

DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
ORVOSI VEGYTANI INTÉZET

ORVOSI KÉMIA LABORATÓRIUMI GYAKORLATOK

Szerkesztette:
DOMBRÁDI VIKTOR



DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
ORVOSI VEGYTANI INTÉZET

ORVOSI KÉMIA LABORATÓRIUMI GYAKORLATOK

Javított kiadás

Szerkesztette:
DOMBRÁDI VIKTOR

Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2016

Írták:

BAY PÉTER

BAKÓ ÉVA

CSORTOS CSILLA

FARKAS ILONA

LONTAY BEÁTA

KÓKAI ENDRE

ISBN 978 963 318 577 3

© Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press,
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

Kiadta a Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press
Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi
Készült a DE sokszorosítóüzemében, 2016-ban

Előszó

Az orvosi kémia gyakorlatok célja az elméleti tudás elmélyítése és kiegészítése. A hallgató, miközben a kísérleteket végez a laboratóriumban, beláthatja, hogy a kémia elméletét hogyan lehet alkalmazni, illetve a közvetlen tapasztalatok révén, jobban megértheti az elméleti órákon elsajátított fogalmakat. Az utóbbi években jelentősen növekedett a hallgatói létszám, csökkent a gyakorlati órák száma, és az Intézet új helyre költözött. Mindezek a változások szükségessé tették a gyakorlatok átszervezését. Jegyzetünk az új helyzetnek és a kor igényeinek megfelelően foglalja össze mindazt, amire egy orvostanhallgatónak a kémia gyakorlatok elvégzéséhez szüksége van.

A hallgató az Elméleti Tömbben található gyakorlati termekhez közeledve először az újonnan beállított szekrénysorokra lehet figyelmes, ahova gyakorlat előtt utcai ruháját és táskáját elhelyezheti. Munkavédelmi és tűzvédelmi szempontok miatt a gyakorlati terembe csak a munka elvégzéséhez szükséges eszközöket viheti magával. A jegyzet úgy íródott, hogy tartalmazza a munka megértéséhez és kivitelezéséhez szükséges összes információt, tehát ez az egyetlen könyv, amit a hallgatónak magával kell hoznia a laboratóriumba.

Egy rövid általános bevezető után a jegyzetben megtalálható a kísérletek elméleti alapja és részletes leírása. Minden egyes feladatot lépésről lépésre reprodukálható módon írtunk le. A gyakorlati feladatok leírása után néhány mintaszámítás példáján keresztül mutatjuk be, hogy a kísérletek során kapott eredményeket hogyan lehet kiértékelni. A mintafeladatok a számos lehetséges megközelítés közül csak egy, a hallgatók többsége által könnyen érthető megoldást mutat be. Természetesen bármely más korrekt kiértékelési módszer is elfogadható. Az ez után következő kérdések és számítási feladatok lehetővé teszik, hogy a hallgató felkészülés után ellenőrizze saját tudását. Ezen fejezetek ismeretében mindenki kellően felkészülve kezdheti el a gyakorlati munkát. A jegyzet egyben munkafüzet is, az elvégzett kísérletek eredményeit a „Gyakorlat” című fejezetekben rögzíti a hallgató, majd az itt megadott kérdések, és feladatok megválaszolásával kiértékeli eredményeit. A gyakorlatok megfelelő szintű elvégzését a gyakorlatvezető a jegyzet végén függelékben található lapon aláírásával igazolja. Kérjük, hogy a gyakorlat befejezése után töltsse ki a táblázatot, írja be a kísérlet dátumát és címét, mielőtt a gyakorlatvezető aláírását kéri.

Annak ellenére, hogy az új jegyzetben jelentősen kibővítettük a gyakorlatok elméleti alapjait, a jegyzet mérete mégis csökkent, ugyanis csak azokat a feladatokat írtuk le, amelyeket a hallgatók a kiadás évében maguk is elvégeztek, vagy demonstrációs gyakorlat alkalmával megtekinthettek. A jegyzet írása során a szerzők és a szerkesztő felhasználták az előző évek tapasztalatait és a 2002-ben kiadott jegyzet egyes fejezeteit. Ezúton szeretnénk köszönetet mondani azoknak, akik javaslataikkal, megjegyzéseikkel hozzájárultak a korábbi jegyzetben található pontatlanságok kijavításához. Különösen köszönjük kollégáinknak, Dr. Szűcs Kornéliának, Dr. Tóth Bélának és Dr. Vereb Györgynek, hogy az általuk korábban írt fejezetek anyagát rendelkezésünkre bocsátották. A jegyzet gépelésében és szerkesztésében nyújtott technikai segítségért Hoszpodárné Patka Andreának tartozunk köszönettel. Köszönjük Dr. Gergely Pálnak, az intézet igazgatójának, hogy a jegyzet megírását támogatta, és tanácsaival segítette.

Bár a szerzők és a szerkesztő mindent megtettek annak érdekében, hogy a gépelési és a megfogalmazásbeli hibákat kiküszöböljék, a jegyzet korábbi (2010) kiadása után a feladatok anyag és időigényének optimalizálása és a kisebb hibák korrigálása szükségessé tette néhány oldal újra írását. Ezúton mondunk köszönetet Dr. Tóth Bélának, hogy hasznos javaslataival elősegítette számos hiba korrigálását. Továbbra is várjuk az olvasók kritikáját és javító szándékú javaslatait.

Debrecen, 2016. március 10.

A szerzők és a szerkesztő

BALESETVÉDELMI ÉS TŰZVÉDELMI ELŐÍRÁSOK

A kémiai laboratórium veszélyes munkahely. A kísérletes munka során elkerülhetetlen maró, mérgező, tűz- és robbanásveszélyes anyagok alkalmazása. A tapasztalat azt igazolja, hogy a laboratóriumi balesetek és tüzesetek elkerülhetők a megfelelő óvintézkedések betartásával. Ennek feltétele, hogy ismerjük a veszély forrását, valamint a megelőzés és elhárítás eszközeit és módjait. Az egyes feladatok leírásakor erre külön felhívjuk a figyelmet. Azonban még a laboratóriumi munka megkezdése előtt célszerű a legfontosabb általános jellegű előírások megismerése. Saját és kollégái egészségének megőrzése érdekében tartsa be az alábbi szabályokat. A munkavédelmi és tűzrendészeti szabályok ismerete a laboratóriumi munka előfeltétele.

Munkavédelmi szabályok

1. A laboratóriumban enni tilos. Víz ivására használja a kijelölt ivópoharat.
2. A laboratóriumban viseljen védőköpenyt, zártorrú cipőt.
3. Tűzze fel, ha a haja hosszú és kerülje a hosszú nyaklánc, fülbevaló viselését.
4. Csak a szükséges könyvet és füzetet szabad a gyakorlati teremben tartani.
5. Gumikesztyű, védőszemüveg használata kötelező tömény savak, lúgok használatánál.
6. Tartsa tisztán a munkahelyét, a kiömlött vegyszereket semlegesítse és törölje fel.
7. A bőrre cseppent savat és lúgot azonnal mossa le bő vízzel (**a H_2SO_4 kivételével, amit először száraz ruhával alaposan töröljön le**), ezután semlegesítse a savat 2 %-os $NaHCO_3$, a lúgot 0, 5 %-os ecetsav híg oldatával.
8. Ha sav vagy lúg kerül a szembe, vízzel öblögesse szemmosó pohárból, majd a savat 2%-os bórx, a lúgot 2%-os bórsav oldattal közömbösítse. A szemsérülés után azonnal forduljon szakorvoshoz.
9. Ne pipetázzon tömény savat, lúgot, szérumot, nyers szövetmintát szájjal, csak ballonos vagy automata pipettával.
10. Ha fertőzésveszélyes anyag kerül a bőrre, 0, 2 %-os Neomagnol oldattal többször mossa le (1 tabletta fél liter vízben oldva), ezután végezzen alapos szappanos lemosást, amit langyos vizes öblítés kövessen.
11. Ha mérgező anyaggal dolgozik (pl. H_2S , Cl_2 , Br_2 , NO_2 , NO), használja a vegyifülkét.
12. Ne kóstolgassa a vegyszereket és azok szaglását is óvatosan végezze.
13. Ne felejtse el, hogy a mérgező anyagok három úton kerülhetnek a szervezetbe: orron át, szájon át, bőrön át (főleg zsíroidékony anyagok), ezért legyen óvatos és olvassa el figyelmesen a kísérletek leírását, majd értelmezze azt. Csak ezután végezze el a kísérletet. A gyakorlat elvégzése után ne felejtse el kezét mosni.
14. Ha folyadékot melegít, döntse oldalra a kémcsövet, és ne irányítsa sem maga, sem társa felé, mivel a forrásban lévő folyadék könnyen kifröccsenhet. A kémcsövet ne tartsa közvetlenül a lángba huzamosabb ideig, hanem úgy melegítse, hogy egész felületét egyenletesen érje a Bunsen-égből származó lángja.
15. Soha ne öntsön vissza vegyszert abba az üvegbe, amiből azt kivette, mert ez a vegyszer elszennyezését okozhatja.
16. A szerves oldószereket a kijelölt gyűjtőedénybe gyűjtse, ne öntse a lefolyóba, mivel ez környezetszennyezést okoz.
17. Az eltört hőmérőből kifolyt Hg-t szórja be kénporral. Az így keletkező higany(II)-szulfid már nem mérgező.
18. Kerülje a törött üveg- és porceláneszközök használatát.

19. Kövesse az előírásokat figyelmesen, és ne végezzen meg nem engedett kísérleteket. Olvassa el a vegyszer nevét és koncentrációját - megfelelő-e a kísérleti útmutatóban leírtaknak.
21. Centrifuga használata során mindig ügyeljen arra, hogy az egymással szembe helyezett centrifuga csövek ki legyenek egyensúlyozva.
20. A legkisebb balesetet is jelentse a gyakorlatvezetőnek.

Tűzvédelmi szabályok

1. A laboratóriumban, a laboratórium előterében és az egész épületben tilos dohányozni. A dohányzás csak az arra kijelölt helyen engedélyezett.
2. A laboratóriumban gázégőt csak a kísérletekhez szabad használni. A munka befejezése után a gázcsapot mindig el kell zárni.
3. Elektromos fűtőttestet, rezsót csak hőszigetelő alátét alkalmazásával szabad használni. Elektromos műszerek fali csatlakozóit a kísérlet befejezése után a konnektorból ki kell húzni.
4. Tűzveszélyes folyadékkal való kísérletezés közben a laboratóriumban alaposan szellőztessen, szerves oldószerek nyílt lángon való melegítése tilos. Illékony tűzveszélyes anyaggal (pl. éter) fülke alatt dolgozzon.
5. Olyan vegyszereket, amelyek egymásra hatása következtében tűz vagy robbanás történhet, ne öntsön össze. Ezeket együttesen tárolni sem szabad.
6. A csatornába tilos olyan oldatokat önteni, amelyek tűz- vagy robbanásveszélyes anyagot tartalmaznak, ill. gázt fejleszhetnek.
7. Tanulja meg a rendelkezésre álló kézi tűzoltó készülékek kezelését, legyen tisztában a tűzoltó készülék, biztonsági zuhany elhelyezkedésével is.
8. Tűz esetén zárja el a fő gázcsapot, kapcsolja ki az elektromos áramot, és fegyelmezett magatartással igyekezzen a tüzet eloltani a rendelkezésére álló tűzvédelmi eszközökkel, ezt jelentse a gyakorlatvezetőnek is. **Elektromos tüzet tilos vízzel oltani**, használjon széndioxidos tűzoltó készüléket!
9. A tűzoltók telefonszáma: 105. A tűzoltóságot csak akkor hívja, ha a rendelkezésre álló eszközökkel a tüzet nem lehet eloltani.

LABORATÓRIUMI ALAPMŰVELETEK

Laboratóriumi eszközök

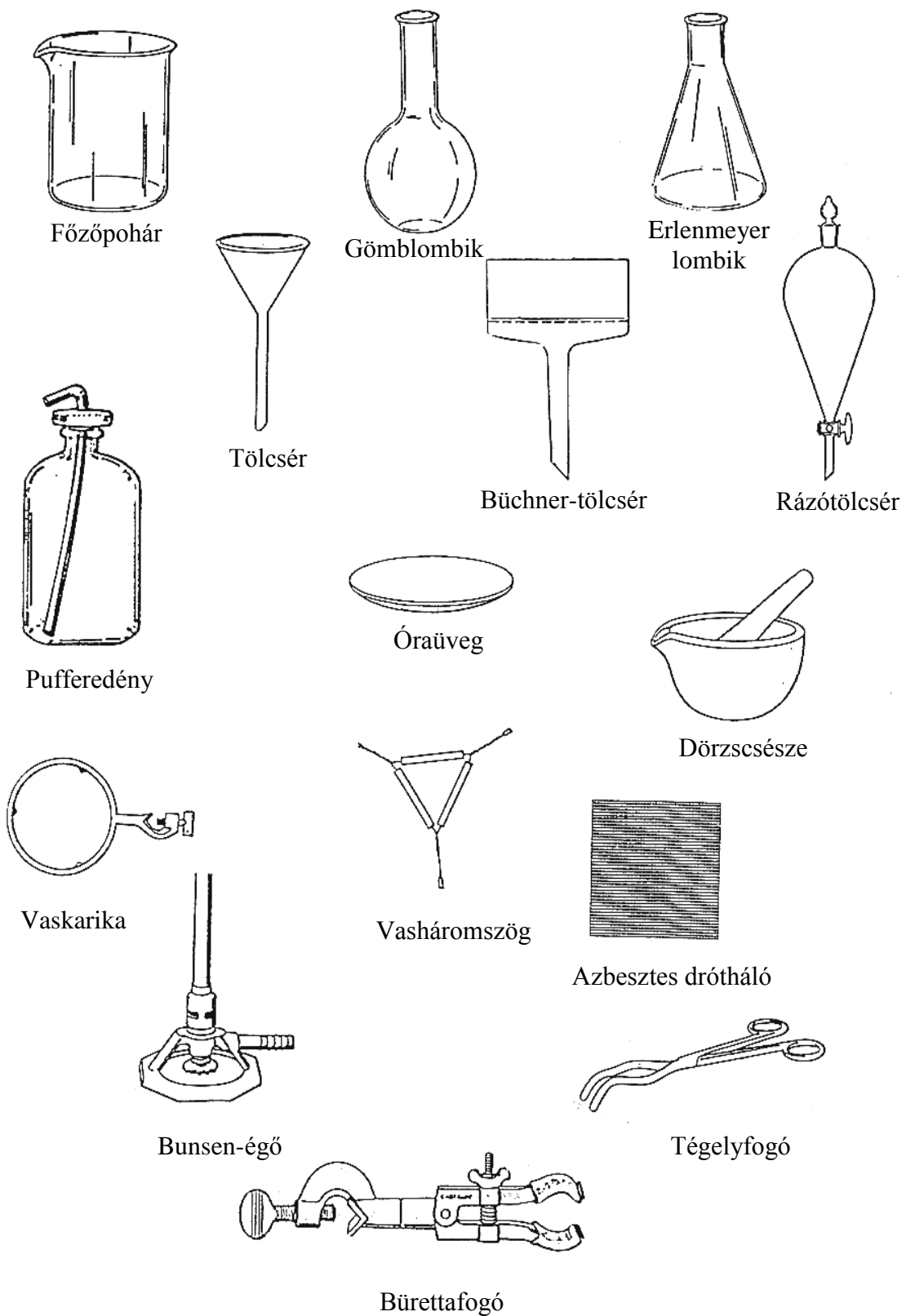
A mindennapos laboratóriumi gyakorlatban használt eszközöket az *1. ábra* mutatja be. A főzőpoharak és a lombikok folyadékok tárolására szolgálnak, Erlenmeyer-lombikban a folyadékok melegítése is elvégezhető. A tölcsér folyadék átöntését segíti, és a Büchner-tölcsérral együtt szűrésre is használható. A rázótölcsérben egymással nem elegyedő folyadékok elválasztása és az ezen alapuló extrakció végezhető el. Óraüvegen általában szilárd anyagokat mérnek ki. Szilárd anyagok porítását dörzscsészében végzik. A vaskarikával tölcsér vagy lombik, a bürettafogóval büretta rögzíthető állványon. Melegítéshez használatos a gázégő. A melegítés gázlángon közvetlenül is elvégezhető, de kényelmesebb és biztonságosabb, ha a tégelyt vasháromlábba helyezett vasháromszögön, az Erlenmeyer-lombikot pedig azbesztes dróthálón melegítjük. A forró tárgyak megfogására szolgál a tégelyfogó.

Térfogatmérés

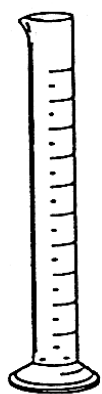
A legfontosabb térfogatmérő eszközök a *2. ábrán* láthatók. A mérőhengert, pipettát és bürettát kifolyásra, míg a mérőlombikot feltöltésre hitelesítették. Ezekben az eszközökben a folyadékszintet szemmagasságból kell leolvasni a fénytörésből adódó ún. parallaxis hiba kiküszöbölésére. Az üvegedény falát nedvesítő folyadékok (pl. vizes oldatok) felszíne homorú. Vizes oldatok térfogatát úgy lehet meghatározni, hogy a folyadékfelszín (meniszkusz) legalsó pontjának helyzetét olvassuk le a mérőeszköz (pl. büretta) skáláján (*2. ábra*). Ez alól a szabály alól kivételt képez, amikor a mérendő folyadék nem átlátszó, ilyenkor a homorú meniszkusz felső szélének helyzetét kell leolvasni.

A mérőlombikot, mérőhengert és bürettát (szükség esetén tölcsér segítségével) az üvegbe maratott jelig kell feltölteni, a pipettába pedig a jel felé kell a folyadékot felszívni. A pipetta végét mutatóujjunkkal fogjuk be (*2. ábra*), a folyadék kiengedése a mutatóujj óvatos elmozdításával történik. A folyadék kiengedésekor a pipetta végét érintse a tárolóedény falához. Bürettából a folyadékot az alsó csap nyitásával lehet cseppenként adagolni. A hasas pipetta egyetlen, pontosan meghatározott térfogat kimérését teszi lehetővé, az osztott pipettával egy adott térfogattartományban lehet kisebb pontossággal mérni. **Maró és mérgező anyagokat szájjal pipettázni tilos!** Ezeket az anyagokat ballonos vagy automata pipettával kell kimérni. Az automata pipettán a kimérendő folyadéktérfogatot a pipetta tetején lévő skálán kell beállítani. A folyadék adagolása a dugattyú alsó helyzetből ütközésig történő fel, majd teljes lenyomásával történik (*2. ábra*). Igen kis térfogatok pontos méréséhez mikropipettát használunk. A pipetta hegyére műanyag pipettacsúcsot (kónuszt) helyezünk, majd a felső gombot az első ütközésig lenyomjuk. A pipettacsúcsot a mérendő folyadékba helyezük és a gomb felengedésével felszívjuk a folyadékot (*2. ábra*). Ezután a pipettacsúcsot a kémcső falához érintve a felső gombot teljesen lenyomjuk. (Az első ütközéskor kinyomjuk a felszívott folyadékot, a második ütközéskor levegővel utána öblítjük a pipettacsúcs falára tapadó folyadékot.) Mérés után a használt pipettacsúcsot el kell távolítani.

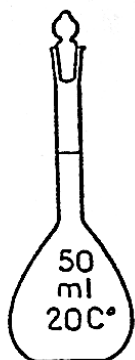
Feladat. Desztillált vízzel gyakorolja a különböző térfogatmérő eszközök használatát!



