mellékelt műanyag lapkával, nehogy a váltásnál kiömöljön a folyadék.
5. Ügyeljünk arra, hogy az UV-tartományban csak kvarcküvetával tudunk mérni.

3.1. A fenolvörös spektrumának felvétele és disszociációs állandójának meghatározása

A fenolvörös egy sav-bázis indikátor, amely a gyenge savakhoz hasonlóan disszociál:



A folyamat a disszociációs állandóval jellemezhető:

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

Az összefüggés alapján megállapítható, hogy a disszociált ionok közül az egyik ion koncentrációjának változása a másik ion koncentrációjának megváltozását vonja maga után.

Ezt jelenti, hogy az oldat savanyítása során a H^+ -ion-koncentráció növekedése miatt az anionok egy része HA savmolekulává alakul (a disszociáció visszazorol). Ha az oldatban a H^+ -ionok koncentrációját csökkentjük (az oldatot lúgosítjuk), a folyamat a disszociáció irányába lesz eltolva. Amennyiben az egyensúlyi folyamatban minimum egy résztvevő színés, akkor ez a folyamat fotometriával is követhető.

A disszociáció jól tanulmányozható a fenolvörös-indikátor pH-függő színváltozásának mérésével. A protonált forma (HA) sárga színű, amelyből a disszociáció során vörös színű A^- -indikátor-anion keletkezik. Ahhoz, hogy a disszociációt kövessük és az egyes formák (HA, illetve A^-) koncentrációját fotometriásan meghatározzuk, először az anion (A^-) és a disszociálatlan savforma (HA) fényelnyelési maximumát kell meghatároznunk, azaz fel kell vennünk a részben disszociált indikátor spektrumát.

3.1.1. A fenolvörös spektrumának felvétele és az elnyelési maximumok meghatározása

A fenolvörös gyenge sav, disszociációs konstansa $K_d = 10^{-8}$. A disszociációs egyensúly alapján:

$$K_d = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}, \text{ ebből } [H^+] = K_d \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Ha a fenolvörös oldatában a pH-t 6-ra növeljük, a sav disszociációja visszazorol és a HA/A⁻ hányados értéke 100-ra változik, hiszen

$$[H^+] = K_d \frac{[HA]}{[A^-]} \quad \frac{10^{-6}}{10^{-8}} = \frac{[HA]}{[A^-]} = 100$$

Handwritten notes: $10^{-6} = 10^{-8} \cdot 10^2$, $10^2 \rightarrow 100$

Ilyenkor (pH = 5,8-as acetát-pufferben) az oldatban gyakorlatilag csak protonált molekulák vannak jelen. Ha az oldatot lúgosítjuk (pH = 9,8-as borátpufferben) elérhető, hogy az anion forma legyen túlnyomó többségben.

Szükséges eszközök		Szükséges anyagok	
- fotométer, kuvetta		- 0,0001 M-os fenolvörös-oldat	
- pipetta		- 0,1 M-os acetátpuffer (pH = 5,8)	
- kémcsövek		- 0,1 M-os borátpuffer (pH = 9,8)	
- kémcsőállvány			

Eljárás

Az alábbi táblázat szerint készítsük el az oldatokat és mérjük meg azok optikai denzitását 400-610 nm között 10-20 nanométerenként a vakkal (1., illetve 3. cső) szemben.

Kémcső		1.	2.	3.	4.
0,1 M pH 5,8-as acetátpuffer	ml	4,0	4,0		
0,1 M pH 9,8-as borátpuffer	ml			4,0	4,0
0,0001 M fenolvörös-indikátor	ml		1,0		1,0
desztillált víz	ml	1,0		1,0	

Ábrázoljuk milliméterpapíron a kapott optikai denzitásokat a hullámhossz függvényében! Állapítsuk meg, hogy a 2. és a 4. cső oldatainak (azaz a protonált, illetve deprotonált formáknak) milyen hullámhossznál a legnagyobb az optikai denzitása, ez jelenti az abszorpciós maximumot (ha jól dolgoztak, ezek az értékek: 430 és 550 nm).