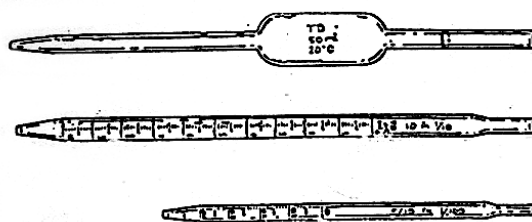
1. ábra. A laboratóriumban használt legfontosabb eszközök



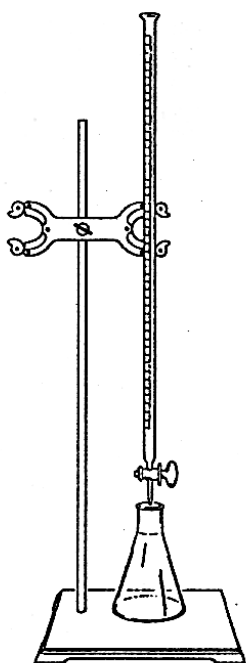
Mérőhenger



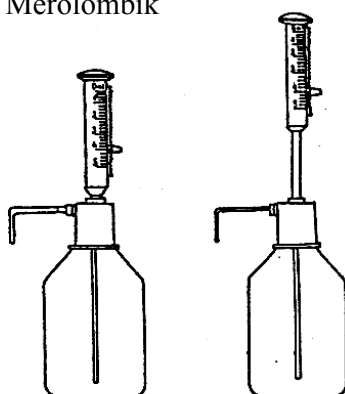
Mérőlombik



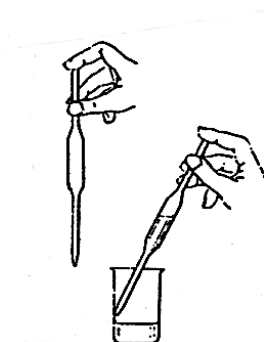
Hasas és osztott pipetták



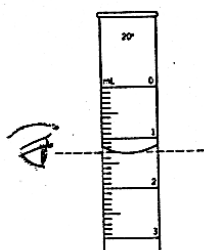
Büretta állványon



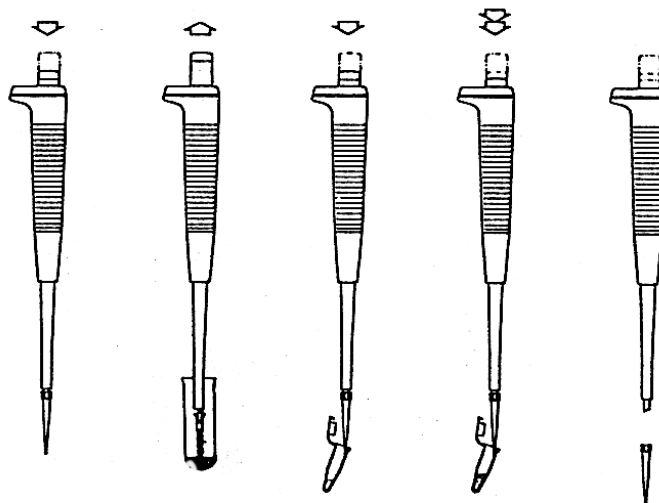
Automata pipetta és használata



Pipettázás



A büretta leolvasása



Mikropipetta és használata

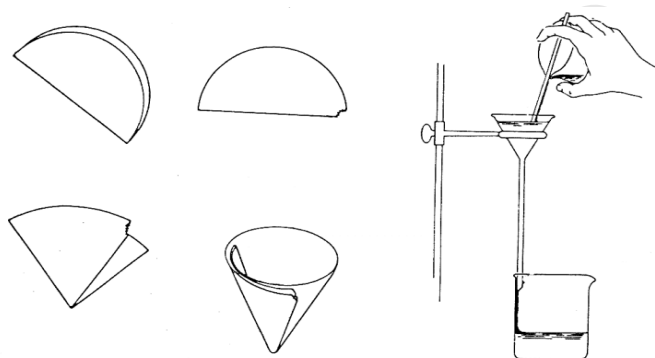
2. ábra. Térfogtmérő eszközök

Szűrés

Szűréssel lehet elválasztani egy folyadékot a benne lévő feloldatlan szilárd anyagtól. A szűrés tehát többkomponensű, heterogén rendszer szétválasztására szolgáló módszer. Szűréshez olyan porózus, nagyfelületű anyagokat használunk, amelyeknek pórusátmérője kisebb, mint a szilárd anyag szemcse nagysága és így csak a folyadékot engedik át (pl. szűrőpapír, porózus üvegkorong, műanyag szűrőlap).

1. feladat. Csapadék szűrése szűrőpapíron

Hajtson négyrét egy négyzet alakúra kivágott szűrőpapírt és vágja negyedkör alakúra. Szétnyitva formáljon tölcséert belőle úgy, hogy az egyik oldalán három, a másik oldalán egy réteg papír legyen (3. ábra). Ezután helyezze a papírszűrőt üvegtölcsérbe, majd nedvesítse meg kevés desztillált vízzel, hogy jól tapadjon a tölcsérhez. A szűrőpapír nagyságát úgy válassza meg, hogy a széle 0,5-1 cm-re legyen a tölcsér széle alatt. A szűrendő anyagot üvegbot mentén csurgatva öntse a tölcsérbe helyezett szűrőpapírra.



3. ábra. Szűrőpapír hajtogatása és szűrés szűrőpapíron

Öntsön egy kémcsőbe 3-4 cm³ 0,5 M CuSO₄ oldatot és adjon hozzá 1 cm³ 0,5 M NaOH oldatot.



Szűrje le a képződött csapadékot. A szűrés után a szűrlethez 0,5 M NaOH oldatot adjon feleslegben.

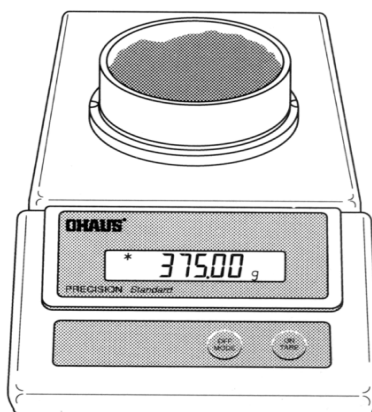
Oldatkészítés

Az oldat olyan folyékony halmazállapotú, homogén rendszer, amely több komponenst (oldószert és oldott anyagot) tartalmaz. Az oldott anyag koncentrációja kifejezhető molaritás, molalitás, móltört ill. %-os koncentrációban (1. táblázat).

1. táblázat. Koncentrációegységek

Definíció	Elnevezés	Jelölés
gramm anyag 100 g oldatban	tömegszázalék	m/m %
cm ³ anyag 100 cm ³ oldatban	térfogatszázalék	v/v %
gramm anyag 100 cm ³ oldatban	vegyesszázalék	m/v %
mol anyag 1 dm ³ oldatban	molaritás	M, mol/dm ³
mol anyag 1 kg oldószerben	molalitás	m, mol/kg
az egyik oldat komponens móljainak száma aránylik az összes komponens móljainak számához	móltört	x

Meghatározott koncentrációjú oldat készítése történhet lemért mennyiségű anyag megfelelő térfogatú oldószerben való feloldásával vagy töményebb oldat megfelelő térfogatra történő hígításával. A szilárd anyagot elektromos táramérlegen (4. ábra), ill. pontos koncentrációjú oldat készítésekor analitikai mérlegen mérjük le.



4. ábra. Elektromos táramérleg

Használati útmutató elektromos táramérleghez

A mérés megkezdése előtt kapcsolja be a készüléket az „ON” feliratú gomb megnyomásával. A kijelzőn minden részlet láthatóvá válik, majd a mérleg modell száma és a szoftver ellenőrző felirata jelenik meg. Ezt követően a mérleg automatikusan táraz és a kijelző nullát mutat. Először a mérendő anyagot tartó edényt helyezük a mérlegre. Az edény tömegét megmérve újra tárazunk, a műszer memóriája rögzíti ezt az értéket. Így a következő lépésben közvetlenül a mérendő anyag tömegét olvashatjuk le a kijelzőn.

1. Tegyük az üres edényt a mérlegre, a tömege megjelenik a kijelzőn.
2. Tárázzunk az „ON TARE” feliratú gomb megnyomásával. A kijelző nulla értéket mutat, az edény tömegét elraktározza a memóriában.
3. Tegyük a mérendő mintát az edénybe és olvassuk le a kijelzőn a minta tömegét.
4. A tároló edény és a minta eltávolítása után a mérleg kijelzőjén a tároló edény tömege jelenik meg negatív előjellel.

Ismételt tárazásig („ON TARE”) a memória tárolja a mérőedény tömeg értékét.

2. feladat. Oldatkészítés

Készítsen NaCl-ból, Na₂SO₄-ból vagy szacharózból a gyakorlatvezető által megadott koncentrációjú oldatot, a rendelkezésére álló 50, 100 vagy 250 cm³-es mérőlombikban. Számítsa ki, hogy mennyi szilárd anyag szükséges az oldathoz! (Moláris tömegek NaCl=58,5 g/mol; Na₂SO₄·10H₂O=322,2 g/mol; C₁₂H₂₂O₁₂ (szacharóz)=342,3 g/mol). Táramérlegen mérje ki a számított tömeget!

A papírlapon lemért anyagot szórja főzőpohárba és oldja fel annyi vízben, amennyiben rázogató hatására éppen feloldódik. Ezután tölcseren keresztül öntse az oldatot a megfelelő méretű mérőlombikba, és desztillált vízzel a főzőpoharat háromszor öblítse utána. Végül a mérőlombikot töltsse fel a jelleg, és a bedugott szájú lombik többszöri megfordításával az oldatot rázza össze. Adja meg az oldat koncentrációját molaritás és vegyes% egységekben is.

Mintafeladatok

1. Készítsen $50,0 \text{ cm}^3$, 8 m/v % (vegyesszázalék) NaCl-oldatot. Mennyi NaCl-ra van szükség az oldat elkészítéséhez?

A vegyesszázalék jelentése alapján $100,0 \text{ cm}^3$ oldat 8 g NaCl-ot tartalmaz. Az $50,0 \text{ cm}^3$, 8 m/v % oldat oldott anyag tartalmát a következő összefüggéssel határozhatjuk meg:

$$\text{Oldott anyag tömege} = 50,0 \text{ cm}^3 \frac{8,0 \text{ g}}{100,0 \text{ cm}^3} = 4,0 \text{ g}$$

2. Számítsa ki annak az oldatnak (a) a molális és (b) moláris koncentrációját, amely 2,0 g kristálycukor (szacharóz, $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) $150,0 \text{ cm}^3$ vízben való feloldásával készült. A szacharóz molekulatömege: 342,3 g/mol, az oldat sűrűsége $1,006 \text{ g/cm}^3$.

(a) A molalitás az oldott anyag mólokban kifejezett mennyisége 1 kg oldószerben. Először kiszámítjuk, hogy a 2 g oldott anyag (szacharóz) hány mólnak felel meg.

A szacharóz mólokban kifejezett anyagmennyisége:

$$2,0 \text{ g} \times \frac{1 \text{ mol}}{342,3 \text{ g}} = 5,84 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

Ezután meghatározzuk a 150 cm^3 víz tömegét. Mivel a víz sűrűsége $1,0 \text{ g/cm}^3$, a $150,0 \text{ cm}^3$ térfogat $150,0$ grammnak, azaz $0,150$ kilogrammnak felel meg.

Az oldat molalitása a következő összefüggéssel számítható:

$$\text{Molalitás} = \frac{5,84 \times 10^{-3} \text{ mol}}{0,150 \text{ kg}} = 0,039 \text{ mol/kg}$$

(b) A molaritás az oldott anyag mólokban kifejezett mennyisége 1 dm^3 oldatban.

A szacharóz oldat tömege $152,0 \text{ g}$ ($150,0 \text{ g}$ víz és $2,0 \text{ g}$ szacharóz) sűrűsége: $1,006 \text{ g/cm}^3$, ez alapján meghatározható a térfogata:

$$\text{Térfogat} = \frac{152 \text{ g}}{1,006 \text{ g/cm}^3} = 151,1 \text{ cm}^3 = 0,1511 \text{ dm}^3$$

Az oldat molaritása a következő összefüggéssel számítható:

$$\text{Molaritás} = \frac{5,84 \times 10^{-3} \text{ mol}}{0,1511 \text{ dm}^3} = 0,0386 \text{ mol/dm}^3$$

Kérdések

Soroljon fel öt térfogatmérő eszközt.

Mit jelent az oldat moláris koncentrációja, mi a mértékegysége?

Mit jelent az oldat molális koncentrációja, mi a mértékegysége?

Mit jelent az oldat tömeg százalékos koncentrációja, mi a mértékegysége?

Mit jelent az oldat vegyes százalékos koncentrációja, mi a mértékegysége?

Adja meg a móltört fogalmát?

Gyakorló feladatok

1. Készítsen $150,0 \text{ cm}^3$, $4 \text{ m/v} \%$ (vegyes százalék) CaCl_2 -oldatot mérőlombik segítségével. Mennyi CaCl_2 -ra van szükség az oldat elkészítéséhez?
2. Számítsa ki a tengervíz (NaCl vizes oldata) moláris koncentrációját 20°C -on! A tengervíz sűrűsége: $1,025 \text{ g / cm}^3$, a NaCl koncentrációja $3,50 \text{ m/m} \%$.
3. Mennyi annak a NaOH oldatnak a tömegszázalékban kifejezett koncentrációja, amely $1,5 \text{ mol NaOH}$ $0,7 \text{ dm}^3$ vízben való feloldásával készült? A NaOH moláris tömege $40,0 \text{ g/mol}$.

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. Csapadék szűrése szűrőpapíron

Mit tapasztalt a CuSO_4 és NaOH oldat összeöntése után?

Milyen színű lett a kapott szűrlet?

Írja fel a reakcióegyenletet!

Mit tapasztalt, ha feleslegben NaOH oldatot adott a szűrlet egy részéhez? Miért?

2. feladat. Oldatkészítés

Feloldandó anyag:

Koncentráció:

Mérőlombik térfogata:

Számítás

Bemért anyag tömege:

A készített oldat koncentrációja:

mol/dm^3 ;

m/v\% (vegyes%).

MINŐSÉGI ANALÍZIS

A kémiai analízis célja az anyagok alkotórészeinek (atomok, atomcsoportok) megismerése és viszonylagos mennyiségük meghatározása. A kémiai analízis két nagy részre osztható: *minőségi (kvalitatív)* és *mennyiségi (kvantitatív)* analízis.

A kvalitatív analízis az elemek, vegyületek azonosításával, ill. ezek keverékeiben az egyes komponensek felismerésével foglalkozik. Sokszor már az anyagok fizikai sajátágaiból is következtethetünk a minőségre, összetételükre. Így a sűrűségnek, olvadáspontnak, forráspontnak, színnek, szagnak stb. jelentősége lehet az anyagok azonosításában. Megbízható következtetést azonban a minőségi összetételre vonatkozóan csak kémiai reakciók alapján vonhatunk le. Erre szolgálnak a különféle reagensek, amelyeket úgy választunk meg, hogy lehetőleg gyors, érzékeny és jellemző reakciókat idézzenek elő. Előtérbe kerülnek azok a reakciók, ahol színváltás vagy új fázis (csapadék, gáz) képződése következik be.

A minőségi elemzéskor az anyagot oldott állapotban vizsgáljuk. Már maga az a tény, hogy az anyag hogyan oldódik vízben, savakban, vagy lúgokban, felvilágosít arról, hogy milyen anyagról lehet szó. A tulajdonképpeni analízis azonban az oldat vizsgálatával kezdődik. A vizsgálandó oldat egy-egy részletéhez ismert reagensek oldatait adjuk és megfigyeljük, hogy milyen színű csapadék keletkezik, illetve milyen változás következik be. A reakciók java részét kis térfogatban, kémcsőreakció formájában végezzük, így az idő- és anyagigény egyaránt minimális.

Az ivóvíz kémiai vizsgálata

Minden természetes víz tartalmaz ionokat. A tengervízben az oldott sók koncentrációja meglehetősen magas, legnagyobb koncentrációban Cl^- , Na^+ és Mg^{2+} fordul elő. Az ivóvizek elsősorban a kőzetekből és ásványokból a víz áramlása során kioldott sókat tartalmaznak, koncentrációjuk a geológiai és a környezeti tényezőktől függ. Az ivóvízben leggyakrabban Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Fe^{2+} , Fe^{3+} és NH_4^+ kationok, illetve HCO_3^- , CO_3^{2-} , OH^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , F^- , és PO_4^{3-} anionok fordulnak elő. A szervezetre káros anyagokat az ivóvíz nem tartalmazhat.

A természetes - felszíni és felszín alatti - vizekbe különböző szennyező anyagok kerülhetnek. Így az ammónia (illetve az ammóniumion), továbbá a nitrit- és nitrácion megjelenése bomló szerves anyagok illetve baktériumok jelenlétére utal. A nitrácionok önmagukban régebbi szennyezésre, vagy műtrágya bemosódására utalnak. A foszfácionok jelenléte műtrágya vagy mosószer szennyeződés következménye lehet. Nem alkalmasak közvetlen fogyasztásra a magas vas-, szulfát- és kloridion tartalmú vizek sem (kellemetlen szag és íz).

Amíg a vízben oldódó, szennyező hatású anyagok nem kerülnek nagy feleslegbe, addig a víz öntisztulása természetes úton lejátszódik. Az oldott gázokat vagy egyéb elillanó szennyeződések az áramlás során a vízbe kerülő levegő űzi ki, a szilárd szennyező anyagok pedig lassú áramlás során a vízgyűjtőben ülepednek ki. Ezen kívül a vízben lévő mikroorganizmusok is segítik a vízbe kerülő növényi és állati eredetű szennyezések elbontását.

A vízben előforduló ionok jellemző színreakciókkal mutathatók ki. A fellépő színintenzitásból fél kvantitatív módon becsléssel, vagy kvantitatív módon fotometriás meghatározással következtethetünk a vízben lévő anyagok koncentrációjára.

1. feladat. Ammóniumion meghatározása

A meghatározás lényege, hogy a Nessler-reagens* (kálium-[tetrajodo-merkurát(II)] lúgos oldata) ammónium sókkal bázisos Hg(II)-amido-jodidot képez, amely kis koncentrációban sárgászöld színeződést okoz, nagyobb koncentrációban pedig vörösbarna csapadékot alkot:



Mivel a Nessler-reagens lúgot tartalmaz, a vizsgálandó víz Ca^{2+} - és Mg^{2+} -tartalma hidroxidok formájában kicsapódik. Ezért a Nessler-reagenshez előzőleg Seignette-sót (K-Na-tartarátot) adunk, amely a kalcium- és magnéziumionokkal komplexet alkot, és így ezeket oldatban tartja (ez az ún. "kevert" Nessler-reagens**).

Színösszehasonlító hengerben mért 50 cm^3 vízhez adjon 5 cm^3 "kevert" Nessler-reagenst és az oldatot rázza jól össze. A keletkező sárgászöld színeződés intenzitásából a 2. táblázat segítségével következtethet az ammóniumion mennyiségére.

2. táblázat. Ammóniumion meghatározása ivóvízben

Színeződés		Ammóniumion (NH_4^+) tartalom	
felülről nézve	oldalról nézve	jelölés	koncentráció-tartomány (mg/dm^3)
színtelen	színtelen	nincs	0
észrevehető sárga színeződés	színtelen	gyenge nyom	0-0,05
világossárga	alig észrevehető sárga elszíneződés	nyom	0,05-0,2
sárga	halványsárga	erős nyom	0,2-1,0
vörösesbarna	határozott sárga	sok	1,0-3,0
sötét vörösesbarna	vörösesbarna színeződés	igen sok	3,0 felett

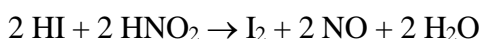
* Nessler-reagens készítése: 10 g HgI_2 -t dörzsöljön el vízzel (kb. 40 cm^3) porcelán csészében. Kevés vízben (10 cm^3) oldjon fel 5 g KI-t és az eldörzsölt HgI-hoz hozzáadva ismét dörzsölje át. Kb. 40 cm^3 vízben oldjon 20 g NaOH-t. A szobahőmérsékletre lehűtött keverékhez öntse hozzá, majd 100 cm^3 -re töltse fel desztillált vízzel. Néhány napig hagyja állni, ez alatt az oldat kitisztul, ezután már használható.

** Kevert Nessler-reagens készítése: közvetlenül vizsgálat előtt a Nessler-reagenst, Seignette-só 50%-os oldatával 1:1 arányban keverje össze és a keveréket még kétszeresére hígítsa desztillált vízzel.

Az ammónia a növényi és állati szerves anyagok korai rothadási terméke. Ezért ammóniumion kimutatása alapján gyanítható, hogy a vízbe friss emberi vagy állati ürülék (és ezzel feltehetően kórokozó baktérium) jutott. Éppen ezért vezetékes vizek ammóniumionokat nem tartalmazhatnak (a megengedett határérték 0,0-0,1 mg/dm³). Ezzel szemben kútvezek nyomokban (0,05-0,2 mg/dm³) tartalmazhatnak ammónium ionokat, ezekbe ugyanis a levegőből is bekerülhet ammónia.

2. feladat. Nitrition meghatározása

A meghatározás azon alapszik, hogy a nitritek savanyú közegben oxidáló hatást fejtenek ki, pl. a jodidiont jóddá oxidálják:



A felszabaduló I₂ keményítővel kék színreakciót ad, amelynek intenzitása a vízben lévő nitrit mennyiségével egyenesen arányos.

Szín összehasonlító hengerbe öntsön

50 cm³ vizsgálandó vizet,

1 cm³ 25%-os foszforsavat,

4 cm³ 0,5%-os keményítő oldatot,

1 cm³ 10%-os KI oldatot.

Összekeverés után hagyja állni 30 percig sötétben. A képződött szín intenzitását, illetve a nitrit tartalmat 3. táblázatból becsléssel állapítsa meg.