3.1.2. A disszociált anion kalibrációs görbéjének meghatározása

A fenolvörös oldatában az anion koncentrációja a pH függvényében változik. Borátpufferben lúgos körülmények között a fenolvörös gyakorlatilag teljesen disszociál, ilyenkor a bemérési indikátor-koncentráció az anion-koncentrációval lesz azonos. A fenolvörösből készített hígítási sor segítségével meghatározzuk az egyes koncentrációkhoz tartozó optikai denzitásokat. A fenolvörösből a mellékelt táblázat szerint hígítási sort készítünk és az egyes oldatoknak megmérjük az optikai denzitását (550 nm-en). Rajzoljuk fel a koncentráció-OD függvényt! Ennek segítségével bármely fenolvörös-oldat anionkoncentrációját meghatározhatjuk.

Szükséges anyagok és eszközök

- Lásd előbb.

Eljárás

Kémcső		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
0,1 M pH 9,8 borátpuffer	ml	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
0,0001 M fenolvörös	ml	–	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
deszillált víz	ml	1,0	0,9	0,8	0,6	0,4	0,2	–
mért OD-értékek (550 nm-en)								

3.1.3. A fenolvörös disszociációs konstansának meghatározása

A fenolvörös-koncentrációnnal kapott kalibrációs görbe segítségével, a következő összefüggés alapján tetszőleges pH-jú oldatban is meghatározható az anion mennyisége:

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

Az összefüggésben a [HA] az oldatba bemért fenolvörös teljes [T] koncentrációjának és a disszociált [A⁻] koncentrációjának különbsége, azaz [T] - [A⁻] = [HA].

$$[\text{H}^+] = K_a \frac{[\text{T}] - [\text{A}^-]}{[\text{A}^-]}$$

A fenti képletből az adatok behelyettesítése után a disszociációs állandó kiszámítható.

A K_a pontos meghatározására különböző pH-nál megmérjük az oldat optikai denzitását, ebből pedig kalibrációs görbénkkal kiszámíthatjuk az ionos alak koncentrációját.

Az anion-koncentrációkat a fenti képletbe, vagy ennek logaritmált alakjában helyettesítve a K_a -t több mérési eredmény felhasználásával kiszámíthatjuk és a kapott eredményeket átlagolhatjuk. A logaritmált alak:

$$-\lg[H^+] = -\lg K_a + \lg \frac{[A^-]}{[T] - [A^-]}, \text{ azaz } \text{pH} = \text{pK} + \lg \frac{[A^-]}{[T] - [A^-]}$$

Szükséges eszközök

- Lásd előbb.

Szükséges anyagok

- 0,1 M foszfátpuffer (pH 7,2; pH 7,6; pH 7,8)
- 0,1 M borátpuffer (pH 8,0; pH 8,4; pH 8,8)

Eljárás

Készítsük el a táblázat szerinti oldatokat, melyekben a fenolvörös disszociációját különböző pH-jú pufferekkel állítjuk be. Mérjük meg az optikai denzitást 550 nm-en.

Kémcső			1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
foszfátpuffer	pH 7,2	ml	4	4	-	-	-	-	-
	pH 7,6		-	-	4	-	-	-	-
	pH 7,8		-	-	-	4	-	-	-
borátpuffer	pH 8,0	ml	-	-	-	-	4	-	-
	pH 8,4		-	-	-	-	-	4	-
	pH 8,8		-	-	-	-	-	-	4
desztillált víz	ml	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,0001 M fenolvörös	ml			0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
OD 550 nm-en									
[A] × 10 ⁻⁶ M									
[A ⁻] / ([T] - [A ⁻])									
lg [A ⁻] / ([T] - [A ⁻])									

Koordináta-rendszerben a függőleges tengelyen a $-\lg [H^+]$ -t, azaz a pH-t, a vízszintes tengelyen pedig a $\lg [A^-] / ([T] - [A^-])$ -értéket ábrázolva egyenest kapunk, mely az ordinátát a pK értékénél metszi.