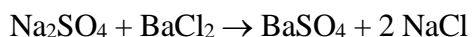
3. táblázat. Nitrition meghatározása ivóvízben

Színeződés		Nitrition (NO ₂) tartalom	
felülről nézve	oldalról nézve	jelölése	koncentráció-tartomány (mg/dm ³)
színtelen	színtelen	nincs	0,0
halványkék	színtelen	gyenge nyom	0,0-0,03
világoskék, még átlátszó	halványkék	nyom	0,03-0,1
sötétkék, átlátszatlan	világoskék	erős nyom	0,1-0,3
fekete átlátszatlan	sötétkék	sok	0,3-0,5
fekete átlátszatlan	kékeszöld	igen sok	0,5 felett

A nitritek régebbi faecalis szennyeződésre utalnak, mint az ammónia. A megengedett határérték vízvezetékek vizében 0,0-0,03 mg/dm³, kutak vizében 0,01-0,1 mg/dm³.

3. feladat. Szulfátion meghatározása

A szulfátionok BaCl_2 -dal oldhatatlan, fehér színű bárium-szulfát csapadékot adnak:



A csapadék híg savakban nem oldódik.

A vizsgálandó vízből 25 cm^3 -t mérjen színösszehasonlító hengerbe és adjon hozzá 5%-os sósavas BaCl_2 oldatból* 25 cm^3 -t. Figyelem, a BaCl_2 oldat mérgező! Jól összekeverve fél óráig hagyja állni. A képződő zavarosodás mértékét sötét alapon, felülről és oldalról nézve olvassa le, és hozzávetőlegesen állapítsa meg a szulfátion koncentrációját a 4. táblázat segítségével.

4. táblázat. Szulfátion meghatározása ivóvízben

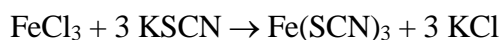
Sötét alapon		Szulfátion (SO_4^{2-}) tartalom	
felülről	oldalról	jelölése	koncentráció-tartomány (mg/dm^3)
zavarosodás nem látszik	zavarosodás nem látszik	nincs	0
gyenge zavarosodás	zavarosodás nem látszik	nyom	0-12
fehér zavarosodás	gyenge zavarosodás	kevés	12-40
fehér zavarosodás	ülepedés megfigyelhető	közepes	40-200
fehér	erősen ülepedő csapadék	sok	200-1000
fehér	a cső fenekén porszerű csapadék	igen sok	1000 fölött

A vízben található szulfátionok egy része geológiai eredetű, de jelentős emelkedés figyelhető meg házi vagy ipari szennyvizek hatására. A magas szulfátion-tartalmú vizek kellemetlen szaguk és ízük miatt nem alkalmasak fogyasztásra.

* Sósavas BaCl_2 készítése: oldjon 50 g $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -t kevés deszt.vízben, adjon hozzá 500 cm^3 10%-os HCl-t, majd deszt.vízzel 1 dm^3 -re egészítse ki mérőlombikban.

4. feladat. Vasion meghatározása

A vas(III)-ionok KSCN-dal savanyú közegben rózsaszín (nagyobb koncentrációban sötétvörös) színeződést okoznak vas(III)-tiocianát keletkezése miatt. A szín intenzitása a vas(III)-ionok koncentrációjával egyenesen arányos.



A reakciót vas(II)-ionok nem adják, ezért a vas(II)ionokat kevés KMnO_4 -tal oxidáljuk a meghatározás kivitele előtt. A KMnO_4 színe a meghatározást nem zavarja, mivel a KMnO_4 feleslegét a feleslegben alkalmazott KSCN elszínteleníti.

Szín összehasonlító hengerben 50 cm^3 vizsgálandó vízhez adjon $2,5 \text{ cm}^3$ 10%-os sósavat és 3 csepp 0,02 M KMnO_4 -t. Összekeverés után hagyja 10 percig állni, majd $1-2 \text{ cm}^3$ 20%-os KSCN oldatot adva hozzá újabb 10 perc várakozás után olvassa le a rózsaszín (vagy sötétvörös) színeződést. Az 5. táblázat segítségével adja meg a vízminta vasion-tartalmát mg/dm^3 koncentrációban.

5. táblázat. Vasion meghatározása ivóvízben

Színeződés		Vasion ($\text{Fe}^{3+} + \text{Fe}^{2+}$) tartalom	
felülről	oldalról	jelölés	koncentráció-tartomány (mg/dm^3)
színtelen	színtelen	nincs	0
már észrevehető rózsaszínű	színtelen	igen gyenge nyom	0-0,1
határozott rózsaszínű	már észrevehető rózsaszínű	gyenge nyom	0,1-0,3
rózsaszínű	határozottabb rózsaszínű	nyom	0,3-0,5
világosvörös	rózsaszínű	közepes	0,5-1,5
vörös	világosvörös	sok	1,5-3,0
sötétvörös	vörös	igen sok	3,0 fölött

A felszíni vizek vastartalmát a fémfeldolgozó, pácoló üzemek, továbbá a külszíni bányauzemek szennyvizei szolgáltatják. A nagy vastartalmú vizek nem alkalmasak közvetlen fogyasztásra. Az ivóvíz vasion tartalma nem haladhatja meg a $0,1 \text{ mg/dm}^3$ koncentrációt.

Kérdések

Írja fel az ammóniumion meghatározásának alapjául szolgáló reakcióegyenletet!

Írja fel az nitrition meghatározásának alapjául szolgáló reakcióegyenletet!

Írja fel a szulfátion meghatározásának alapjául szolgáló reakcióegyenletet!

Írja fel a vasion meghatározásának alapjául szolgáló reakcióegyenletet!

Gyakorlat

Dátum:

Az ismeretlen vízminta száma:

Adja meg a vizsgálat eredményeit az alábbi táblázatban:

Ion	Színeződés		Jelölése	Koncentráció (mg/dm ³)
	felülről	oldalról		
NH ₄ ⁺				
NO ₂ ⁻				
SO ₄ ²⁻				
Fe ³⁺				

Minősítse a vízmintát az alábbi összefoglaló alapján!

Kifogástalan ivóvíznek az olyan vizet tekintjük, amely az alábbi követelményeknek felel meg:

Szín, átlátszóság: színtelen, teljesen átlátszó, lebegő részekről mentes.

Szag: szagtalan, idegen szagtól mentes

Hőmérséklet: 7-12°C között.

Ammóniumion: legfeljebb 0,05 mg/dm³

Nitrition: legfeljebb 0,05 mg/dm³

Szulfátion: legfeljebb 50 mg/dm³

Vasion: legfeljebb 0,1 mg/dm³

.....számú vízminta iható/emberi fogyasztásra alkalmatlan. (A megfelelő választ húzza alá.)

Indokolja válaszát!

Szervetlen sók és komplexek vizsgálata

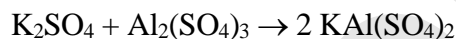
A sók fémionból (vagy összetett kationból) és savmaradék-anionból álló vegyületek, amelyek bázis és sav egymásra hatásakor keletkeznek. A sók kevés kivétellel ionrácsot alkotó kristályos vegyületek, amelyeknek olvadáka és vizes oldata vezeti az elektromos áramot, mivel egymástól elkülönülő kationokra és anionokra disszociálnak. A sók különböző fajai ismereteseek.

A *szabályos sók* egyféle fémionból és savmaradékból állnak [pl. NaCl, K₂SO₄, Al(NO₃)₃].

A *savanyú sók* fémionon és savmaradékon kívül savi hidrogént is tartalmaznak, a többértékű sav nem minden hidrogénjét helyettesíti fémion [pl. NaHSO₄, KH₂PO₄].

A *bázisos sók* fémion és savmaradék mellett hidroxidiont is tartalmaznak, a többértékű bázis nem minden hidroxicsoportját helyettesíti savmaradék [pl. Bi(OH)₂NO₃].

A *kettős sók* kétféle só együttes kristályosításakor keletkeznek, pl.:



A keletkezett kettős só tudományos neve kálium-alumínium-szulfát, triviális neve timsó. Leggyakrabban a Na⁺, K⁺, NH₄⁺, illetve Al³⁺, Cr³⁺ és Fe³⁺ kationokból lehet kettős sót kristályosítani. A kettős sók oldatában az alkotórészek (az egyes ionok) megtartják eredeti tulajdonságaikat.

A *komplex ionokban*, a fémionok elektronburkába ionok vagy semleges molekulák kapcsolódnak szabad elektronpárjukkal. A komplexben kötött elektronpár-donor ionokat vagy molekulákat ligandumoknak nevezzük. A kapcsolódó ligandumok száma a koordinációs szám. A komplex ion töltése a fémion és a ligandumok töltésének algebrai összege (pl. [Ni(CN)₄]²⁻, [Co(NH₃)₄]³⁺). A fémionhoz koordinált kovalens kötéssel kötött ligandumok alkotják az *első koordinációs szférát*, melynek kismértékű disszociációja miatt a fém és a ligandumok nem tartják meg eredeti tulajdonságaikat. A komplexképződést gyakran színváltozás és az oldhatóság növekedése kíséri. A komplex ion stabilitását a központi ion (atom) és a ligandumok közötti kötés erőssége szabja meg. Ha a kötés gyenge, akkor a komplex nem stabil, könnyen disszociál alkotórészeire. Ha a kötés erőssége nagy, a komplex stabil és alkotórészei nem mutathatók ki a komplex oldatában.

A *komplex sókban a második koordinációs szférát* elektrosztatikus kölcsönhatással olyan ionok hozzák létre, amelyek oldatban teljesen disszociálnak és kémiai reakciókkal azonosíthatók, pl. K₂[Ni(CN)₄], [Co(NH₃)₄]Cl₃.

1. feladat. *Kompleképződés kimutatása*

(a) Réz(II)-szulfát oldathoz részletenként öntsön vizes ammónia oldatot feleslegben, a képződő csapadék feloldásáig. A Cu^{2+} az NH_3 molekulákkal komplexet alkot, a koordinációs szám 4.

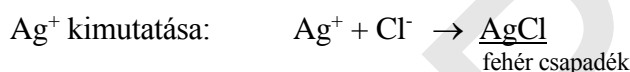
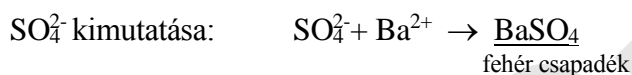
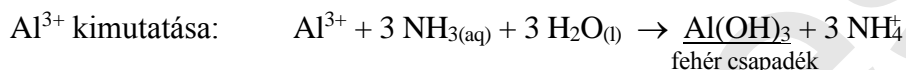
(b) Nikkel(II)-szulfát oldathoz adjon kevés NaOH oldatot, majd feleslegben NH_3 vizes oldatát. A Ni^{2+} az NH_3 -val olyan komplexet képez, amelyben a koordinációs szám 6.

2. feladat. *Kettős és komplex sók disszociációjának vizsgálata*

(a) Dörzscsészében porítson el kevés timsót $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$, oldja fel kb. 10 cm^3 desztillált vízben és ossza szét három kémcsőbe a K^+ , Al^{3+} és SO_4^{2-} kimutatása céljából.

(b) Öntsön kémcsőbe 2 cm^3 1,7 m/m% AgNO_3 oldatot, adjon hozzá cseppenként 30,0 m/m% KSCN oldatot, míg a kezdetben képződő csapadék ismét feloldódik és $\text{K}[\text{Ag}(\text{SCN})_2]$ komplex képződik. Ossa az oldatot három részre a K^+ , Ag^+ és SCN^- vizsgálata érdekében.

Vizsgálja meg a kettős só és a komplex só disszociációjából származó ionokat. Az egyes ionok az alábbi reakciókkal mutathatók ki:



Kérdések

Írjon példát általános sóra (név és képlet).

Írjon példát savasan disszociáló sóra (név és képlet).

Írjon példát bázisosan disszociáló sóra (név és képlet).

Írjon példát kettős sóra (név és képlet).

Írjon példát komplex sóra (név és képlet).

Írja fel a réz(II)-szulfát oldat reakcióját ammónia vizes oldatával, a termék neve és a várható változások feltüntetésével. (A Cu^{2+} koordinációs száma az ammóniával adott komplexében 4).

Nikkel(II)-szulfát oldat reakciója NaOH-val, majd feleslegben adott ammónia-oldattal: reakcióegyenlet, a termék neve, megfigyelendő változások (A Ni^{2+} koordinációs száma az ammóniával alkotott komplexében 6).

Mi a legjelentősebb különbség a kettős és komplex sók között?

Írja fel a timsó képletét és disszociációjának egyenletét vizes oldatban.

Írja fel az ezüst-klorid és a diammin-ezüst(I)-klorid képletét. Milyen eltérés várható az oldhatóságukban?

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. *Komplekképződés kimutatása*

(a) Milyen változásokat tapasztalt, miközben réz(II)-szulfát oldathoz vizes ammónia-oldatot adott?

Az oldat színe a kísérlet előtt:

A keletkező csapadék színe:

A keletkező komplex színe:

Írja fel a reakcióegyenleteket.

(b) Milyen változásokat tapasztalt, miközben nikkel(II)-szulfát oldathoz NaOH, majd vizes ammónia-oldatot adott?

Az oldat színe a kísérlet előtt:

A keletkező csapadék színe:

A keletkező komplex színe:

Írja fel a reakcióegyenleteket.

2. feladat. *Kettős és komplex só disszociációjának vizsgálata*

(a) Írja fel a timsó disszociációjának egyenletét. Milyen ionokat tudott kimutatni a timsó oldatában?

(b) Írja fel a kálium-[ditiocianáto-argentát(I)] képződésének egyenletét és a keletkezett komplex só disszociációját. Milyen ionokat tudott kimutatni az oldatban?

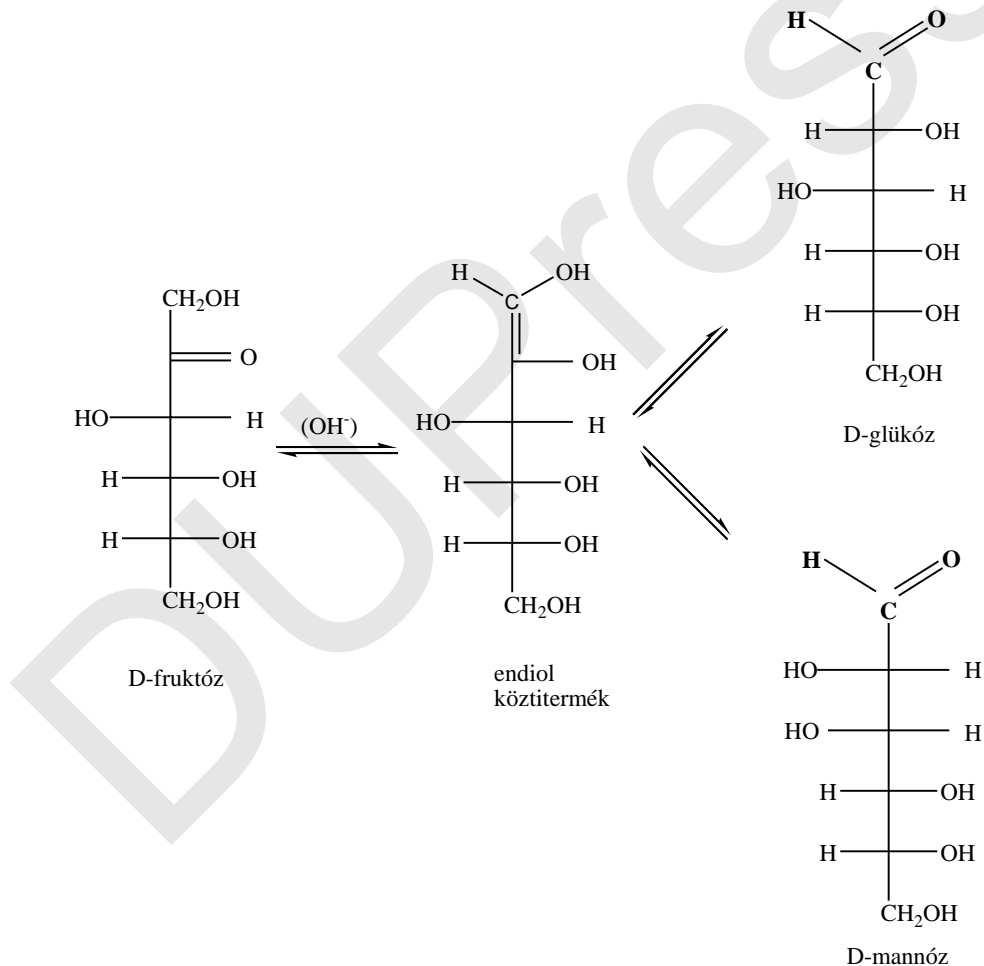
Cukorkimutatási eljárások

A szénhidrátok a növény és állatvilágban elterjedt szénvegyületek. A monoszacharidok, oligoszacharidok a sejtek és szövetek közvetlen energiaforrásai, míg a poliszacharidok tartalék tápanyagként, ill. támasztó- és vázanyagként szolgálnak.

Kémiai szempontból a szénhidrátok polihidroxi-aldehidek vagy polihidroxi-ketonok, ill. belőlük származtatott vegyületek. A szénhidrátok kimutatása az oxo- ill. hidroxilcsoport olyan reakcióin alapszik, amelyek jellemző színváltozással vagy csapadékképződéssel járnak.

Redukción alapuló cukorkimutatási eljárások

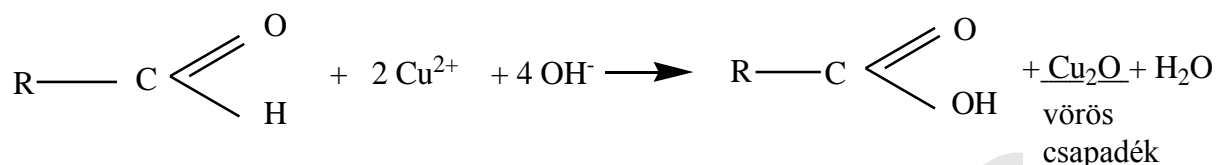
Minden monoszacharid redukáló hatású az aldehyd-, vagy a ketocsoport által aktivált hidroxilcsoport jelenléte következtében. A fruktóz például pozitív reakciót mutat Fehling reagenssel, mert lúgos közegben glükózzá és mannózzá alakul. Az átalakulás alapja a keto-enol tautomerizáció.



Az oligoszacharidok közül azok redukálnak, amelyek szabad glikozidos hidroxilcsoportot tartalmaznak.

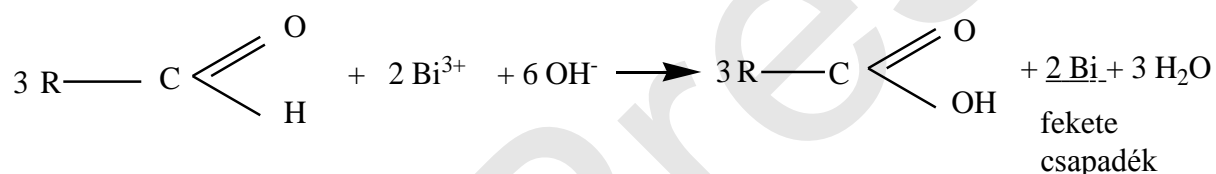
1. feladat. Fehling-reakció

Fehling reagenst frissen készítsen, összemérve mérőhengerrel 1 térfogat Fehling I (7%-os CuSO_4) oldatot és 1 térfogat Fehling II (3%-os NaOH + 35%-os K-Na-tartarát) oldatot. Először kék színű $\text{Cu}(\text{OH})_2$ csapadék képződik, amelyet ibolyaszínű komplexionná alakít a K-Na-tartarát). Ezután öntsön egy kémcsőbe kb. 2 cm^3 kevert Fehling-reagenst (I és II keverékét) és 2 cm^3 vizsgálandó, cukortartalmú oldatot. Főzze a kémcső tartalmát 3 percig. Pozitív reakció esetén vörös csapadék (Cu_2O) képződik, mivel redukáló anyagok hatására a Cu^{2+} -ionok Cu^+ -ionokká redukálódnak.



2. feladat. Nylander-próba

Adjon kb. 2 cm^3 vizsgálandó oldathoz 2 cm^3 Nylander-reagenst*. Főzze a kémcső tartalmát 3 percig. Pozitív reakció esetén a bizmut(III)-ionok fém bizmuttá redukálódnak, így fekete csapadék keletkezik.



Cukrok dehidratálásán alapuló meghatározás

Erős ásványi savak hatására a ketohezókból intramolekuláris vízelvonással heterociklusos vegyületek, furfurolszármazékok keletkeznek. A furfurool-származékokból tömény savak hatására alacsonyabb szén-atomszámú aldehidek jönnek létre, amelyek különböző fenolszármazékokkal (α -naftol, antron, rezorcin stb.) színes anyagokká kondenzálódnak. A dehidratálási reakciók megfelelő körülmények között aldohexózok (pl. glükóz) és ketohezók (pl. fruktóz) megkülönböztetésére alkalmasak.