Ez azt jelenti, hogy amikor az anion és a sav koncentrációja egyenlő, akkor a pH egyenlő a pK-val.

5. Elektrokémiai mérések

dr. Mészáros György és dr. Keszler Gergely

Az elektrokémiai mérések során galván- és redoxelemekkel dolgozunk. Az ilyen elemekben lezajló kémiai folyamat során történő elektronfelvétel és -leadást térbelileg is elválasztjuk egymástól.

A különböző galván- és redoxelemekben a pozitív póluson redukció, a negatív póluson pedig oxidáció megy végbe.

Két elektród képez egy galvánelemet vagy redoxelemet. A galvánelemben mindkét elektródot egy fém és a fém jól oldódó sója alkotja; a fém az elektrolit-folyadékba merül (pl. a Daniell-elem esetén Cu merül a CuSO_4 -ba, illetve Zn merül ZnSO_4 -ba.) Működéséhez a két elektródot az áramkör zárása céljából egyrészt agarhíddal, másrészt fémes vezetővel kapcsoljuk össze, az elektromotoros erő mérésére alkalmas műszeren keresztül. Egy fémelektrod redoxpotenciálját (ε) a Nernst-egyenlet alapján számíthatjuk ki:

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + \frac{RT}{zF} \ln c$$

- ahol ε_0 az adott elektród standardpotenciálja
R az egyetemes gázállandó (értéke: 8,314 J/K mol)
T az abszolút hőmérséklet
z az elektródfolyamat töltésszám-változása
F a Faraday-féle állandó (96 500 C/mol)
c az adott elektród ionkoncentrációja.

298 K (25 °C) esetén az állandók behelyettesítésével és a tízes alapú logaritmusra áttéréssel az alábbi összefüggést kapjuk:

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + \frac{0,059}{z} \lg c$$

Az ε_0 -értékeket az ún. standard hidrogénelektrodra vonatkoztatjuk, melynek elektródpotenciálja definíció szerint 0. Ez az elektród a galvánelem-elektrodok egyik speciális típusa, ún. gázelektrod. A gázelektrod egységnyi aktivitású saját ionjának (jelen esetben H^+ -ion tartalmú sav) oldatába merülő, 10^5 Pa nyomású gázzal (jelen esetben H_2 -gáz) átáramoltatott Pt-elektrod. Egyéb gázhalmazállapotú elemekből is hasonló elektrodok készíthetők (pl. Cl_2).

Mind a fém-, mind a gázelektrodokból összeállíthatók olyan elemek is, amelyeknek két pólusa minőségileg azonos elektrodokból áll, de különböző az elektrolitfolyadék koncentrációja. Ezeket koncentrációs elemeknek hívjuk.

Az eddig felsorolt elektródokból összeállítható elemek elektromotoros erejét (E_{ME}) a pozitív és negatív pólust képező elektródok potenciáljának különbségéből lehet kiszámítani:

$$E_{ME} = \varepsilon_1 - \varepsilon_2, \quad \text{vagyis} \quad E_{ME} = \varepsilon_{01} + \frac{0,059}{z_1} \lg c_1 - \varepsilon_{02} + \frac{0,059}{z_2} \lg c_2$$

Koncentrációs elemek esetén pedig, ahol $\varepsilon_{01} = \varepsilon_{02}$ és $z_1 = z_2$,

$$E_{ME} = \frac{0,059}{z} \lg \frac{c_1}{c_2}$$

Az elektródoknak van egy olyan típusa is, ahol mindkét komponens folyékony halmazállapotban (oldatban) van jelen. Ezek az elektródok az adott elem vagy vegyület két különböző mértékben oxidált alakjának keverékéből állnak, amelyekbe sima Pt, vagy Au (indifferens) elektród merül. Amennyiben két ilyen elektródból készítünk elemet, az egyik elektródon az oxidált, a másokon a redukált alak koncentrációja nő meg, miközben a rendszer áramot és így energiát termel. Az ilyen redoxelektródok potenciálértékét a Nernst-képlet alábbi formája adja meg:

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_{ox}}{c_{red}}; \quad 25 \text{ °C-on pedig} \quad \varepsilon = \varepsilon_0 + \frac{0,059}{z} \lg \frac{c_{ox}}{c_{red}}$$

A fenti összefüggés formailag hasonlít a galvánelemneként leírthoz, de itt az ε_0 -érték a standard redoxpotenciált jelenti, a logaritmus tagban pedig az oxidált és redukált forma koncentrációjának hányadosával kell számolni. A redoxpotenciálokat is a standard hidrogénelektrodra vonatkoztatjuk, de az ε_0 -értékek ebben az esetben pH 7-re érvényesek, mivel a redoxpotenciál értéke a pH-tól is függ. A pH 7-es redox H-elektrod redoxpotenciálja $-0,42 \text{ V}$ (mert $7 \times 0,059 \text{ V} = 0,42 \text{ V}$). Az eddig ismertetett ún. elsőfajú elektródokon kívül ismerünk olyan, kevésbé polarizálódó, és így vonatkoztatási célra igen jól bevált elektródot is, amely rosszul oldódó fém sók alkalmazásával készíthető el. Ezeket másodfajú elektródoknak hívjuk. Legegyszerűbb példája az ezüst/ezüst-klorid-elektrod. Ez Ag^+ -ionokból, fémezüstről és telített (esetleg 1 M , vagy $0,1 \text{ M}$) KCl -ből áll. Mivel az AgCl rosszul oldódik, az ebből származó Cl^- -koncentráció elhanyagolható a KCl -ből eredő mellett. Ha az Ag^+ -ionok koncentrációját az oldhatósági szorzatból kifejezzük, azt kapjuk, hogy $[\text{Ag}^+] = L/[\text{Cl}^-]$, így az elektród potenciálját az alábbi összefüggés adja meg:

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + 0,059 \frac{L}{[\text{Cl}^-]}$$

mivel pedig L értéke állandó, ebből új ε'_0 számolható:

$$\varepsilon = \varepsilon'_0 - 0,059 \lg [\text{Cl}^-].$$

Hasonló alapelvek szerint működik az ún. kalomel-elektrod is, amely az AgCl helyett Hg_2Cl_2 -t tartalmaz. A standard H-elektrodhoz képest mért potenciálja $0,2415 \text{ V}$, tehát ezt kell figyelembe venni, ha kalomel-elektrodot használunk vonatkoztatási célra.

Az elektromotoros erő méréséhez csak árammentesen mérő eljárásokat lehet használni, amihez végtelen nagy külső ellenállást kell biztosítani (ez legalább megaohm nagyságrendet jelent). A gyakorlaton erre a célra csővoltmérőket használunk. Ezek a műszerek annak alapján mérnek, hogy az erősített áram intenzitása bizonyos határon belül arányos a bemenetre kapcsolt feszültséggel. Ha tehát a mérendő elemet az áramkörbe kapcsoljuk, a bemenő feszültség megváltozik, az anódáram erősségének változásából következtetünk az elektromotoros erő nagyságára. A forgalomban levő csővoltmérőken általában feszültség-egységek olvashatók le, de kifejezetten pH-mérés céljára készülnek olyan eszközök is, amelyek – megfelelő üvegelektrodok használata esetén – a pH és mV-értékek leolvasását is lehetővé teszik. Az általunk használt készülékeknek van egy belső kalibrálása, ezért **a készüléket nem kell külön kalibrálni, ha méréseink során az ABS/REL gomb az ABS helyzetbe van állítva.**

Újabban a modern készülékekbe a csővoltmérő helyett térvezérelésű tranzistorokat – field effect transistor, FET – építenek be. Ezek ellenállása gigaohm nagyságrendű, így még jobban megközelítik a végtelen nagy ellenállást.