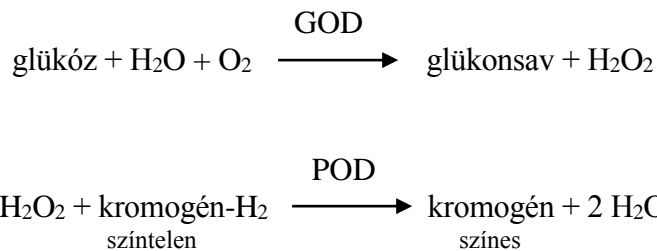
3. feladat. Seliwanoff-reakció

Öntsön kémcsőbe $1-2 \text{ cm}^3$ vizsgálandó oldatot, $1-2 \text{ cm}^3$ Seliwanoff-reagenst (0,5%-os rezorcin tömény sósavas oldata). Összerázás után melegítse a kémcsövet 5 percig kb. 80°C -os vízfürdőben. Pozitív reakció esetén élénkpiros szín, ill. csapadék képződik. (A szacharóz hosszabb forralás után enyhén pozitív színreakciót mutat, a tömény HCl hidrolizáló hatására képződő fruktóz jelenléte miatt.)

* A Nylander-reagens összetétele: $\text{Bi}(\text{OH})_2\text{NO}_3$ (3%), NaOH (10%), K-Na-tartarát (4%)

Glükóz kimutatása enzimatikus módszerrel

A glükózt a glükóz-oxidáz (GOD) enzim glükonsavvá oxidálja H_2O_2 képződése mellett; a H_2O_2 pedig a kromogént a peroxidáz (POD) enzim segítségével színes terméké oxidálja.



A reakció a glükóz-oxidáz specificitása miatt csak glükóz jelenlétében pozitív.

4. feladat. Glükóz kimutatása glükóz-oxidázzal

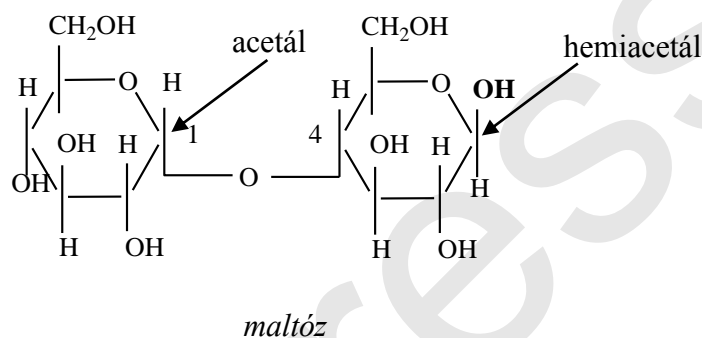
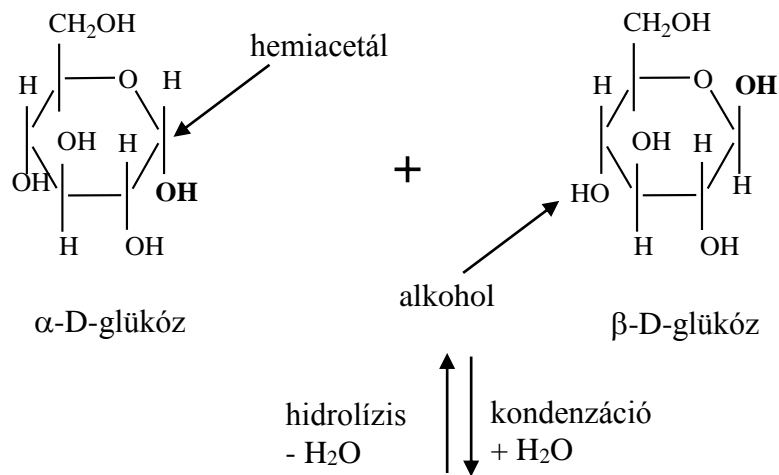
A reagenspapír glükóz-oxidázt, peroxidázt és kromogént (pl. o-tolidin) tartalmaz.

Mártsa a reagenspapírt a vizsgálandó oldatba majd kb. fél percre hagyja levegőn állni. Pozitív reakció esetén a kromogénre jellemző kék vagy lila színváltozás lép fel. A glükóz koncentrációját empirikus színskála segítségével a reagenspapír elszíneződése alapján lehet megbecsülni.

Diszacharidok vizsgálata

A diszacharidok két monoszacharidból tevődnek össze, amelyek glikozidos kötéssel kapcsolódnak. A kötés savas vagy enzimatikus hidrolízissel hasítható. Két monoszacharid összekapcsolódásakor az egyik cukormolekula alkoholos hidroxil csoportja és a másik molekula glikozidos hidroxil (hemiacetál) csoport között alakul ki speciális kémiai kapcsolat, amit glikozidos kötésnek nevezünk. A glikozidos kötés kialakulása során a kötésben az 1. számú szénatommal résztvevő molekulában a hemiacetál szerkezetből acetál képződik. A másik molekula 4. szénatomja nem alakít ki acetál szerkezetet. A kötés kialakulása kondenzációs reakció, amely során egy molekula víz távozik. A diszacharidok két csoportra oszthatók:

Redukáló diszacharidok, az egyik monoszacharid glikozidos OH-csoportja kapcsolódik a másik monoszacharid alkoholos (és nem a glikozidos) OH-csoportjával. A diszacharid molekulában, pl. a két glükóz molekulából glikozidos kötéssel képződő maltózban (amit a következő oldalon mutatunk be), szabad glikozidos OH-csoport marad, s ennek következtében redukál.



(α -D-glükopiranozil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glükopiranozil)
 A szabad glikozidos **HO**- csoportot félkövér szedés jelzi.

*Nemredukáló disszacharidok*ban mind a két monoszacharid molekula glikozidos OH-csoportja részt vesz a glikozidos kötésben. Az ilyen disszacharidokban (pl. a következő oldalon látható szacharóz) már nem található glikozidos OH-csoport, éppen ezért nem redukálnak.

A szacharóz kénsav jelenlétében történő hidrolízise során a glükóz és a fruktóz 1:1 arányú elegye képződik, amelyet invert cukornak nevezünk. Az invert cukor képződésekor optikailag aktív glükóz és fruktóz keletkezik, amelyek a síkban polarizált fényt specifikus forgatóképességet pozitív értékről negatívra változtatják. Ez a keverék a méz fő szénhidrát összetevője.

5. feladat. Szacharóz hidrolízise (invertálása)

Mérjen kémcsőbe kb. 5 cm³ szacharóz oldatot, 4-5 csepp 10%-os H₂SO₄-t, és 15 percig 100°C-os vízfürdőben való melegítés után adjon hozzá 2 cm³ 10%-os NaOH-t (a sav semlegesítésére). Végezze el a Fehling-próbát és a Seliwanoff-reakciót hidrolízis előtt és hidrolízis után.

Gyakorlat

Dátum:

Az **1.-5. feladatok** leírása alapján végezze el a táblázatban feltüntetett reakciókat a megadott cukrokkal. A táblázatban összegezze tapasztalatait (a pozitív reakciókat + jellel, a negatív reakciót – jellel jelölje).

Reakció	glükóz	fruktóz	invert-cukor	maltóz	szacharóz	szacharóz hidrolízis után	Ismeretlen száma:
1. Fehling							
2. Nylander							
3. Seliwanoff							
4. Glükóz-oxidáz							

A táblázat alapján a számú ismeretlen cukrot tartalmaz.

Indokolja feleletét!

MENNYISÉGI ANALÍZIS

A mennyiségi analízis valamely anyag ismert minőségű alkotórészeinek mennyiségéről ad felvilágosítást. A mennyiség meghatározása történhet kémiai, valamint műszeres analitikai eljárásokkal. A kémiai mennyiségi analízis során a meghatározandó alkotórészt kémiai reakcióba visszük, és a felhasznált reagens térfogatából (*térfogat analízis/titrimetria*), vagy a keletkező termék tömegéből (*gravimetria*) következtetünk a meghatározandó alkotórész mennyiségére. A *műszeres analitikai* eljárások az anyagok mennyiségével összefüggésben levő fizikai-kémiai tulajdonságok mérésén alapulnak.

TÉRFOGATOS ANALÍZIS

A térfogat analízis során addig adagolunk mért térfogatú, ismert koncentrációjú mérőoldatot a meghatározandó anyag ismert térfogatú oldatához, amíg az maradék nélkül átalakul. Az ismert koncentrációjú oldatot *mérőoldatnak*, az ismeretlen koncentrációjú oldathoz való adagolását pedig *titrálásnak* nevezzük. A reakció végpontján a vizsgálandó anyag és a mérőoldat kémiaileg egyenértékű mennyiségei vannak jelen. Az ekvivalenciapont eléréséhez szükséges mérőoldat-térfogatból kiszámítható a meghatározandó anyag koncentrációja.

A térfogat analízis feltételei az alábbiak:

1. A mérőoldat és a meghatározandó anyag között egyértelmű és gyors reakció játszódjék le. Az ismeretlen koncentrációjú anyag teljes mennyiségének reagálnia kell a mérőoldattal.
2. Az ekvivalenciaponton az oldat fizikai-kémiai tulajdonságaiban ugrásszerű változás következék be (pl. az oldat vagy a hozzáadott indikátor színváltozása, az oldat vezetőképességének, az oldatba merülő elektród potenciáljának változása).

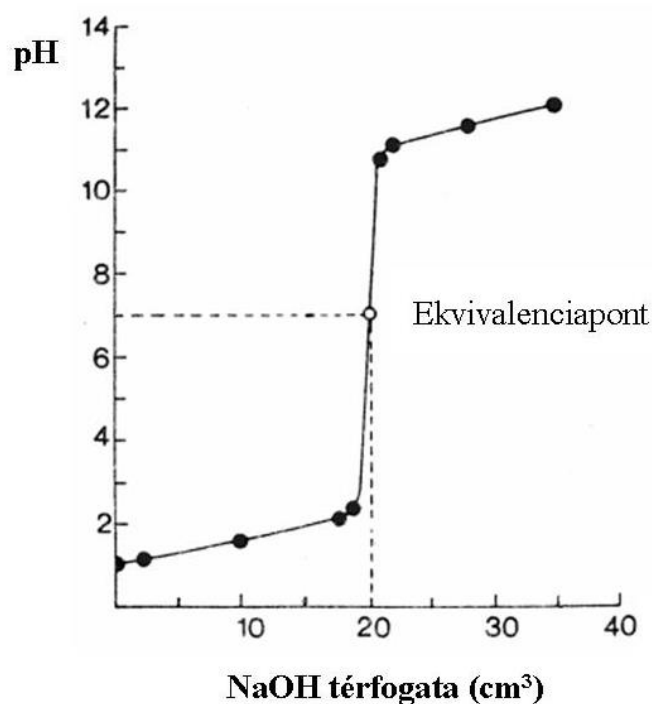
A titrálási eljárások a reakció típusa szerint az alábbi főbb csoportokba oszthatók:

- (1) sav-bázis titrálások
- (2) redoxititrálások
- (3) komplexometriás titrálások
- (4) csapadékos titrálások

Sav-bázis titrálások

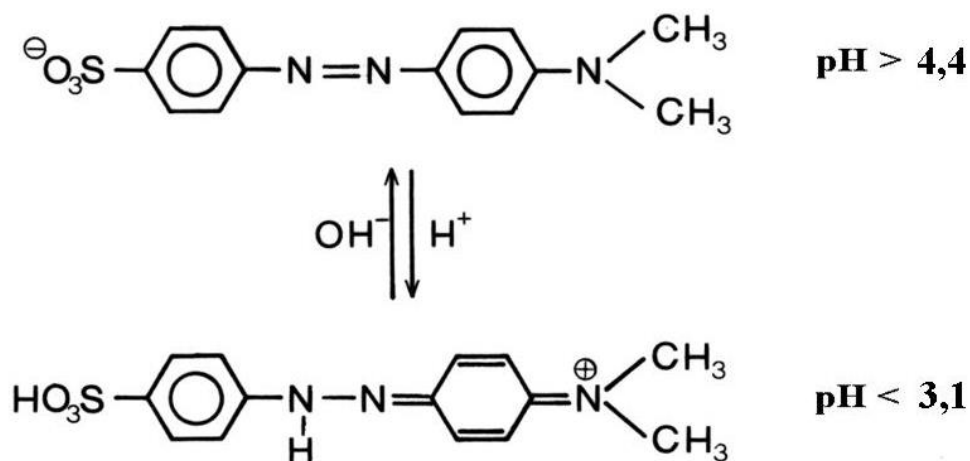
A sav-bázis titrálások során bázisok koncentrációját határozzuk meg sav mérőoldatokkal (alkalimetria) vagy savakét bázis mérőoldatokkal (acidimetria). A reakcióelegy pH-ja a titrálás során állandóan változik. A titrálási görbék a reakcióelegy pH értékét a mérőoldat térfogatának függvényében mutatják.

Erős savat erős bázissal titrálva nemhidrolizáló só és víz keletkezik. Az erős elektrolitok disszociációját figyelembe véve a folyamat lényege H_2O molekula képződése H^+ és OH^- ionokból. A reakcióelegy pH-ja a feleslegben levő sav vagy bázis koncentrációjából számítható. Az ekvivalenciaponton a H^+ és OH^- ionok moláris koncentrációja egyenlő, azaz az oldat pH-ja 7,0 (5. ábra).



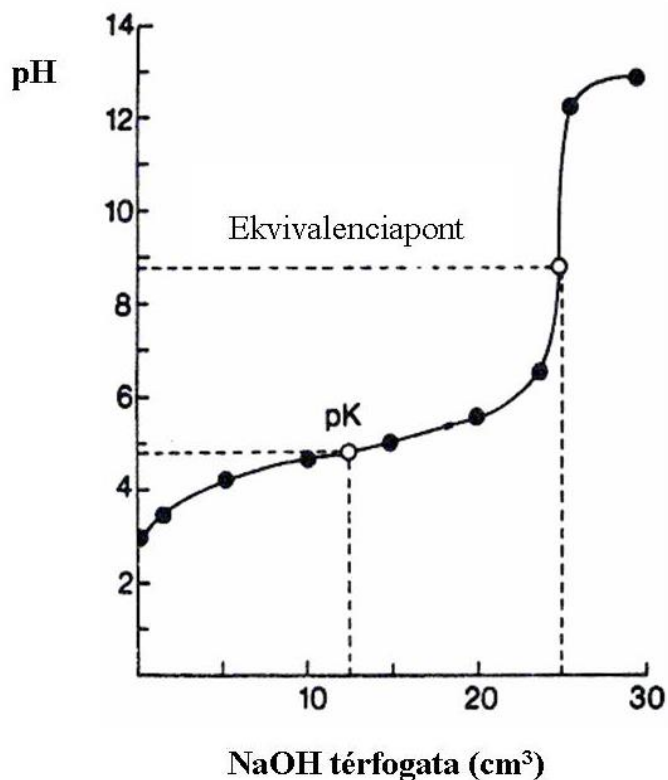
5. ábra. Erős sav titrálása erős bázissal
20,0 cm³ 0,100 M HCl titrálása 0,100 M NaOH oldattal.

A titrálás végpontjának közelében a pH meredeken emelkedik, így az ekvivalenciapont jelzésére minden olyan sav-bázis indikátor alkalmas, amelynek átcsapási zónája pH 3-10 közé esik (pl. metilnarancs: pH 3,1-4,4; 6. ábra). Az ekvivalenciapontot műszeres módszerrel is megállapíthatjuk (elektrometria, konduktometria).



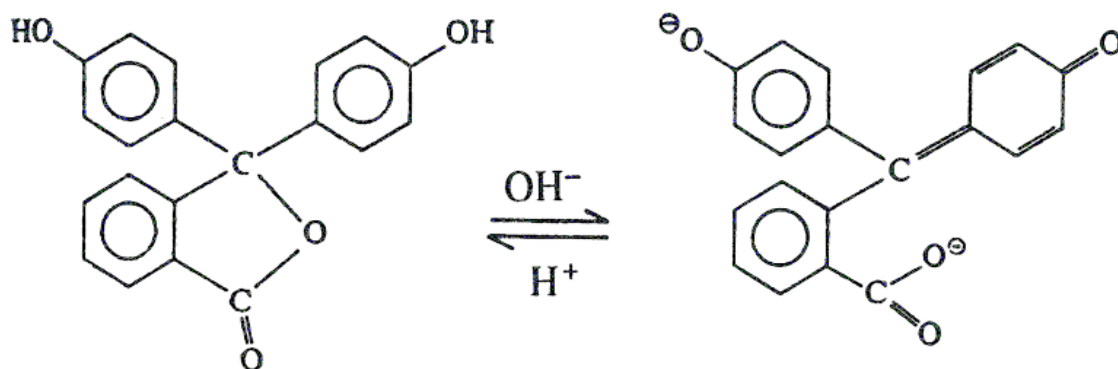
6. ábra. A metilnarancs indikátor szerkezete
pH > 4,4 oldatban az indikátor sárga, amely pirosba csap át, ha a *pH < 3,1*.

Gyenge sav erős bázissal való titrálása során (7. ábra) a bázis hozzáadásakor pufferoldat jön létre (pl. ecetsav-nátrium-acetát puffer), amely az ekvivalenciapontig jelen van a reakcióelegyben. A gyenge savhoz ekvivalens mennyiségű bázist adva az oldat pH-ja lúgos a keletkező só anionhidrolízise következtében.



7. ábra. Gyenge sav titrálása erős bázissal
25,0 cm³ 0,100 M CH₃COOH titrálása *0,100 M NaOH* oldattal.

Az ekvivalenciapont jelzésére olyan indikátor használható, amely $\text{pH} > 7$ tartományban változtatja színét (pl. fenolftalein: $\text{pH} 8,3-10,0$; 8. ábra).



8. ábra. A fenolftalein indikátor szerkezete
 $\text{pH} < 8,3$ értéknél a fenolftalein színtelen, míg piros, ha a $\text{pH} > 10,0$.

A titrálás kivitelezése

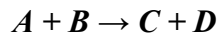
A burettába egy kis tölcséren át töltsön egy kevés mérőoldatot. Öblítse át a burettát, majd tölts fel mérőoldattal a jel fölé. Vegye ki a tölcsért, majd engedje le a folyadék szintjét a jelig.

A vizsgálandó oldat kívánt mennyiségét hasas pipettával mérje Erlenmeyer-lombikba, és adjon hozzá néhány csepp indikátort. Túl sok indikátor használata meghamisíthatja a mérés eredményét, hiszen az indikátorok maguk is gyenge savak illetve bázisok. A lombikot a buretta alá helyezve kezdje adagolni a mérőoldatot. Egyik kezével kezelje a buretta csapját, a másikkal rázogassa körkörösén az Erlenmeyer-lombikot. Az ekvivalenciaponthoz közeledve a becseppentés helyén egyre tartósabb színváltozást észlelhető, ami összerázás hatására eltűnik. A mérőoldatot cseppenként adagolja tovább, amíg egyetlen csepp hatására az oldat színe megváltozik. A színátcsapás jobban érzékelhető, ha a lombikot fehér papírra vagy csempelapra helyezi.

A titrálás végpontját elérve jegyezze fel a mérőoldat állását a burettában. A fogyott mérőoldat térfogatát a végső és a kiindulási érték különbsége adja meg. Ismétlje meg a titrálást. A mérőoldatfogyások számtani középértéke alapján számítsa ki a vizsgált oldat koncentrációját.

Számítás

Ha a titrálás során a reaktánsok 1:1 molarányban reagálnak egymással, akkor a végbemenő reakció egyenlete általános formában



ahol A a mérőoldatban levő reagens és B az ismeretlen koncentrációjú anyag. Tételezzük fel, hogy V_B cm³ B oldat teljes reakciójához V_A cm³ térfogatú c_A mol/dm³ koncentrációjú mérőoldat szükséges.

Az A anyag móljainak száma V_A cm³ c_A mol/dm³ koncentrációjú oldatban

$\left(c_A \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \right) \left(\frac{V_A}{1000} \text{ dm}^3 \right) = 0,001c_A \cdot V_A$ mol, amely $0,001c_A \cdot V_A$ mol B anyaggal reagál. A B oldat térfogata V_B cm³ = $0,001V_B$ dm³.

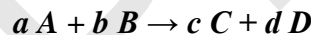
A B moláris koncentrációja:

$$c_B = \frac{0,001c_A \cdot V_A}{0,001V_B} \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} = \frac{c_A \cdot V_A}{V_B} \text{ mol/dm}^3$$

Az ismeretlen oldat molaritását tehát az alábbi képlet alapján számíthatjuk:

$$c_B = \frac{c_A \cdot V_A}{V_B}$$

Általános esetben az A és B anyag molaránya $a:b$ és a reakció egyenlete



V_B cm³ B oldat teljes reakciójához legyen szükséges ismét V_A cm³ c_A mol/dm³ koncentrációjú mérőoldat.