5.1. Redoxelemek potenciáljának meghatározása

5.1.1. A Daniell-elem elektromotoros erejének (kapocsfeszültségének) mérése

Szükséges eszközök	Szükséges anyagok
<ul style="list-style-type: none"> - mV-mérő (csővoltmérő) - agarhíd - főzőpoharak - pipetták - réz- és cinkelektrod - elektródtartó állványok - csatlakozó dugaszok 	<ul style="list-style-type: none"> - 1 M koncentrációjú CuSO_4- és ZnSO_4-oldatok

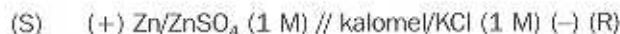
A főzőpoharakba töltött réz-szulfát- és cink-szulfát-oldatokat agarhíddal kötjük össze, majd a megfelelő elektródokat az oldatokba merítjük.

A kapocsfeszültség méréséhez a bajonettzáras koaxiális kábelt használjuk. A bajonettzáras vezetékét a voltmérő „S” bajonettzárába illesztjük. A fekete banándugót (+ pólus) a rézelektrodhoz, a piros banándugót (- pólus) a cinkelektrodhoz csatlakoztatjuk.

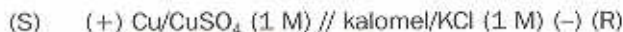
5.1.2. A Zn/ZnSO_4 és Cu/CuSO_4 -elektrodok standard elektródpotenciáljának mérése

A méréshez ismét a bajonettzáras koaxiális kábelt használjuk, amelyet a voltmérő „S” zárba illesztünk. Vonatközponti elektródként kalomelelektrodot alkalmazunk, amelynek vezetékét a voltmérő „S” zárjába rögzítjük. A fekete banándugót először a cinkelektrod-

hoz, majd a rézelektrodhoz illesztjük attól függően, hogy melyik elektród standard redox-potenciálját kívánjuk meghatározni. Tehát az alábbi két galvánelemet állítjuk össze, és megmérjük az elektromotoros erőt:



illetve



Irodalmi adatok alapján a kalomelektrod standardpotenciálja + 0,2415 V.

Számítsuk ki a cink- és a rézelektrod standardpotenciáljait!

(Irodalmi adatok: $\varepsilon_{\text{OZn/Zn}^{2+}} = -0,7865 \text{ V}$; $\varepsilon_{\text{OCu/Cu}^{2+}} = +0,340 \text{ V}$).

5.1.3. Az elektrolit-koncentráció hatása az elektromotoros erőre

A Nernst-egyenlet alapján az elektród potenciálja az elektrolit koncentrációjának függvénye. Ezt az összefüggést a cink- és rézelektrodok elektrolit-koncentrációjának változtatásával kísérletesen is igazolhatjuk úgy, hogy az előző pontban ismertetett összeállításokban az 1 M ZnSO₄-, illetve a CuSO₄-oldatok helyett 0,5 M és 0,1 M-os oldatokat használunk. A kalomelektrod és a kábelek összeállítása változatlan.

- *Hogyan változik a cink- és a rézelektrod potenciálja az elektrolit hígítása során?*

5.1.4. Ismeretlen CuSO₄-oldat koncentrációjának meghatározása az elektromotoros erő alapján

Ismeretlen töménységű elektrolitok koncentrációját úgy határozhatjuk meg, hogy azonos anyagi minőségű és ismert koncentrációjú elektróddal összekapcsolva megmérjük a koncentrációs elem elektromotoros erejét, majd a Nernst-egyenlet segítségével kiszámítjuk az ismeretlen koncentrációt.

Állítsuk össze a következő elemet:



A koaxiális kábel fekete banándugóját az 1 M Cu/CuSO₄-elektrodhoz kapcsoljuk, míg az ismeretlen koncentrációjú Cu/CuSO₄-elektrodot a piros banándugóhoz és a vezetékét az „S” bajonettzárba illesztjük.

- *Mérjük meg az elektromotoros erőt és számítsuk ki az ismeretlen CuSO₄-koncentrációt!*

5.1.5. Fe^{2+}/Fe^{3+} - és Sn^{2+}/Sn^{4+} -redoxelektrodok összeállítása és redoxpotenciáljaiknak mérése

Szükséges eszközök	Szükséges anyagok
<ul style="list-style-type: none"> - mV-mérő (csővoltmérő) - agarhíd - főzőpoharak - pipetták - platinaelektrodok - kalomelelektrod - elektródtartó állványok - csatlakozó dugaszok - krokodilcsipeszek 	<ul style="list-style-type: none"> - 1 M koncentrációjú $FeCl_2$, $FeCl_3$, $SnCl_2$, $SnCl_4$-oldatok

Eljárás

A redoxelektrodok összeállításához kis főzőpoharakba 50-50 ml-t keverünk össze a $Fe(II)$ – $Fe(III)$ és a $Sn(II)$ – $Sn(IV)$ ionokat tartalmazó oldatokból. Így 0,5 M végkoncentrációjú oldatokat kapunk, amelyekben az oxidált és redukált alak koncentrációja megegyezik. A standard redoxpotenciál tehát közvetlenül mérhető úgy, hogy az adott redoxelektrodot kalomelelektroddal kapcsoljuk össze az alábbiak szerint.

A vizsgált elektrolitba platinaelektrodot merítünk. A viszonyítási kalomelelektrodot az „R” bajonettzárbá, a platinaelektrodhoz illeszhető vezetékét pedig az „S” bajonettzárbá illesztjük.

1. (+) Fe^{2+}/Fe^{3+} (Pt) / kalomel/KCl (1 M) (-)

$$Fe^{2+} : Fe^{3+} = 1:1$$

$$50 \text{ ml} + 50 \text{ ml}$$

$$\text{Mért } E_{ME} = ?$$

$$\varepsilon_0 (Fe^{2+}/Fe^{3+}) = ? + 0,2415 \text{ V}$$

$$\text{Irodalmi: } \varepsilon_0 (Fe^{2+}/Fe^{3+}) = 0,770 \text{ V}$$

2. (+) Sn^{2+}/Sn^{4+} (Pt) / kalomel/KCl (1M) (-)

$$Sn^{2+}/Sn^{4+} = 1:1$$

$$50 \text{ ml} + 50 \text{ ml}$$

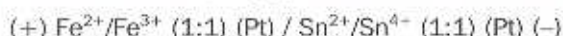
$$\text{Mért EME} = ?$$

$$\varepsilon_0 (Sn^{2+}/Sn^{4+}) = ? + 0,2415 \text{ V}$$

$$\text{Irodalmi: } \varepsilon_0 (Sn^{2+}/Sn^{4+}) = 0,150 \text{ V}$$

Ezt követően az 1 M koncentrációjú törzsoldatok megfelelő arányú keverésével állítsunk elő olyan oldatokat, amelyekben a Fe^{2+}/Fe^{3+} -ionok aránya rendre 100:1, 10:1, 1:10, illetve 1:100, és figyeljük meg az így kapott redoxelektrodok potenciáljának változását!

Végül állítsuk össze az alábbi elemet, és jegyezzük fel a mért elektromotoros erőt!



5.1.6. Biokémiailag jelentős redoxelektród összeállítása és a redoxelem elektromotoros erejének mérése

A redoxfolyamatoknak a sejtek energiatermelésében alapvető szerepe van. Találkozunk velük a glikolízisben, a citrátciklusban és egyéb folyamatokban. A gyakorlaton a citrátciklus két intermedieréből, a borostyánkősavból és fumársavból állítunk össze redoxelektródokat, illetve redoxelemeket.

Szükséges eszközök	Szükséges anyagok
<ul style="list-style-type: none"> - csővoltmérő - agarhíd - főzőpoharak - pipetták - platinaelektródok - kalomelelektrod - elektródtartó állványok - csatlakozó dugaszok 	<ul style="list-style-type: none"> - 1 M borostyánkősav-oldat - 1 M fumársavoldat - 2 N NaOH - 2 N HCl

Eljárás

A két szerves sav 50-50 ml-ének összekeverésével borostyánkősav-fumársav elegyet állítunk össze. Az elektrolitok pH-ját 7-re állítjuk (ha szükséges, cseppenként adagolva a 2 N NaOH-t vagy HCl-t), majd belemerítjük a Pt-elektrodokat.