Az A anyag móljainak száma V_A cm³ c_A mol/dm³ koncentrációjú oldatban $0,001c_A \cdot V_A$ mol (ld. fent). Mivel a mol A b mol B -vel ekvivalens, $0,001c_A \cdot V_A$ mol A anyag $\frac{b}{a} \cdot 0,001c_A \cdot V_A$ mol B anyaggal reagál, amely $0,001V_B$ dm³ oldatban található.

A B moláris koncentrációja:

$$c_B = \frac{\frac{b}{a} \cdot 0,001c_A \cdot V_A}{0,001V_B} = \frac{b \cdot c_A \cdot V_A}{a \cdot V_B}$$

A B anyag molaritása az utóbbi, általános esetben tehát az alábbi képlet alapján számítható ki:

$$c_B = \frac{b \cdot c_A \cdot V_A}{a \cdot V_B}$$

Erős savak titrálása

1. feladat. Közelítőleg 0,1 M NaOH mérőoldat pontos koncentrációjának meghatározása

A szilárd NaOH a levegőből nedvességet és szén-dioxidot köt meg, így egy része Na_2CO_3 -tá alakul. Pontos koncentrációjú mérőoldatot ezért nem készíthetünk úgy, hogy számított tömegű NaOH-t feloldunk a szükséges térfogatú vízben vagy oldatban. A közelítőleg 0,1 M NaOH tényleges koncentrációjának meghatározása pontosan ismert töménységű (pl. 0,1000 M) HCl oldattal történhet.

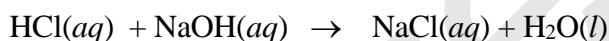
A kísérlet kivitelezése

Mérjen ki $10,0 \text{ cm}^3$ 0,1000 M HCl oldatot hasas pipettával Erlenmeyer-lombikba. Adjon hozzá 1-2 csepp metilnarancs indikátort, és titrálja NaOH mérőoldattal mindaddig, amíg az indikátor színe vörösből hagymavörösbe csap át. A lúg egy cseppjének fölöslegére az oldat színe sárgára változik. Jegyezze fel a fogyott NaOH térfogatát. Ismétlje meg a titrálást kétszer, a HCl oldat $10,0$ - $10,0 \text{ cm}^3$ -es részleteivel. Három értékelhető fogyás átlagából számítsa ki a mérőoldat pontos koncentrációját.

Számítás

$$10,0 \text{ cm}^3 \text{ 0,1000 M HCl } \left(\frac{10}{1000} \text{ dm}^3 \right) \left(0,1000 \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \right) = 0,001 \text{ mol HCl-t tartalmaz,}$$

amely 0,001 mol NaOH-val reagál az alábbi reakcióegyenlet alapján:



Ha a HCl közömbösítésére $V \text{ cm}^3$ lúg fogyott, akkor a NaOH moláris koncentrációja

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{0,001 \text{ mol}}{0,001V \text{ dm}^3} = \frac{1}{V} \text{ mol/dm}^3$$

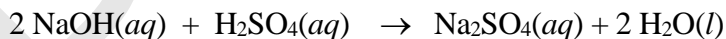
2. feladat. Kénsavoldat koncentrációjának meghatározása

A kísérlet kivitelezése

Pipetázzon Erlenmeyer-lombikba $10,0 \text{ cm}^3$ ismeretlen koncentrációjú H_2SO_4 oldatot, és 1-2 csepp metilnarancs indikátort hozzáadva titrálja meg az előző feladatban vizsgált NaOH mérőoldattal. Ismétlje meg a titrálást a H_2SO_4 újabb $10,0 \text{ cm}^3$ -es részletével.

Számítás

1000 cm^3 1,000 M NaOH $1/2$ mol (49 gramm) kénsavval reagál az alábbi reakcióegyenlet értelmében:



A NaOH mérőoldat pontos koncentrációjának ismeretében számítsa ki a H_2SO_4 koncentrációját M-ban és vegyes%-ban.

Mintafeladatok

1. Számítsa ki annak a NaOH oldatnak a moláris koncentrációját, amelyből $10,25 \text{ cm}^3$ szükséges $10,0 \text{ cm}^3$ $0,0985 \text{ M}$ HCl közömbösítéséhez.

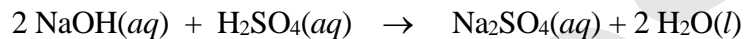
A NaOH és HCl 1:1 molarányban reagálnak egymással, ezért

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{c_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}}}{V_{\text{NaOH}}}$$

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{0,0985 \text{ M} \cdot 10,0 \text{ cm}^3}{10,25 \text{ cm}^3} = 0,0961 \text{ M}$$

2. $10,0 \text{ cm}^3$ H_2SO_4 oldatot $7,5 \text{ cm}^3$ $0,0976 \text{ M}$ NaOH semlegesít. Adja meg a H_2SO_4 oldat koncentrációját az alábbi egységekben: (a) molaritás, (b) vegyes %. (A H_2SO_4 moláris tömege $98,0 \text{ g/mol}$.)

A reakció egyenlete:



$$(a) 7,5 \text{ cm}^3 \text{ } 0,0976 \text{ M NaOH} \left(\frac{7,5}{1000} \text{ dm}^3 \right) \left(\frac{0,0976 \text{ mol}}{\text{dm}^3} \right) = 7,32 \cdot 10^{-4} \text{ mol NaOH-t}$$

tartalmaz, amely $\frac{1}{2} \cdot 7,32 \cdot 10^{-4} \text{ mol} = 3,66 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$ H_2SO_4 -val reagál.

A H_2SO_4 oldat térfogata $10,0 \text{ cm}^3 = 0,010 \text{ dm}^3$, molaritása

$$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = \frac{3,66 \cdot 10^{-4} \text{ mol}}{0,010 \text{ dm}^3} = 0,0366 \text{ M}$$

$$(b) 1000 \text{ cm}^3 \text{ } 0,0366 \text{ M H}_2\text{SO}_4 \text{ oldatban} \left(0,0366 \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \right) \left(98,0 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right) = 3,587 \text{ g H}_2\text{SO}_4 \text{ van,}$$

100 cm^3 -ben pedig $0,3587 \text{ g H}_2\text{SO}_4$.

A H_2SO_4 oldat tehát $0,3587$ vegyes%-os.

Kérdések

Miért szükséges a sav titrálásához készített NaOH mérőoldat pontos koncentrációját meghatározni?

Hogyan történik a NaOH mérőoldat pontos koncentrációjának meghatározása (reakció, indikátor)?

Hogyan határozható meg a kénsavoldat koncentrációja sav-bázis titrálással? Írja fel a reakció egyenletét. Metilnarancsot vagy fenolftaleint használna-e az ekvivalenciapont jelzésére?

Rajzolja fel a HCl oldat NaOH oldattal való titrálásának görbéjét. Jelölje meg az ekvivalenciapontot és a hozzá tartozó pH-értéket.

Gyakorló feladatok

1. Számítsa ki annak a NaOH oldatnak a moláris koncentrációját, amelyből 8,75 cm³ szükséges 10,0 cm³ 0,1204 M HCl semlegesítéséhez. Adja meg a NaOH oldat koncentrációját vegyes%-ban. (A NaOH moláris tömege 40,0 g/mol.)

2. Mennyi a molaritása annak a NaOH oldatnak, amelyből 10,0 cm³ -t 5,6 cm³ 0,1564 M HCl közömbösít? Hány mg NaOH-t tartalmaz 0,500 dm³ NaOH oldat? (A NaOH moláris tömege 40,0 g/mol.)

3. Egy ismeretlen H₂SO₄ oldat 5,0 cm³-es részletének teljes reakciójához 12,5 cm³ 0,1684 M NaOH szükséges. Számítsa ki a H₂SO₄ oldat koncentrációját molaritásban és vegyes%-ban. (A H₂SO₄ moláris tömege 98,0 g/mol.)

4. Számítsa ki annak a H₂SO₄ oldatnak a molaritását, amelyből 22,0 cm³ szükséges 10,0 cm³ 0,1246 M NaOH közömbösítésére. Milyen térfogatú oldatban van 1,0 g H₂SO₄? (A H₂SO₄ moláris tömege 98,0 g/mol.)

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. Közelítőleg 0,1 M NaOH mérőoldat pontos koncentrációjának meghatározása

A titrált HCl oldat térfogata: 10,0 cm³

A titrált HCl oldat moláris koncentrációja: 0,1000 M

	Titrálás száma		
	1.	2.	3.
Bürettaállítás titrálás előtt (cm ³)			
Bürettaállítás titrálás után (cm ³)			
Fogyott NaOH térfogata (cm ³)			
NaOH átlagfogyás (cm ³)			

Számítás

A NaOH mérőoldat pontos koncentrációja: mol/dm³.

2. feladat. Kénsavoldat koncentrációjának meghatározása

Az ismeretlen H_2SO_4 oldat száma:

A titrált H_2SO_4 térfogata:

A NaOH mérőoldat koncentrációja (1. feladat):

	Titrálás száma	
	1.	2.
Bürettaállítás titrálás előtt (cm^3)		
Bürettaállítás titrálás után (cm^3)		
Fogyott NaOH térfogata (cm^3)		
NaOH átlagfogyás (cm^3)		

Számítás

A(z) számú kénsavoldat koncentrációja:

mol/dm^3 ,
vegyes%.

Gyenge savak titrálása

1. feladat. Ecetsav koncentrációjának meghatározása

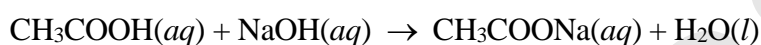
Az ecetsav koncentrációját NaOH mérőoldattal titrálva határozzuk meg. A keletkező nátrium-acetát anionhidrolízise miatt fenolftalein indikátort használunk, amely a pH 8,3-10,0 tartományban színtelenről vörösre változtatja színét. A fenolftalein a szénsavnál gyengébb sav, ezért a levegő CO₂-jára igen érzékeny.

A kísérlet leírása

Pipetázzon 10,0 cm³ ismeretlen koncentrációjú ecetsavat Erlenmeyer-lombikba, adjon hozzá 2-3 csepp fenolftalein oldatot, majd rázogatós közben titrálja halványrózsaszínűre. A titrálás végpontját a 15 másodpercig megmaradó szín jelzi (hosszabb állás közben az indikátor a levegőből oldódó CO₂ hatására elszíntelenedik).

Számítás

1 mol NaOH 1 mol (60,0 g) ecetsavval reagál az alábbi reakcióegyenlet szerint:



Három titrálás átlaga alapján számítsa ki, hány mg ecetsavat tartalmaz a titrált 10,0 cm³ ecetsavoldat. Adja meg az oldat koncentrációját vegyes%-ban és mol/dm³-ben is.

2. feladat. Szabad sósav aciditás és összaciditás mérése gyomornedv-modellben

Az erős és gyenge sav egymás melletti meghatározása azon alapszik, hogy az erős sav a gyenge sav disszociációját visszazorítja. A NaOH mérőoldat hidroxidionjai először az erős sav (HCl) hidrogénionjaival egyesülnek; az első ekvivalenciapont jelzésére alkalmas a pH 3,1-4,4 között átsapó metilnarancs. További lúg hatására a gyenge sav disszociációjából származó hidrogénionok egyesülnek a hidroxidionokkal. A második ekvivalenciapont jelzésére az anionhidrolízis miatt fenolftaleint használunk (átsapási tartománya: pH 8,3-10,0, 8. ábra).

A gyomornedv sósavat és gyenge savakat (savanyú foszfátokat, kóros esetben tejsavat) tartalmaz. A gyomornedv savtartalmát régebben a szabad sósav aciditással és az összaciditással jellemezték. A *szabad sósav aciditás* (mmol HCl/dm³) a 100 cm³ gyomornedvre a metilnarancs átsapásáig fogyó 0,100 M NaOH cm³-einek számával adható meg. Az *összaciditás* (összes sav mmol/dm³) megegyezik a 100 cm³ gyomornedvre a fenolftalein átsapásáig fogyó 0,100 M NaOH cm³-einek számával.

A klinikai kémiai diagnosztikában a gyomor savszekréciójának jellemzésére újabban az 1 óra alatt kiválasztott sósav mennyiségét határozzák meg titrálással és adják meg mmol/óra egységben. Az éhgyomri szekrétaleszívása után az egy órán át folyamatosan (vagy négyszer 15 percenként) gyűjtött gyomornedv térfogatát lemérik és ennek részletét (általában 5 cm³-t) titrálják. Először az alapszekréciót (Basal Acid Output = BAO) határozzák meg, majd – a sósavtermelés Pentagastrin injekcióval történő stimulálása után – mérik a maximális savszekréciót (Maximal Acid Output = MAO).

A kísérlet leírása

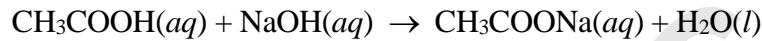
Mérjen Erlenmeyer-lombikba $10,0 \text{ cm}^3$ gyomornedv-modellt (pipettával), 1-2 csepp metilnarancs indikátort és 2-3 csepp fenolftalein indikátort. Titrálja közelítőleg $0,1 \text{ M}$, pontosan ismert koncentrációjú NaOH oldattal a metilnarancs átcsapását jelző hagymavörös szín megjelenéséig. Jegyezze fel a fogyott mérőoldat térfogatát, majd titrálja tovább a mintát a fenolftalein halványvörös színének megjelenéséig.

Számítsa ki az ismeretlen mintában az erős sav (HCl) és az összes sav koncentrációját mmol/dm^3 -ben.

Mintafeladatok

1. Egy ismeretlen ecetsavoldat $10,0 \text{ cm}^3$ -nek titrálásakor $14,55 \text{ cm}^3$ $0,1025 \text{ M}$ NaOH fogyott. Adja meg az ecetsav koncentrációját mol/dm^3 -ben és vegyes%-ban. Hány mg ecetsav van $10,0 \text{ cm}^3$ ecetsavoldatban? (Az ecetsav moláris tömege $60,0 \text{ g/mol}$.)

A reakció egyenlete



A fogyott NaOH móljainak száma

$$\left(\frac{14,55}{1000} \text{ dm}^3\right) \left(\frac{0,1025 \text{ mol}}{1 \text{ dm}^3}\right) = 1,491 \cdot 10^{-3} \text{ mol},$$

amely $1,491 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$ ecetsavval reagál. Az ecetsavoldat térfogata $10,0 \text{ cm}^3 = 0,010 \text{ dm}^3$. Az ecetsav molaritása

$$\frac{1,491 \cdot 10^{-3} \text{ mol}}{0,010 \text{ dm}^3} = 0,1491 \text{ M}$$

$1 \text{ dm}^3 (= 1000 \text{ cm}^3)$ $0,1491 \text{ M}$ ecetsav

$$\left(0,1491 \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}\right) \left(60,0 \frac{\text{g}}{\text{mol}}\right) = 8,946 \text{ g ecetsavat tartalmaz.}$$

100 cm^3 oldatban tehát $0,8946 \text{ g}$ ecetsav van. Az ecetsav koncentrációja $0,8946$ vegyes%.

10 cm^3 $0,1491 \text{ M}$ ecetsav $\frac{0,8946}{10} \text{ g} = 89,46 \text{ mg}$ ecetsavat tartalmaz.

2. $10,0 \text{ cm}^3$ gyomornedvet $0,1025 \text{ M}$ NaOH -val titráltak metilnarancs és fenolftalein jelenlétében. A bürettaállást a NaOH oldat hozzáadása előtt és az indikátorok színváltozásakor az alábbi táblázat tartalmazza. Számítsa ki a minta szabad sósav aciditását és összaciditását.

Bürettaállítás titrálás előtt	$0,15 \text{ cm}^3$
Bürettaállítás a metilnarancs átcsapásakor	$3,80 \text{ cm}^3$
Bürettaállítás a fenolftalein átcsapásakor	$9,25 \text{ cm}^3$

A HCl semlegesítésére $3,80 \text{ cm}^3 - 0,15 \text{ cm}^3 = 3,65 \text{ cm}^3$ NaOH fogyott. A reagált NaOH móljainak száma

$$\left(\frac{3,65}{1000} \text{ dm}^3 \right) \left(\frac{0,1025 \text{ mol}}{1 \text{ dm}^3} \right) = 3,74 \cdot 10^{-4} \text{ mol},$$

amely $3,74 \cdot 10^{-4}$ mol HCl-t semlegesített. A savoldat térfogata $10,0 \text{ cm}^3 = 0,010 \text{ dm}^3$ volt. Az oldat szabad sósav aciditása

$$\left(\frac{3,74 \cdot 10^{-4} \text{ mol}}{0,010 \text{ dm}^3} \right) \left(\frac{1000 \text{ mmol}}{1 \text{ mol}} \right) = 37,4 \text{ mmol/dm}^3.$$

Az erős és gyenge savat semlegesítő NaOH térfogata $9,25 \text{ cm}^3 - 0,15 \text{ cm}^3 = 9,10 \text{ cm}^3$, benne

$$\left(\frac{9,10}{1000} \text{ dm}^3 \right) \left(\frac{0,1025 \text{ mol}}{1 \text{ dm}^3} \right) = 9,33 \cdot 10^{-4} \text{ mol NaOH volt},$$

amely $9,33 \cdot 10^{-4}$ mol összes savat semlegesített. Mivel a savoldat térfogata $0,010 \text{ dm}^3$ volt, az oldat összaciditása

$$\left(\frac{9,33 \cdot 10^{-4} \text{ mol}}{0,010 \text{ dm}^3} \right) \left(\frac{1000 \text{ mmol}}{1 \text{ mol}} \right) = 93,3 \text{ mmol/dm}^3.$$

Kérdések

Hogyan határozható meg egy vizes ecetsavoldat koncentrációja sav-bázis titrálással? (a) Írja fel a reakció egyenletét. (b) Milyen indikátorral jelezné az ekvivalenciapontot?

Hogyan határozható meg erős sav és gyenge sav koncentrációja egymás mellett?

Mit értünk a gyomornedv szabad sósav aciditásán és összaciditásán?

Mit ad meg a gyomor alap és maximális savszekréciója (a BAO és a MAO)?

Rajzolja fel az ecetsav NaOH oldattal való titrálásának görbét. Jelölje meg a jellegzetes pontokat.

Gyakorló feladatok

- 1.** $5,0 \text{ cm}^3$ ecetsavoldat semlegesítéséhez $22,5 \text{ cm}^3$ $0,250 \text{ M}$ NaOH szükséges. Számítsa ki az ecetsav molaritását és adja meg koncentrációját vegyes%-ban is. Hány mg ecetsavat tartalmaz $5,0 \text{ cm}^3$ oldat? (Az ecetsav moláris tömege $60,0 \text{ g/mol}$.)
- 2.** $5,0 \text{ cm}^3$ ecetsavoldatot $45,0 \text{ cm}^3$ vízzel $50,0 \text{ cm}^3$ -re hígítottunk. A hígított oldat $10,0 \text{ cm}^3$ -ét titrálva $5,2 \text{ cm}^3$ $0,145 \text{ M}$ NaOH fogyott. Mennyi az eredeti ecetsavoldat molaritása? Hány mg ecetsav van $5,0 \text{ cm}^3$ eredeti oldatban? (Az ecetsav moláris tömege $60,0 \text{ g/mol}$.)
- 3.** Egy sósavat és ecetsavat tartalmazó oldat $10,0 \text{ cm}^3$ -ét metilnarancs és fenolftalein jelenlétében $0,148 \text{ M}$ NaOH-val titráltunk. $8,5 \text{ cm}^3$ NaOH hozzáadásakor a metilnarancs hagymaszínű lett. A fenolftalein átsapásakor $12,5 \text{ cm}^3$ NaOH fogyott (a titrálás kezdetétől mérve). Számítsa ki a sósav és az ecetsav koncentrációját (a) mmol/dm^3 , (b) vegyes% egységben. (A HCl moláris tömege $36,5 \text{ g/mol}$. Az ecetsav moláris tömege $60,0 \text{ g/mol}$.)
- 4.** $100,0 \text{ cm}^3$ ecetsavoldatot és $200,0 \text{ cm}^3$ sósavoldatot elegyítve $300,0 \text{ cm}^3$ oldatot kaptunk, melynek $15,0 \text{ cm}^3$ -ét $0,1520 \text{ M}$ NaOH-val titráltuk (ld. előző feladat). A metilnarancs átsapásakor $8,0 \text{ cm}^3$, a fenolftalein vörös színének megjelenésekor a titrálás kezdetétől mérve $14,2 \text{ cm}^3$ NaOH fogyott. Számítsa ki a sósav és az ecetsav moláris koncentrációját az elegyben és az eredeti oldatokban. (A HCl moláris tömege $36,5 \text{ g/mol}$. Az ecetsav moláris tömege $60,0 \text{ g/mol}$.)

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. *Ecetsav koncentrációjának meghatározása*

Az ismeretlen ecetsavoldat száma:

A titrált ecetsav térfogata:

A NaOH mérőoldat koncentrációja:

	Titrálás száma		
	1.	2.	3.
Bürettaállítás titrálás előtt (cm ³)			
Bürettaállítás titrálás után (cm ³)			
NaOH fogyás (cm ³)			
NaOH átlagfogyás (cm ³)			

Számítás

10,0 cm³ számú ecetsavoldat mg ecetsavat tartalmaz.

Koncentrációja vegyes%, ill. mol/dm³.

2. feladat. Szabad sósav aciditás és összaciditás mérése gyomornedv-modellben

A gyomornedv-modell száma:

A titrált minta térfogata:

A NaOH mérőoldat koncentrációja:

	Titrálás száma	
	1.	2.
Bürettaállítás titrálás előtt (cm ³)		
Bürettaállítás a metilnarancs átcsapásakor (cm ³)		
Bürettaállítás a fenolftalein átcsapásakor (cm ³)		
Az erős savra fogyott NaOH térfogata (cm ³)		
Az összes savra fogyott NaOH térfogata (cm ³)		
Az erős savra fogyott NaOH átlagos térfogata (cm ³)		
Az összes savra fogyott NaOH átlagos térfogata (cm ³)		

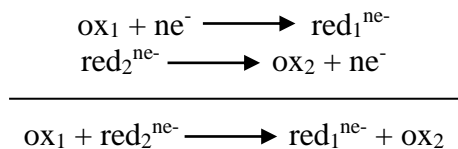
Számítás

A(z) számú gyomornedv szabad sósav aciditása:

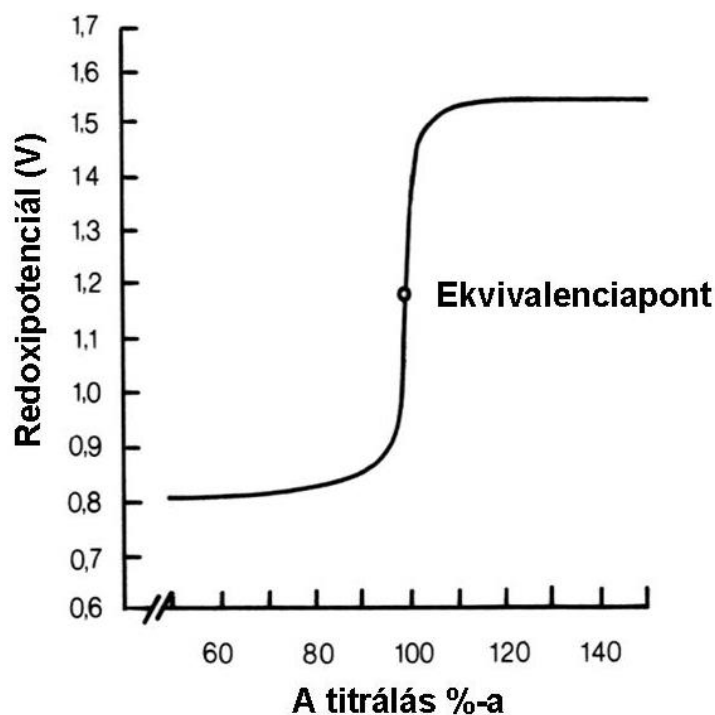
összaciditása:

Redoxititrálások

A redoxititrálás során redukálószereket oxidáló mérőoldatokkal, oxidálószereket pedig redukáló mérőoldatokkal határozzuk meg. A lejátszódó folyamat a két redoxirendszer között végbemenő elektronátadás:



Ha a két redoxirendszer standard redoxipotenciálja eléggé különbözik, akkor a folyamat egyensúlyi állandójának értéke nagy, és a nagyobb standardpotenciálú rendszer teljesen oxidálja a kisebb standardpotenciálú rendszert. A titrálás során az oldat aktuális redoxipotenciálja állandóan változik, mivel változik az oxidált és redukált formák koncentrációaránya. Az ekvivalenciapont környékén a változás ugrásszerű. A redoxipotenciál változását a 9. ábra mutatja.



9. ábra. A redoxipotenciál változása egy tipikus redoxititrálás során Redukálószer titrálása oxidálószer mérőoldatával.

Vakpróbát is kell készíteni, hogy meghatározzuk az összes kálium-dikromáttal felszabadítható jód mennyiségét, ill. az erre fogyó nátrium-tioszulfát mennyiségét. A vakpróbában és az etanolos próbában felszabaduló jód titrálásához szükséges nátrium-tioszulfát oldatok térfogatának különbségéből számítható ki az oxidált etanol mennyisége. A fenti reakciókon alapul a Widmark-féle véralkohol meghatározás. A véralkohol koncentrációját ‰-ben szokásos megadni; az 1 ‰-es oldat 1 cm³-e 1 mg alkoholt tartalmaz.

A kísérlet leírása

Mérjen zárható reagenscsőbe 0,100 cm³ ismeretlen etanol oldatot (mikropipettával) és 1,0 cm³ koncentrált H₂SO₄-ban oldott 0,25%-os K₂Cr₂O₇ oldatot (automata pipettával). Keverje össze és tartsa 80°C-on 30 percig, majd hűtse le csapvíz alatt.

Mérjen 5 cm³ desztillált vizet Erlenmeyer-lombikba, öntse hozzá a reakcióelegyet és mossa utána a reagenscsövet háromszor. Adjon hozzá 2,5 cm³ 5%-os KI oldatot (osztott pipettával). A felszabaduló jódot titrálja meg az 1. kísérletben meghatározott koncentrációjú (közelítőleg 0,01 mol/dm³-es) Na₂S₂O₃ mérőoldattal keményítő indikátor jelenlétében.

A vakpróbához mérjen Erlenmeyer-lombikba 10 cm³ desztillált vizet, 1,0 cm³ kénsavas K₂Cr₂O₇-t (automata pipettával) és 2,5 cm³ 5%-os KI oldatot. Titrálja meg a felszabadult jódot a közelítőleg 0,01 mol/dm³ Na₂S₂O₃ mérőoldattal keményítő indikátor jelenlétében.

A vakpróba és az ismeretlen mérésekor kapott fogyások különbségéből számítsa ki a vizsgált minta etanoltartalmát ‰-ben, azaz mg/cm³-ben. Az etanol moláris tömege: 46,1 g/mol.

Számítás

Legyen a Na₂S₂O₃ koncentrációja c mol/dm³ és $V = V_{\text{vak}} - V_{\text{minta}}$ a vakpróbara és a mintára fogyott Na₂S₂O₃ térfogatának különbsége. V cm³ Na₂S₂O₃-ban a Na₂S₂O₃ móljainak száma

$$\left(\frac{c \text{ mol}}{1 \text{ dm}^3}\right) \left(\frac{V}{1000} \text{ dm}^3\right) = \frac{cV}{1000} \text{ mol.}$$

Mivel az etanol és Na₂S₂O₃ molaránya az összevont reakcióegyenlet alapján 1:4, $\frac{cV}{1000}$ mol

Na₂S₂O₃ $\frac{cV}{4000}$ mol etanollal egyenértékű.

Az etanol tömege mg-ban

$$\left(\frac{cV}{4000} \text{ mol}\right) \left(\frac{46,1 \text{ g}}{1 \text{ mol}}\right) \left(\frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}\right) = 11,5 cV \text{ mg.}$$

Mivel az oldat térfogata 0,100 cm³, a minta etanolkoncentrációja:

$$c_{\text{etanol}} = \frac{11,5 cV \text{ mg}}{0,100 \text{ cm}^3} = 115 cV \text{ mg/cm}^3$$

Mintafeladatok

1. Egy ismeretlen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ oldatból $7,1 \text{ cm}^3$ fogyott az $5,0 \text{ cm}^3$ $1/600 \text{ M}$ KIO_3 oldatból feleslegben vett kálium-jodiddal és sósavval felszabadított jód titrálásakor. Számítsa ki a $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ oldat moláris koncentrációját.

$5,0 \text{ cm}^3$ $1/600 \text{ M}$ KIO_3 oldatban a móljainak száma

$$\left(\frac{1 \text{ mol}}{600 \text{ dm}^3} \right) \left(\frac{5,0}{1000} \text{ dm}^3 \right) = \frac{5}{600000} \text{ mol.}$$

Mivel 1 mol KIO_3 6 mol $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -mal egyenértékű (1. feladat), $\frac{5}{600000}$ mol KIO_3

$$\frac{5}{600000} \cdot 6 = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ reagál. A } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ oldat térfogata } 7,1 \text{ cm}^3 = 7,1 \cdot 10^{-3} \text{ dm}^3.$$

A $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ molaritása

$$c_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} = \frac{5 \cdot 10^{-5} \text{ mol}}{7,1 \cdot 10^{-3} \text{ dm}^3} = 0,007 \text{ M}$$

2. Egy oldat etanolkoncentrációjának meghatározása során $0,100 \text{ cm}^3$ mintában levő etanolt $1,0 \text{ cm}^3$ kálium-dikromát-kénsav reagenssel oxidáltak. Az oxidálószer feleslegben alkalmazták. Az oxidálószer maradékának meghatározása céljából KI hozzáadásával jódot szabadítottak fel, amelyet $0,010 \text{ M}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ oldattal titráltak. A végpont eléréséhez $3,50 \text{ cm}^3$ $0,010 \text{ M}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ hozzáadására volt szükség.

Egy független reakcióban jodidionokat oxidáltak $1,0 \text{ cm}^3$ kálium-dikromát-kénsav reagenssel. A felszabadult jód titrálásakor $5,10 \text{ cm}^3$ $0,010 \text{ M}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ oldat fogyott. Számítsa ki az etanol koncentrációját mg/cm^3 -ben.

$$V_{\text{vak}} = 5,10 \text{ cm}^3$$

$$V_{\text{minta}} = 3,50 \text{ cm}^3$$

Az etanol mennyiségének megfelelő $0,010 \text{ M}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ térfogata $V = V_{\text{vak}} - V_{\text{minta}}$

$$V = 5,10 \text{ cm}^3 - 3,50 \text{ cm}^3 = 1,60 \text{ cm}^3$$

A $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ móljainak száma $1,60 \text{ cm}^3$ $0,010 \text{ M}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ oldatban

$$\left(\frac{1,6}{1000} \text{ dm}^3 \right) \left(0,010 \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \right) = 1,6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.}$$

Mivel 1 mol etanol 4 mol $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -mal ekvivalens (2. feladat), 1 mol $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $\frac{1}{4}$ mol

etanolnak, $1,6 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ pedig $\frac{1,6 \cdot 10^{-5}}{4} \text{ mol} = 4 \cdot 10^{-6} \text{ mol}$ etanolnak felel meg.

Ennek tömege

$$\left(4 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \right) \left(\frac{46,1 \text{ g}}{1 \text{ mol}} \right) = 1,84 \cdot 10^{-4} \text{ g} = 0,184 \text{ mg.}$$

Mivel az etanol oldat térfogata $0,100 \text{ cm}^3$, koncentrációja

$$c_{\text{etanol}} = \frac{0,184 \text{ mg}}{0,100 \text{ cm}^3} = 1,84 \text{ mg/cm}^3$$

Kérdések

Mire használható az $I_2 / 2I^-$ redoxirendszer a jodometriában?

Hogyan határozható meg a jód koncentrációja? Írja fel az egyenletet.

Hogyan detektálható az ekvivalenciapont a jodometriában?

Röviden ismertesse az etanolmeghatározás elvét. Írja fel a reakcióegyenleteket.

Gyakorló feladatok

1. Egy $Na_2S_2O_3$ oldat koncentrációját jóddal határozták meg, amelyet $5,0 \text{ cm}^3$ $0,004 \text{ M}$ KIO_3 oldatból szabadítottak fel fölöslegben adott KI és HCl segítségével. A jód titrálása során $21,6 \text{ cm}^3$ $Na_2S_2O_3$ oldat hozzáadása után tűnt el a jód-keményítő komplex kék színe. Számítsa ki a $Na_2S_2O_3$ oldat molaritását.

2. Számítsa ki annak a $Na_2S_2O_3$ oldatnak a moláris koncentrációját, amelyből $11,6 \text{ cm}^3$ fogyott $10,0 \text{ mg}$ kálium-jodátból feleslegben vett kálium-jodiddal és sósavval felszabadított jód titrálásakor. (A KIO_3 moláris tömege $214,0 \text{ g/mol}$.)

3. $0,25 \text{ cm}^3$ oldatban levő etanolt kálium-dikromát-kénsav reagenssel oxidáltak (2. feladat). Az oxidálószer maradékával felszabadított jód teljes reakciójához $2,6 \text{ cm}^3$ $0,050 \text{ M}$ $Na_2S_2O_3$ volt szükséges. A vakpróbára $5,1 \text{ cm}^3$ $0,050 \text{ M}$ $Na_2S_2O_3$ fogyott. Számítsa ki az etanol koncentrációját az alábbi egységekben: (a) mg/cm^3 , (b) g/dm^3 , (c) mol/dm^3 . (Az etanol moláris tömege $46,1 \text{ g/mol}$.)

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mérőoldat pontos koncentrációjának meghatározása

A titrált KIO_3 oldat koncentrációja: $1/600 \text{ M}$
térfogata: $10,0 \text{ cm}^3$

	Titrálás száma		
	1.	2.	3.
Bürettaállítás titrálás előtt (cm^3)			
Bürettaállítás titrálás után (cm^3)			
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ fogyás (cm^3)			
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ átlagfogyás (cm^3)			

Számítás

A $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ pontos koncentrációja: mol/dm^3 .

2. feladat. *Etil-alkohol koncentrációjának meghatározása*

Az ismeretlen etanol oldat száma:

A $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mérőoldat koncentrációja az *1. feladat* alapján:

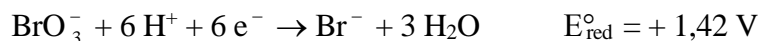
	Titrálás	
	Vak	Minta
Bürettaállítás titrálás előtt (cm^3)		
Bürettaállítás titrálás után (cm^3)		
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ fogyás (cm^3)		
Vak-minta (cm^3)		

Számítás

A(z) számú etanol oldat koncentrációja: mg/cm^3 (‰).

Bromatometriás titrálások

A bromatometriás titrálások során KBrO_3 mérőoldatot vagy közvetlen oxidációra használunk, vagy visszamérési titrálások során alkalmazzuk. A bromátion redukálószer hatására bromidionná redukálódik



Ha a minta oldata erősen savas és nagymennyiségű bromidot tartalmaz, akkor az oxidációt a KBrO_3 mérőoldatból felszabaduló bróm végzi:

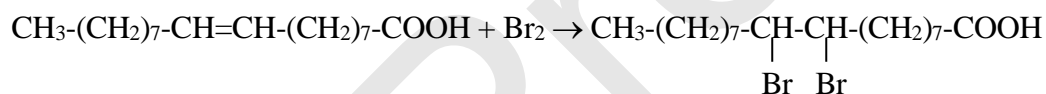


A titrálás végpontját elérve a KBrO_3 első csepp feleslege hatására felszabaduló bróm egy alkalmas redoxi-indikátor színváltozásával vagy egy azofesték irreverzibilis elszíntelenedésével érzékenyen detektálható.

A visszamérési titrálásokat elsősorban szerves vegyületek meghatározására használják. A KBrO_3 oldattal főlegben felszabadított bróm hatására a vegyület oxidációja, addíciója vagy szubsztitúciója játszódik le. A bróm feleslegét általában jodometriás módszerrel mérik vissza.

1. feladat. Zsíradsavak jódbromszámának meghatározása

A zsírok és olajok telítetlenszirsav-tartalmukkal arányos mennyiségű halogént képesek addicionálni. Az olajsav bromaddíciója pl. a következő egyenlet szerint játszódik le:



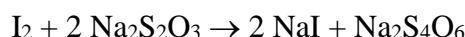
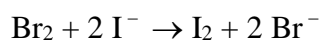
A zsíradékok telítetlenségének mértékét a jódbromszám fejezi ki, amely megadja a 100 g vizsgálati anyag által addicionált brómmal egyenértékű jód mennyiségét grammokban kifejezve.

A brómot savas közegben a bromát- és bromidionok reakciójával szabadítjuk fel:



A szubsztitúciós reakciók visszaszorítására a halogénezést sötétben, szobahőmérsékleten és meghatározott ideig kell végezni. Mivel a vizsgálati anyag vízben nem oldódik, a bromozás a vizes fázis alatt elhelyezkedő kloroformos vagy szén-tetrakloridos fázisban játszódik le. A brómfölösleget az addíció lejátszódása után a vizes fázisban jodometriásan mérjük, a reakciókeverékhez adott KI-ből szabadabbá vált jód titrálásával.

A vakpróbával a bromozásra használt összes bróm, ill. az ezzel egyenértékű jód mennyisége határozható meg:



A vakpróba és a bromozás után megmaradt brómfelesleg különbsége adja meg az addícióhoz elhasznált halogén mennyiségét, amelyet I_2 g-okban fejezünk ki 100 g vizsgálati mintára vonatkoztatva.

A kísérlet leírása

A mintaoldatok CCl_4 -dal vagy CHCl_3 -mal hígított természetes olajok vagy zsírok. A hígítás mértéke a mintát tartalmazó üvegen fel van tüntetve.

Mérje jól záró, 100 cm^3 -es üveg dugós Erlenmeyer-lombikba az alábbi anyagokat:

- 1,0 cm^3 hígított étolaj (automata pipettával),
- 4 cm^3 CCl_4 vagy CHCl_3 (mérőhengerrel),
- 10 cm^3 0,0021 M KBrO_3 (pipettával),
- 2,5 cm^3 0,8%-os KBr (mérőhengerrel) és
- 5 cm^3 1%-os HCl (mérőhengerrel).

A lombikot a HCl bemérése után megnedvesített üveg dugóval gyorsan dugja be, majd alapos összerázás után fél órán át sötét helyen hagyja állni. Közben az összerázást kétszer-háromszor ismétlje meg. Ezután pipetázzon a lombikba 2,5 cm^3 5%-os KI -t, rázza össze és a kivált jódot 0,010 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ oldattal titrálja meg keményítő indikátor jelenlétében. A tiosulfátot kis részletekben adagolja, minden adag után alaposan rázza össze a lombikot, hogy a széntetrakloridos vagy kloroformos fázisban lévő jód a vizes fázisba kerülve reakcióba lépjen.

A vakpróba (amely a vizsgálati minta helyett 1 cm^3 CCl_4 -ot vagy CHCl_3 -ot tartalmaz) összemérés után 2,5 cm^3 5% KI és keményítő indikátor hozzáadását követően azonnal titrálható anélkül, hogy sötétben tartaná.

A meghatározás befejezése után a **szerves oldószert** (CCl_4 -ot vagy CHCl_3 -ot) tartalmazó anyagot külön erre a célra szolgáló edénybe gyűjtse össze, **ne öntse a lefolyóba!**

Számítás

1 mol I_2 (moláris tömege: 253,8 g/mol) 2 mol $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -tal reagál.

1,0 dm^3 0,010 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,010 mol $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -ot tartalmaz, tehát 1,0 cm^3 -ben 0,00001 mol $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ van.

0,00001 mol $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $5 \cdot 10^{-6}$ mol I_2 -dal reagál, amelynek tömege

$$\left(5 \cdot 10^{-6} \text{ mol}\right) \left(\frac{253,8 \text{ g}}{1 \text{ mol}}\right) = 0,00127 \text{ g} = 1,27 \text{ mg}$$

1,0 cm^3 0,010 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tehát 1,27 mg I_2 -dal ekvivalens.

A vizsgált minta hígításának figyelembevételével számítsa ki, hány g jóddal egyenértékű brómot addicionál a minta 100 g-nyi mennyisége. A zsiradék kloroformos vagy széntetrakloridos oldatának sűrűsége közelítőleg 1 g/cm^3 .

Néhány zsiradék jódbromszáma	
csukamájolaj	140-170
disznózsír	50-65
lenolaj	160-190
napraforgóolaj	122-135

Mintafeladat

1,0 g olajat kloroformban oldva 200,0 cm³ oldatot kaptunk, amelyből 1,0 cm³-t használtunk az olaj jódbromszámának meghatározására. Az addíció után megmaradó bróm a jodidionokat jóddá oxidálta. A jód teljes reakciójához 5,1 cm³ 0,010 M Na₂S₂O₃ volt szükséges. A vakpróbára, melyet 1,0 cm³ CHCl₃-mal készítettünk 1,0 cm³ olaj helyett, 10,3 cm³ 0,010 M Na₂S₂O₃ fogyott. Számítsa ki az olaj jódbromszámát.

A 200-szoros hígítású olajminta 1,0 cm³-nyi részlete által addicionált brómmal egyenértékű jód

$$V = V_{\text{vak}} - V_{\text{minta}} = 10,3 \text{ cm}^3 - 5,1 \text{ cm}^3 = 5,2 \text{ cm}^3$$

0,010 M Na₂S₂O₃-tal reagál.

1,0 cm³ 0,010 M Na₂S₂O₃ 1,27 mg I₂-dal reagál (1. feladat, számítás), így 5,2 cm³ 0,010 M Na₂S₂O₃ 5,2 · 1,27 mg = 6,60 mg jóddal lép reakcióba.