A redoxelektród standard redoxpotenciáljának meghatározására kalomelelektroddal szemben mérjük az elektromotoros erőt, majd ehhez a kalomelelektrod potenciálját - 0,2415 V-ot - hozzáadva kapjuk meg a standard redoxpotenciálokat.

A redukált és oxidált alak koncentrációjának hatását úgy vizsgálhatjuk, hogy a borostyánkősav-fumársav arányt 1:10-re, majd 10:1-re állítjuk be, és a redoxpotenciált ismételten a kalomelelektroddal szemben határozzuk meg.

Példa a szabadenergia számolására a redoxelem elektromotoros erejéből

Tételezzük fel, hogy amikor a borostyánkősav és a fumársav koncentrációja megegyezik, a mért elektromotoros erő 0,15 V. Mivel $\Delta G = -zF\Delta\epsilon$, ahol $z = 2$, $F = 96500 \text{ C/mol}$, ezért példánkban $\Delta G = -2 \times 96500 \times 0,15 = -28,95 \text{ kJ}$, tehát a két elektród összekapcsolása révén a szabadenergia-változás 28,95 kJ.

Hogy a fenti szabadenergia-változás nagyságrendjét érzékeltessük, megemlítjük, hogy 1 mol ATP hidrolízise ADP-re és foszfátra kb. 30 kJ energia felszabadulásával jár.

5.2. Elektrometriás pH-mérés

A kémhatás meghatározása hagyományosan a pH-indikátorok pH-függő színváltozásán alapul. Ennek a módszernek ma is van jelentősége a laboratóriumi gyakorlatban, de a pontosabb mérésekhez elektromos műszereket használnak. Ezek a koncentrációs elemek elvén alapulnak, legegyszerűbb esetben két hidrogénelektrod összekapcsolásával állíthatók elő. Ennél korszerűbb, ha a vizsgálandó oldatba egy hidrogénelektrodot, és egy másodfajú - pl. kalomel - elektródot merítünk. Ez esetben külön elektródok és agarhíd

nélkül is elvégezhetjük a mérést, a kalomelelektrod potenciáljának levonásával a kérdéses oldatba merülő H-elektrod potenciálja, ebből pedig az oldat pH-ja kiszámítható.

A fenti módszer hátránya, hogy nem közvetlenül adja meg a pH értékét, így rutinfeladatokra már nem használják. Ehelyett üvegelektrodokkal mérünk: az üvegelektrod felületén ugyanis az oldat H^+ -koncentrációjától függő potenciál alakul ki a felületen adszobeaált protonok miatt. Természetesen ennek értéke elektródonként más és más, ezért az üvegelektrodot az adott műszerre időről időre ismert pH-jú standardokkal kalibrálni kell. Az üvegelektrod által mért potenciált kalomelelektrodhoz képest mérjük és a műszer eleve a pH-értéket adja meg, tehát a pH-t nem a leolvasott feszültségből kell számolni.

Az üvegelektrodok vékony, speciális üvegből kiképzett hártályak, gömb, pálcika, vagy egyéb alakúak. Modernebb műszerekben kombinált elektrodokat találunk: az üveg- és kalomel-elektrodot egybeépítették, így egyszerűen annak bemeřitése után közvetlenül olvashatjuk le a pH-értékeket.