1,0 cm³ 200-szoros hígítású olaj 1/200 g hígítatlan olajat tartalmaz, amely 6,60 mg = 0,0066g jóddal egyenértékű brómot addicionált. 1 g hígítatlan olaj tehát 200·0,0066 g = 1,32 g, 100 g hígítatlan olaj pedig 100· 1,32 g = 132 g jóddal egyenértékű brómot vett fel. Az olaj jódbromszáma 132.

Kérdések

Mit értünk a zsírok és olajok jódbromszámán?

Hogyan határozható meg a zsírok és olajok jódbromszáma? Írja fel az egyenleteket.

Miért kell vakpróbát is készíteni?

Gyakorló feladatok

1. 1,0 g olajat CHCl₃-ban oldva 16,0 cm³ oldatot kaptunk és 1,0 cm³ oldatot az olaj jódbromszámának meghatározására használtunk. Az addícióhoz főlegben állítottunk elő brómot 0,017 M KBrO₃-ból főlegben alkalmazott KBr és HCl segítségével. A bróm maradéka által jodidionokból felszabadított jód teljes reakciójához 3,5 cm³ 0,100 M Na₂S₂O₃ volt szükséges. A vakmintára 10,1 cm³ 0,100 M Na₂S₂O₃ fogyott. Számítsa ki az eredeti olajminta jódbromszámát.

2. 2,0 cm³ 10-szeres hígítású mintát használva meghatároztuk egy olaj jódbromszámát. A brómot főlegben állítottuk elő 10,0 cm³ 0,050 M KBrO₃ oldatból KBr és HCl hozzáadásával. A nem reagált bróm jodidionokból annyi jódot szabadított fel, amely 2,5 cm³ 0,305 M Na₂S₂O₃ oldattal lépett maradéktalanul reakcióba. A vakmintára 10,1 cm³ 0,305 M Na₂S₂O₃ fogyott. Számítsa ki az eredeti (hígítatlan) minta jódbromszámát.

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. Zsiradékok jódbromszámának meghatározása

A zsiradékminta száma:

Az eredeti minta hígításának mértéke:

A minta térfogata:

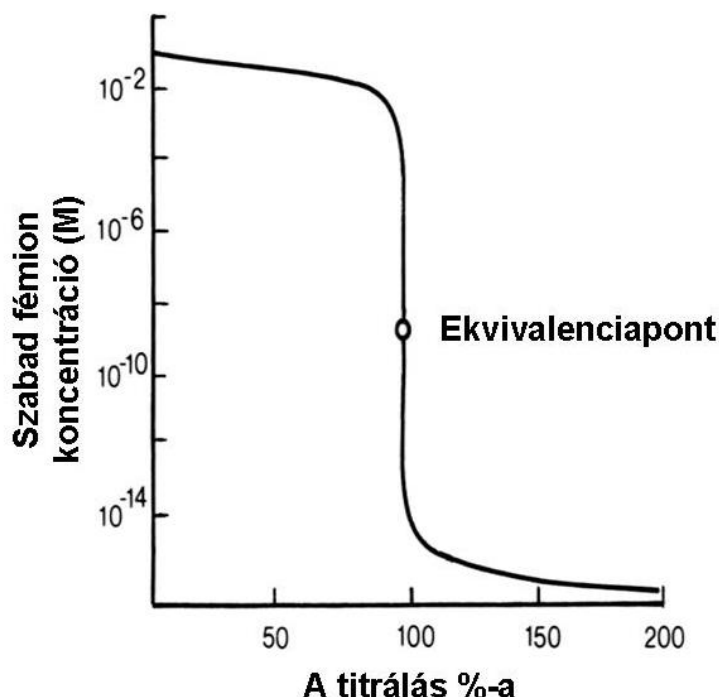
A $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mérőoldat koncentrációja:

	Titrálás	
	Vak	Minta
Bürettaállítás titrálás előtt (cm^3)		
Bürettaállítás titrálás után (cm^3)		
Mérőoldat fogyás (cm^3)		
Vak-minta (cm^3)		

Számítás

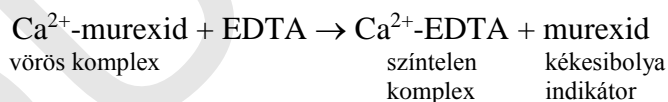
A(z) számú minta jódbromszáma:

Egy fémion EDTA-val történő titrálása során a fémion-koncentráció csökken, az ekvivalenciapont környezetében a csökkenés ugrásszerű (11. ábra).



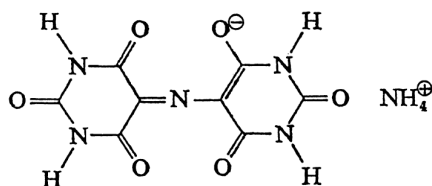
11. ábra. A szabad fémion koncentrációjának változása EDTA-val való titrálás során

A komplexometriás titrálások végpontjának észlelése ún. fémindikátorokkal történik. Ezek olyan szerves vegyületek, amelyek a mérendő fémionnal eredeti színüktől eltérő színű kelátkomplexet képeznek. A létrejövő fémion-indikátor-komplex kisebb stabilitású, mint a fémion-EDTA-komplex. Pl. a kalciumionok mennyiségi meghatározásánál a végpont észlelésére murexid indikátort használunk. Ennek működése a következő egyenlettel írható le:



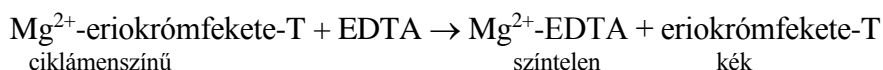
A titrálás során a Ca^{2+} feleslegben van, és ennek következtében a Ca^{2+} az EDTA-val és a murexiddel is komplexet képez. Amikor csökken a szabad Ca^{2+} koncentrációja, az EDTA megbontja a Ca^{2+} -murexid-komplexet, és így a titrálás végén a felszabadult indikátor lila színe jelenik meg. A titrálás végpontját tehát a szabad indikátor színállandósága jelzi.

A murexid indikátor egy gyenge sav sója, ammónium-purpureát:

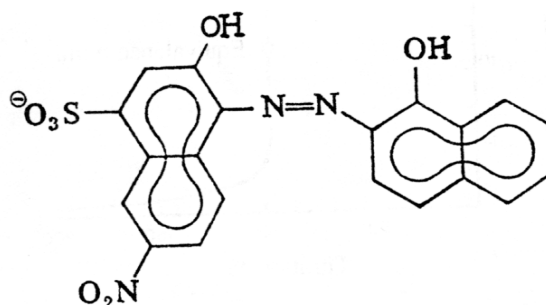


Színét a pH is befolyásolja.

Hasonló elven működik a Mg^{2+} meghatározása során használt eriokrómfekete-T indikátor is.



Az eriokrómfekete-T azofesték: 1-(1-hidroxi-2-naftilazo)-6-nitro-2-naftol-4-szulfonsav.



1. feladat. Kalciumionok meghatározása

Mérjen Erlenmeyer-lombikba $10,0 \text{ cm}^3$ ismeretlen koncentrációjú Ca^{2+} oldatot (pipettával), 2 cm^3 10%-os NaOH-t (mérőhengerrel) és 5 csepp murexid indikátort. A keletkező vörös oldatot titrálja $0,020 \text{ M}$ EDTA oldattal az indikátor lila színének megmaradásáig. Ismétlje meg a titrálást még kétszer.

Számítsa ki, hogy 1 cm^3 $0,020 \text{ M}$ EDTA oldat hány mg Ca^{2+} -nak felel meg. A Ca^{2+} és az EDTA 1:1 mólarányban reagál, a Ca moláris tömege $40,1 \text{ g/mol}$. Az átlagfogyásból adja meg, hány mg Ca^{2+} -ot tartalmaz az oldat 100 cm^3 -e. Adja meg az oldat Ca^{2+} -koncentrációját mol/dm^3 -ben is.

2. feladat. Kalcium- és magnéziumionok meghatározása egymás mellett

A Ca^{2+} és Mg^{2+} egymás melletti titrálását több tényező teszi lehetővé. Az EDTA stabilabb komplexet képez a kalciumionokkal, mint a magnéziumionokkal. Ha a pH értéke 12-nél nagyobb, csak a kalciumionok lépnek reakcióba az EDTA-val, a magnéziumionok ilyen magas pH értéken rosszul oldódó, nem disszociáló $Mg(OH)_2$ -ot alkotnak. A végpont jelzéséhez különböző indikátorokat használunk a kétféle fémion titrálása során.

Először murexid indikátor jelenlétében a kalciumionokat titráljuk pH 12 fölött. A reakcióelegy megsavanyítása után (ami a murexid indikátor elbomlását eredményezi és enyhe melegítéssel gyorsítható), eriokrómfekete-T indikátor jelenlétében a Mg^{2+} titrálható NH_3/NH_4Cl pufferben, pH 10 értéknél.

A kísérlet leírása

Mérjen Erlenmeyer-lombikba $10,0 \text{ cm}^3$ ismeretlen koncentrációjú $CaCl_2 + MgCl_2$ oldatot, 2 cm^3 10%-os NaOH-t (mérőhengerrel) és 5 csepp murexid indikátort. Az elegyet titrálja $0,020 \text{ M}$ EDTA mérőoldattal vörösből lilába történő színátcsapásig. Ezután adjon hozzá 3 cm^3 5 M HCl-t (ekkor a murexid elszíntelenedik), 10 cm^3 5%-os ammóniaoldatot (mérőhengerrel) és 5 csepp eriokrómfekete-T indikátort. Titrálja tovább a magnéziumionokat $0,020 \text{ M}$ EDTA oldattal, amíg az eriokrómfekete-T ciklámenszínből azurkék színbe csap át. Végezzen három párhuzamos titrálást.

Számítsa ki, hogy 1 cm^3 $0,020 \text{ M}$ EDTA oldat hány mg Mg^{2+} -nak felel meg. A Mg^{2+} és az EDTA 1:1 mólarányú komplexet képez, a Mg moláris tömege $24,3 \text{ g/mol}$. Adja meg az ismeretlen oldat Ca^{2+} és Mg^{2+} -tartalmát $\text{mg}/100 \text{ cm}^3$ -ben, valamint mol/dm^3 -ben.

3. feladat. A víz kalcium- és magnézium-tartalmának (összes keménységének) meghatározása

A természetes vizek keménységét elsősorban a bennük oldott kalcium- és magnéziumionok okozzák. A fenti ún. „összes keménység” két részre bontható. A változó keménységet - amely forralással megszüntethető - a fémek hidrogén-karbonátjai okozzák, míg az állandó keménység a kalcium- és magnézium egyéb, vízben oldódó sóinak (klorid, szulfát) tulajdonítható.

A víz keménységét keménységi fokokban fejezzük ki. Egy német keménységi fokú az olyan víz, amelynek 100 cm³-e 1 mg CaO-val egyenértékű Ca- és Mg-sót tartalmaz.

A vízben oldott Ca- és Mg-sók együttes meghatározása EDTA-val történik eriokrómfekete-T indikátor jelenlétében.

A kísérlet leírása

Mérjen 50,0 cm³ vizsgálandó vizet Erlenmeyer-lombikba. A hidrogén-karbonátok elbontására adjon hozzá 0,100 M HCl-t, és pedig 0,5 cm³-rel többet, mint amennyi a víz fél-lúgosságának megfelel (a víz lúgosságán az 1 dm³ víz közömbösítéséhez szükséges 1 M HCl cm³-einek számát értjük, ami megegyezik a 100 cm³ vizet semlegesítő 0,1 M HCl cm³-einek számával). Forralja a vizet a képződő szén-dioxid eltávolításáig, majd hűtse le 50°C-ra. Ezután adjon hozzá 2 cm³ NH₃/NH₄Cl puffert (összetétele: 12% NH₃, 7% NH₄Cl, pH 10) és 6 csepp eriokrómfekete-T indikátort. Titrálja 0,020 M EDTA mérőoldattal az indikátor ciklámenből azurkékbe történő színátcsapásáig. Három párhuzamos titrálást végezzen.

Számítsa ki, hogy 1 cm³ 0,020 M EDTA hány mg CaO-nak felel meg. Az EDTA átlagos fogyása alapján adja meg a víz keménységét német keménységi fokokban. A CaO moláris tömege 56,1 g/mol.

Minta feladatok

1. Egy Ca²⁺ ionokat tartalmazó oldat 10,0 cm³-ét titráltuk 0,010 M EDTA-val, murexid jelenlétében. Az indikátor színe 8,0 cm³ EDTA hozzáadása után változott ciklámen színűről kékre. (a) Hány mg Ca²⁺ egyenértékű 1 cm³ 0,010 M EDTA-val? A Ca moláris tömege 40,1 g/mol. (b) Adja meg a 100 cm³ oldatban levő Ca²⁺ tömegét. (c) Számítsa ki az oldat molaritását.

(a) 1 cm³ 0,010 M EDTA-ban

$$\left(1 \text{ cm}^3\right) \left(\frac{0,010 \text{ mol}}{1 \text{ dm}^3}\right) \left(\frac{1 \text{ dm}^3}{1000 \text{ cm}^3}\right) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol EDTA van.}$$

Mivel a Ca²⁺ és az EDTA molaránya 1:1, 1·10⁻⁵ mol EDTA 1·10⁻⁵ mol Ca²⁺-val lép reakcióba. Ennek tömege

$$\left(1 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\right) \left(\frac{40,1 \text{ g}}{1 \text{ mol}}\right) = 4,01 \cdot 10^{-4} \text{ g} = 0,401 \text{ mg}$$

(b) 8,0 cm³ 0,010 M EDTA 8,0·0,401 mg = 3,208 mg Ca²⁺-nal reagál, amelyet 10,0 cm³ oldat tartalmaz. 100 cm³ oldatban tehát 32,1 mg Ca²⁺ van.

(c) $8,0 \text{ cm}^3$ $0,010 \text{ M}$ EDTA-ban $8,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$ EDTA van, amely $8,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$ Ca^{2+} -t köt meg. Az oldat térfogata $10,0 \text{ cm}^3 = 0,010 \text{ dm}^3$, így a Ca^{2+} molaritása

$$c_{\text{Ca}^{2+}} = \frac{8,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol}}{0,010 \text{ dm}^3} = 0,008 \text{ M}$$

2. $10,0 \text{ cm}^3$ Ca^{2+} és Mg^{2+} ionokat tartalmazó, 12-nél nagyobb pH-jú oldatot $0,020 \text{ M}$ EDTA-val titrálta murexid és eriokrómfekete T indikátor jelenlétében. A murexid tartós színváltozását $7,0 \text{ cm}^3$ $0,020 \text{ M}$ EDTA hozzáadása után észlelték. Ezután a pH-t 10-re állították, és folytatták a titrálást. Az eriokrómfekete T színváltozásakor összesen $15,3 \text{ cm}^3$ EDTA-t adtak az oldathoz. Számítsa ki a Ca^{2+} és Mg^{2+} koncentrációját (a) $\text{mg}/100 \text{ cm}^3$, (b) mol/dm^3 egységben. (A Ca moláris tömege $40,1 \text{ g/mol}$. A Mg moláris tömege $24,3 \text{ g/mol}$.)

(a) 1000 cm^3 $0,020 \text{ M}$ EDTA-ban

$$\left(1 \text{ cm}^3\right) \left(\frac{0,020 \text{ mol}}{1 \text{ dm}^3}\right) \left(\frac{1 \text{ dm}^3}{1000 \text{ cm}^3}\right) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol EDTA van, amely } 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol Ca}^{2+}$$

vagy $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$ Mg^{2+} ionnal reagál. 1 cm^3 $0,020 \text{ M}$ EDTA így

$$\left(2 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\right) \left(\frac{40,1 \text{ g}}{1 \text{ mol}}\right) = 8,02 \cdot 10^{-4} \text{ g} = 0,802 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ vagy}$$

$$\left(2 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\right) \left(\frac{24,3 \text{ g}}{1 \text{ mol}}\right) = 4,86 \cdot 10^{-4} \text{ g} = 0,486 \text{ mg Mg}^{2+} \text{ ionnal képez komplexet.}$$

1 cm^3 $0,020 \text{ M}$ EDTA tehát $0,802 \text{ mg}$ Ca^{2+} vagy $0,486 \text{ mg}$ Mg^{2+} ionnal ekvivalens.

A titrálás során $7,0 \text{ cm}^3$ $0,020 \text{ M}$ EDTA reagált a Ca^{2+} ionokkal, $15,3 \text{ cm}^3$ pedig a Ca^{2+} és Mg^{2+} ionokkal. A Mg^{2+} ionok megkötésére tehát

$$15,3 \text{ cm}^3 - 7,0 \text{ cm}^3 = 8,3 \text{ cm}^3 \text{ EDTA fogyott.}$$

$10,0 \text{ cm}^3$ oldatban

$$\left(7,0 \text{ cm}^3\right) \left(\frac{0,802 \text{ mg}}{1 \text{ cm}^3}\right) = 5,614 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ ion és}$$

$$\left(8,3 \text{ cm}^3\right) \left(\frac{0,486 \text{ mg}}{\text{cm}^3}\right) = 4,034 \text{ mg Mg}^{2+} \text{ ion van.}$$

100 cm^3 oldatban tehát $56,14 \text{ mg}$ Ca^{2+} és $40,34 \text{ mg}$ Mg^{2+} van, azaz

a Ca^{2+} koncentrációja $56,1 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$,

a Mg^{2+} koncentrációja $40,3 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$.

(b) $7,0 \text{ cm}^3$ $0,020 \text{ M}$ EDTA oldatban $7 \cdot 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} = 1,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$ EDTA van, amely

$1,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$ Ca^{2+} ionnal reagál. A Ca^{2+} $10,0 \text{ cm}^3 = 0,010 \text{ dm}^3$ oldatban van oldva, moláris koncentrációja

$$c_{\text{Ca}^{2+}} = \frac{1,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol}}{0,010 \text{ dm}^3} = 0,014 \text{ mol}/\text{dm}^3.$$

8,3 cm³ 0,020 M EDTA oldatban $8,3 \cdot 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} = 1,66 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$ EDTA van, amely $1,66 \cdot 10^{-4} \text{ mol Mg}^{2+}$ ionnal reagál. Az oldat térfogata $10,0 \text{ cm}^3 = 0,010 \text{ dm}^3$, így a Mg^{2+} moláris koncentrációja

$$c_{\text{Mg}^{2+}} = \frac{1,66 \cdot 10^{-4} \text{ mol}}{0,010 \text{ dm}^3} = 0,017 \text{ mol/dm}^3.$$

3. Egy vízminta keménységét 0,020 M EDTA-val titrálva határozták meg, eriokrómfekete T jelenlétében. 50,0 cm³ mintára 7,8 cm³ 0,020 M EDTA fogyott. Adja meg a víz keménységét német keménységi fokban. (A CaO moláris tömege 56,1 g/mol.)

1 mol EDTA 1 mol Ca²⁺ + Mg²⁺ iont köt meg, amely 1 mol (56,1 g) CaO-val egyenértékű.

1 cm³ 0,020 M EDTA oldatban $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$ EDTA van (2. mintafeladat), amely $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$ CaO-nak felel meg. Ennek tömege

$$(2 \cdot 10^{-5} \text{ mol}) \left(\frac{56,1 \text{ g}}{\text{mol}} \right) = 1,12 \cdot 10^{-3} \text{ g} = 1,12 \text{ mg}$$

100 cm³ vízmintában levő Ca²⁺ és Mg²⁺ ionnal egyenértékű CaO tömege

$$(7,8 \text{ cm}^3) \left(\frac{1,12 \text{ mg}}{1 \text{ cm}^3} \right) \left(\frac{100 \text{ cm}^3}{50 \text{ cm}^3} \right) = 17,5 \text{ mg}$$

A vízminta keménysége 17,5 német keménységi fok.

Kérdések

Írja fel az EDTA szerkezeti képletét.

Milyen molarányú komplexet képez az EDTA a kalcium- ill. magnéziumionokkal?

Mi okozza a víz keménységét?

Hogyan határozható meg a víz keménysége?

Gyakorló feladatok

1. Adja meg a Ca²⁺ koncentrációját abban az oldatban, amelynek 20,0 cm³-ére 5,6 cm³ 0,050 M EDTA fogyott. Hány mg Ca²⁺ van 1 dm³ mintában? (A Ca²⁺ moláris tömege 40,1 g/mol.)

2. Egy Ca²⁺ és Mg²⁺ ionokat tartalmazó oldat 10,0 cm³-es részletét EDTA mérőoldattal titrálták a 2. feladatban leírtak szerint, azzal a különbséggel, hogy az EDTA koncentrációja 0,050 M volt. A murexid tartós színváltozása 2,6 cm³ EDTA hozzáadása után következett be. Az eriokrómfekete T átcsapásához a titrálás kezdetétől mérve 5,9 cm³ EDTA volt szükséges. (a) Számítsa ki a Ca²⁺ és Mg²⁺ molaritását. (b) Hány mg Ca²⁺ és Mg²⁺ van 100,0 cm³ oldatban?