5.2.1. Ismeretlen oldat pH-jának meghatározása

Szükséges eszközök	Szükséges anyagok
<ul style="list-style-type: none"> - pH-mérő - kalomel-elektrod - üvegelektrod (vagy kombinált elektrod) - elektrod tartó állvány - főzőpoharak - pipetták - desztillált vizes öblítőedény 	<ul style="list-style-type: none"> - standard pH-jú oldat - ismeretlen pH-jú oldat - desztillált víz

Eljárás

A pH-mérőt bekapcsoljuk és kb. 15 percig melegedni hagyjuk. Ezután a műszert lenullázzuk, majd az üvegelektrodot ismert pH-jú standard oldatokkal kalibráljuk. Ezután az ismeretlen oldatba helyezzük a kalomel- és az üveg- vagy kombinált elektrodot, és a pH-mérő skáláján leolvassuk a pH-értékeket. Az elektrodokat minden mérés előtt és az utolsó mérést követően desztillált vízzel öblítsük le.

5.2.2. Aminosavak elektrometriás titrálása

Az aminosavak titrálásával az amino- és karboxilcsoportok pK-értékeit, valamint az izoelektromos pI-értéket tudjuk meghatározni. Izoelektromos pontnak nevezzük azt a pH-értéket, ahol a molekula nettó töltése az ikerionos szerkezet következtében nulla. A monoamino-monokarbonsavak izoelektromos pontja a neutrálisoz közeli pH-tartományban van, míg a diamino-monokarbonsavak a lúgos, a monoamino-dikarbonsavak pedig a savas tartományban veszik fel az ikerionos szerkezetet.

Mint ismeretes, a gyenge savak és bázisok disszociációja a közeg pH-jától függ. Ha a közeg pH-ja az adott funkciós csoport pK-értéke alatt van, akkor az a csoport döntően protonált alakban fordul elő ($-COOH$, illetve $-NH_3^+$), míg ellenkező esetben a deprotonált forma dominál ($-COO^-$, illetve $-NH_2$).

Ha egy aminosavoldat kémhatását sósav hozzáadásával pH 1-re állítjuk be, majd az oldatot fokozatosan lúgosítjuk és a pH változását a hozzáadott lúg függvényében ábrázoljuk, akkor jellegzetes – az aminosavra jellemző – titrálási görbét kapunk. A görbe meredek emelkedését a disszociáló csoportok pK-értékeinek megfelelő pH-értékek környezetében laposabb szakaszok szakítják meg, ugyanis itt az adott csoport pufferhatása érvényesül (puffrtartomány: $\text{pH} = \text{pK} \pm 1$). A disszociáló csoportok pK-értékeit ezen laposabb szakaszok inflexiós pontjainak helyzetéből lehet megállapítani.

Erősen savanyú közegben ($\text{pH} \approx 1$) minden aminosav pozitív töltésű ionként van jelen a vizes oldatban (maximálisan protonált alak). Titrálásnál ilyen alacsony pH-ról indulunk. Lúg hozzáadásával titráljuk az aminosav-oldatunkat, miközben az adott időpontokban leolvassuk a pH-mérőről az oldat pH-ját. Minél sűrűbben olvassuk le a pH-értékeket, annál pontosabb lesz a titrálási görbénk. A mért pH-értékeket a fogyott lúgmennyiség függvényében ábrázoljuk.

Szükséges eszközök	Szükséges anyagok
<ul style="list-style-type: none"> - főzőpoharak - pipetták - bűretta - pH-mérő kombinált üvegelektóddal - mérőhenger - mágneses keverő 	<ul style="list-style-type: none"> - 1 N NaOH - Gly, His, Glu és Arg aminosavak 0,1 N oldatai ($\text{pH} \approx 1$-re beállítva) - mm-papír

Eljárás

A mérés kivitelezése az 5.2.2 fejezetben leírtaknak megfelelően történik. A mérést a legbázikusabb csoport pK-értékét egy egységgel meghaladó pH-értéknél célszerű abbahagyni.

A leolvasott pH-értékeket az ordinátán, a hozzáadott lúg mennyiségét az abszcisszán ábrázoljuk. A görbe alapján határozzuk meg az egyes aminosavak funkciós csoportjainak pK-értékeit, és adjuk meg az ekvivalencia-pontokhoz, illetve a pK-értékekhez tartozó töltésviszonyokat is!