3. 40,0 cm³ vízminta titrálásakor 6,5 cm³ 0,010 M EDTA fogyott. Adja meg a víz keménységét német keménységi fokban.

4. Adja meg a keménységét annak a vízmintának német keménységi fokban, amelyet úgy készítettek, hogy 500 mg kalcium-kloridot feloldottak 1 dm³ ionmentes vízben. A keletkezett oldat térfogata pontosan 1 dm³. (A CaCl₂ moláris tömeg 111,0 g/mol.)

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. Kalciumionok meghatározása

Az ismeretlen Ca^{2+} oldat száma:

Egy titráláshoz használt térfogat:

Az EDTA mérőoldat koncentrációja:

	Titrálás száma		
	1.	2.	3.
Bürettaállítás titrálás előtt (cm^3)			
Bürettaállítás titrálás után (cm^3)			
EDTA fogyás (cm^3)			
Átlagos fogyás (cm^3)			

Számítás

A(z) számú oldat 100 cm^3 -e

mg Ca^{2+} -ot tartalmaz.

Az oldat Ca^{2+} -koncentrációja:

mol/dm^3 .

2. feladat. Kalcium- és magnéziumionok meghatározása egymás mellett

Az ismeretlen oldat száma:

Egy titráláshoz használt oldat térfogata:

Az EDTA mérőoldat koncentrációja:

	Titrálás száma		
	1.	2.	3.
Bürettaállítás titrálás előtt (cm ³)			
Bürettaállítás a murexid átcsapásakor (cm ³)			
Bürettaállítás az eriokrómfekete-T átcsapásakor (cm ³)			
A Ca ²⁺ -ra fogyott EDTA térfogata (cm ³)			
A Ca ²⁺ meghatározás átlagos fogyása (cm ³)			
A Mg ²⁺ -ra fogyott EDTA térfogata (cm ³)			
A Mg ²⁺ meghatározás átlagos fogyása (cm ³)			

Számítás

A(z) számú ismeretlen Ca²⁺-tartalma: mg/100 cm³, mol/dm³;
Mg²⁺-tartalma: mg/100 cm³, mol/dm³.

3. feladat. A víz kalcium- és magnéziumion-tartalmának (összes keménységének) meghatározása

Az ismeretlen száma:

Titrált térfogata:

Az EDTA mérőoldat koncentrációja:

	Titrálás száma		
	1.	2.	3.
Bürettaállítás titrálás előtt (cm ³)			
Bürettaállítás titrálás után (cm ³)			
A mérőoldat fogyása (cm ³)			
Átlagos fogyás (cm ³)			

Számítás

A(z) számú vízminta keménysége

német keménységi fok.

MŰSZERES ANALÍZIS

A műszeres analízis körébe olyan módszerek tartoznak, amelyek a kémiai összetételt valamely fizikai, ill. fizikai-kémiai sajátság műszeres mérése alapján vizsgálják. A minőségi analízisben használt műszeres eljárás például a színképelemzés. A műszeres mérések alkalmazása azonban sokkal elterjedtebb a mennyiségi analízisben.

A műszeres analízis felhasználható kémiai változások (pl. titrálási folyamat végpontjának) jelzésére, illetve a vizsgált anyag összetételének megállapítására fizikai-kémiai tulajdonságai alapján annak megváltoztatása nélkül. Optikai sajátságok mérésén alapszik a fotometria, polarimetria, nefelometria, turbidimetria stb., elektromos sajátságokat használ fel az elektrometria, konduktometria, elektrogravimetria, polarográfia stb.. A termikus analízis a hőeffektusokból következtet az összetételre.

A műszeres analízis módszerei általában pontosak, gyorsak, szelektívek és automatizálhatók, ezért az orvosi laboratóriumokban is gyakran alkalmazzák őket.

SPEKTROFOTOMETRIA

A fotometria a vegyületek fényelnyelő képességén (fényabszorpcióján) alapszik. A különböző vegyületek a fehér fényből más és más hullámhosszú sugarakat nyelnek el. Az abszorpció hullámhossz szerinti eloszlása (az abszorpciós spektrum) jellemző lehet az egyes vegyületekre; az abszorpció mértéke pedig az abszorbeáló anyag koncentrációjától függ. A fotometria tehát minőségi és mennyiségi elemzésre egyaránt alkalmas.

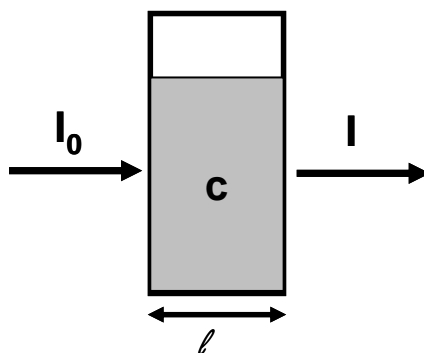
A kvantitatív elemzés során az adott koncentrációjú, vizsgálandó anyagon (oldaton) áthaladó fény intenzitásváltozását kolorimetria, fotometria, ill. spektrofotometria segítségével mérhetjük.

A spektrofotometriában szigorúan monokromatikus fényt használunk, annak abszorpciójából határozzuk meg az ismeretlen oldat/anyag koncentrációját.

Az *abszorbancia* (A) az anyag fényelnyelő képességének a mértéke. Extinkciónak (E) vagy *optikai sűrűségnek* (OD) is nevezzük. Értéke a beeső fény intenzitása (I_0) és az áteresztett fény intenzitása (I) hányadosának a logaritmusának (12. ábra).

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

Értéke 0 (teljes fényátbocsájtás) és ∞ (teljes fényelnyelés) között lehet.



12. ábra A c koncentrációjú fényelnyelő anyag abszorbanciája

A transzmittancia (T) a fényáteresztő képesség százalékban kifejezett értéke:

$$T = \frac{I}{I_0} \cdot 100$$

Értéke 100%-tól 0%-ig terjed.

A *spektrofotometria alaptörvénye* a Bouguer-Lambert-Beer (BLB)-törvény az optikailag egynemű, a fényt részben elnyelő anyag (oldat) esetében a következő matematikai összefüggéssel fejezhető ki:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

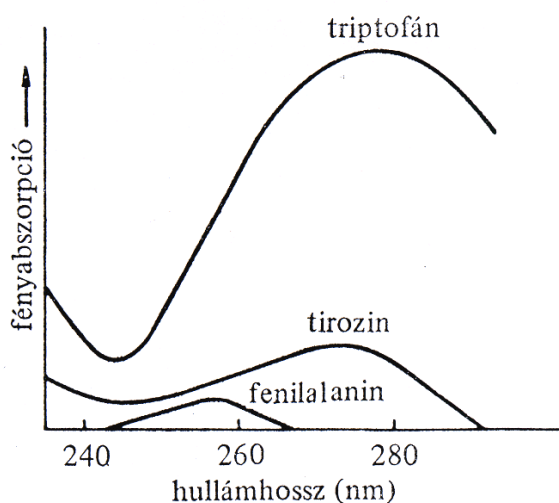
ahol A = az oldat abszorbanciája, c = az oldat koncentrációja, ε = abszorpciós koefficiens vagy specifikus abszorbancia és l = az oldat rétegvastagsága cm-ben (vö. 12. ábra).

A *specifikus abszorbancia* vagy abszorpciós koefficiens (ε) az egységnyi koncentrációjú és rétegvastagságú oldat fényelnyelő képessége. Az $\varepsilon_{1\text{cm}}^{1\%}$ nem más, mint az 1 g/100 cm³ koncentrációjú oldat 1 cm rétegvastagságban mutatott abszorbanciája. Ha az oldat koncentrációját 1 mol/dm³-ben adjuk meg, akkor moláris abszorpciós koefficiensről beszélünk.

A BLB-törvény szerint az abszorbancia ugyanazon anyag esetén csak az oldat koncentrációjától és rétegvastagságától függően változik, és állandó rétegvastagság mellett az oldat koncentrációjával egyenesen arányos. Ezért állandó rétegvastagság mellett a koncentráció az abszorbancia mérésével határozható meg. A BLB-törvény csak híg oldatok szigorúan monokromatikus fényel történő vizsgálatakor alkalmazható.

A biokémiai rendszerek vizsgálatakor elsősorban az ultraibolya és a látható színtartományban végzett spektrofotometriás mérések terjedtek el. Viszonylag egyszerű berendezést igényel a látható színtartományban (400-800 nm) történő fotometrázás. Ebben a tartományban a színes oldatok vizsgálhatók. Nagyon sok vegyület színes vagy kémiai reakcióval színes vegyületté alakítható át.

A nukleotidoknak és származékaiknak, valamint az aromás gyűrűt tartalmazó aminosavaknak (tirozin, triptofán, fenilalanin) az ultraibolya tartományban (200-350 nm) jellemző abszorpciós maximuma van. A fehérjék koncentrációja tirozin és triptofán tartalmuk révén pl. 280 nm-nél spektrofotometriásan meghatározható (13. ábra). A nukleotidok koncentrációját 260 nm-en lehet hasonló módon meghatározni.

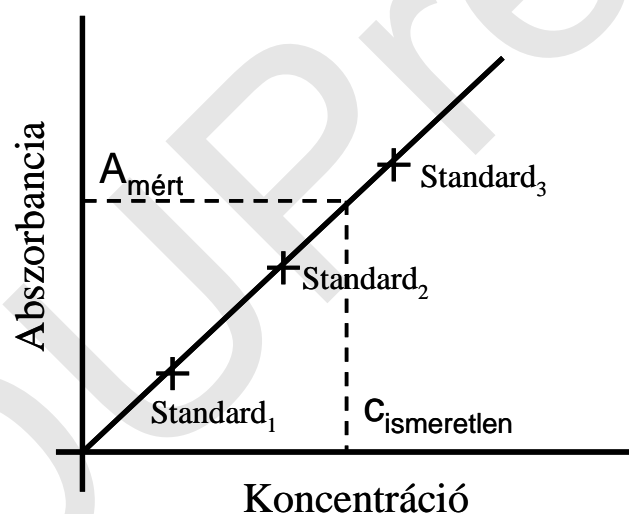


13. ábra. Aromás aminosavak abszorpciós spektruma

Ha egy anyag koncentrációját fotometriásan kívánjuk megmérni, ismernünk kell azt a hullámhossz értéket, ahol a meghatározandó anyag elnyelési maximuma van, mert a mérés itt válik a legérzékenyebbé. Színes oldatok esetén az oldat színe az abszorbeált fényel komplementer színű. Az elnyelési maximum pontos meghatározása az abszorpciós spektrum, vagyis az abszorbancia értékének a hullámhossz függvényében való mérése alapján történik (13. ábra).

A gyakorlatban valamely oldat abszorbanciájának meghatározásakor *relatív abszorbanciát* mérünk. Ekkor a vizsgálandó anyag fényelnyelését az ún. *reagensvakkal* szemben határozzuk meg, azaz ennek a transzmittanciáját tekintjük 100 %-nak. (A reagensvak a vizsgálandó anyag kivételével a méréskor használt összes komponenst tartalmazza.) Ily módon küszöböljük ki az oldószer, a reagens és a vizsgálandó anyag nem-specifikus fényelnyeléséből származó hibát. (A gyakorlatban az is elterjedt eljárás, hogy a készülék "nullázását" desztillált vízzel végezzük és a vakként használt oldat abszorbanciaértékét levonjuk a vizsgálandó oldat abszorbanciaértékéből, így is megkapjuk a vizsgálandó anyagra jellemző relatív abszorbanciaértéket.)

A BLB-törvény érvényességét az adott koncentrációtartományban *kalibrációs görbe* felvételével ellenőrizzük. A kalibrációs görbe a vizsgálandó anyag elnyelési maximumának hullámhosszán mért abszorbancia és koncentráció közötti összefüggést tünteti fel, amely a BLB-törvény érvényessége esetén egyenest ad. A kalibrációs görbe segítségével az ismeretlen oldat koncentrációja könnyen megállapítható (14. ábra).



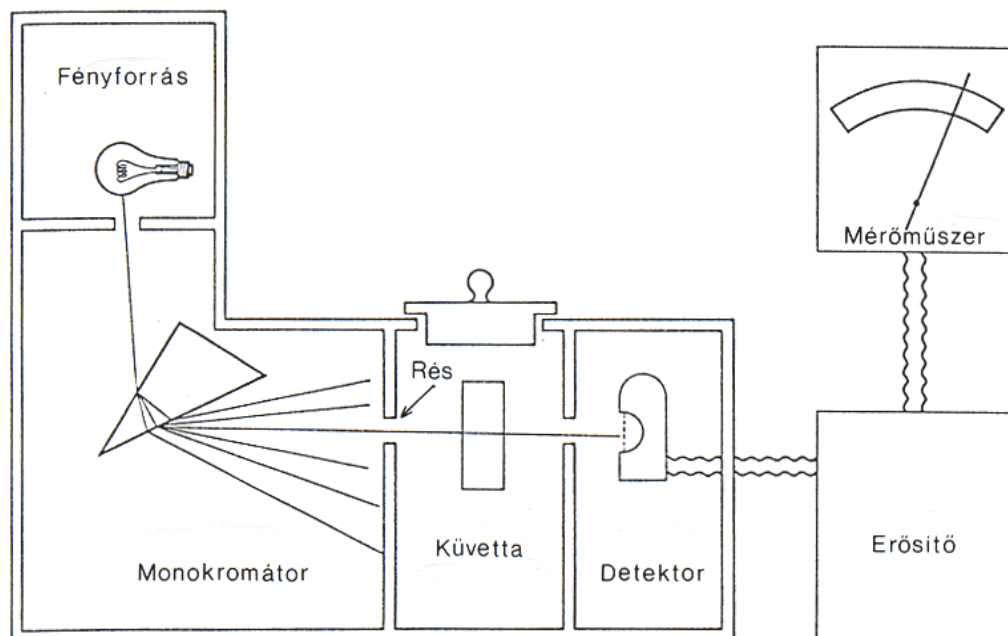
14. ábra. Ismeretlen koncentráció megállapítása kalibrációs görbe alapján

Stabil, jó minőségű készülék használatakor elég a kalibrációs görbét időnként ellenőrizni. A BLB-törvény érvényessége esetén, az abszorbancia és a koncentráció közötti egyenes arányosságot felhasználva, az ismeretlen minta koncentrációját valamely standard (ismert pontos koncentrációjú) oldat abszorbanciája ismeretében számolhatjuk ki:

$$\frac{C_{minta}}{C_{standard}} = \frac{A_{minta}}{A_{standard}}; \quad \text{és ebből} \quad C_{minta} = \frac{A_{minta}}{A_{standard}} \cdot C_{standard}$$

A spektrofotométer

A fotometria alapműszere a spektrofotométer. Elvi felépítése a 15. ábrán látható. A *fényforrás* kelti a kívánt hullámhossztartományba eső elektromágneses sugárzást. Ultraibolya fény előállítására hidrogén vagy deutérium kisülési lámpa, látható fény előállítására pedig volfrámizzó használható. Az elektromágneses sugárzás a *monokromátoron* halad keresztül, amely a fényt hullámhossz szerint összetevőire bontja. Monokromátorként kvarcprizmát vagy optikai rácsot használnak.



15. ábra A spektrofotométer fő szerkezeti egységei

A monokromatikus fény a *résen* keresztül a mintára jut (ún. egysugaras fotométerek), vagy pedig egy prizma segítségével két sugárnyalábra bomlik, ebből az egyik a mintán halad keresztül, a másik pedig a vonatkoztatási rendszeren (ún. kétsugaras fotométerek). A résnek a spektrofotométerek felbontóképessége szempontjából van jelentősége. A résszélesség csökkentésével a feloldóképesség növekszik ugyan, de a fényintenzitás, és így a detektorban keletkező jel ezzel párhuzamosan csökken. A mintaoldat az ún. *küvetta*ban található. A küvetta átlátszó, pontosan meghatározott méretű edénykék, amelyek ultraibolya mérésekhez kvarcból, látható spektrumban történő mérésekhez üvegből, vagy átlátszó műanyagból készülnek. A mintán áthaladó monokromatikus fénynyaláb a *detektorra* (fényelem vagy fotocella) jut, amelyben intenzitásával arányos elektromos jelet hoz létre. A jelet elektronikus erősítés után a műszer skáláján, illetve digitális kijelzőn leolvasható, vagy a regisztráló egységen egy diagrampapíron, mint kirajzolt jel jelenik meg (ún. regisztráló fotométerek). A kijelző – választható módon – abszorbancia (A), transzmittancia (T), vagy megfelelő faktorial történő szorzás útján nyert koncentráció (c) értéket mutat.

A gyakorlaton használt Spectronic 20 fotométer (16. ábra) a látható tartományban mérő egysugaras fotométer. Bekapcsoláskor a készülék az ún. sötétáramot automatikusan kompenzálja és a kijelzőn 0 (zéró) abszorbancia érték jelenik meg. Fotometráláshoz a vizsgálandó minta fényabszorpciójának ismerete, illetve az ennek megfelelő hullámhossz beállítása szükséges. Ezt követően a fény útjába helyezzük a vakpróbát és transzmittanciáját 100 %-ra állítjuk a „0 ABS” (zéró abszorbancia) gomb/érzékelő megnyomásával (az abszorbancia értéke ekkor 0). A vakpróbára történő „nullázás” után a mintát helyezzük a fény útjába és leolvassuk a kijelzőn az abszorbancia értékét.



16. ábra. A Spectronic 20 spektrofotométer felülnézeti képe

A Spectronic 20 spektrofotométer kezelési utasítása

1. Kapcsolja be a készülék hátlapján lévő főkapcsolót.
2. Állítsa be a kívánt hullámhosszat a nm gombok nyomásával növelve (nm ▲), vagy csökkentve (nm ▼) a kijelzett értéket, amíg meg nem jelenik a kijelzőn a kívánt hullámhossz.
3. Válassza ki a mérési módot az A/T/C gomb ismételt megnyomásával. Az, A, T, illetve c megjelenése mutatja, hogy a mérések eredményét *abszorbanciában, transzmittanciában* vagy az abszorbanciából *számított koncentráció egységeiben* kapjuk meg. Leggyakrabban az abszorbanciát választjuk.
4. Helyezze be a vakpróbát (színreakció elegy meghatározandó minta nélkül) a küvettaháza. A küvetta csak kb $\frac{3}{4}$ részig töltsen meg és a külső oldalát gondosan törölje szárazra. A fény útját nyíl mutatja.
5. Zárja le a küvettaházat.
6. Nyomja meg a „0 ABS” (zéro abszorbancia) gombot addig, amíg a kijelzőn a 0 érték meg nem jelenik (ekkor a vakpróba abszorbanciája 0, transzmittanciája 100 %).
7. Vegye ki a vakpróbát és helyezze be a mintát. A küvetta megtöltése a vakpróbához hasonlóan történik.
8. Olvassa le a minta abszorbanciáját. A küvettaház lezárásakor a kijelzőn megjelenik az abszorbancia értéke.

Figyelmeztetés! A küvetta ne töltsen tele a vizsgálandó oldattal, hogy a küvetta tartó szennyeződését elkerülje. A küvetta tartóba csak gondosan letörölt küvetta helyezzen és csak az opálos (vagy bordázott) oldalán fogja meg!

Sorozatmérésekhez rendszerint ugyanazt a küvetta használjuk. Ebben az esetben célszerű a mintákat növekvő színintenzitás sorrendjében fotometrálni. Kiöntés után a küvetta nyílásával lefelé papírvattára helyezve leitatjuk, nagyon pontos mérésekhez kevés mintával át is öblítjük a fotometrálás előtt.

A laboratóriumi munka végén, illetve a mérések befejezésekor, a spektrofotométert ki kell kapcsolni, azonban kerüljük az ismételt ki- és bekapcsolásokat.

Anorganikus foszfát fotometriás meghatározása

Az anorganikus foszfát (P_i) fotometriás meghatározása a klinikai diagnosztikában (szérum, vizelet) és a biokémiai kutatásokban egyaránt fontos.

A P_i meghatározás elve, hogy az ammónium-molibdenát az anorganikus foszfáttal savas közegben sárga színű foszfor-molibdénsavat képez, amely redukálószerekkel molibdénkékké redukálható. A Taussky-Shorr eljárásnál ugyanazon oldat tartalmazza az ammónium-molibdenátot, a kénsavat és a redukálószerként alkalmazott vas(II)-iont (ez az ún. P-reagens*). A keletkező kék szín erőssége egyenesen arányos a P_i -tartalommal, kifejlődéséhez 2 perc elegendő és a szín 30 percig stabil marad. A fényelnyelés maximuma 720 nm-en mérhető.

1. feladat. Kalibrációs görbe felvétele

Mérje kémcsövekbe a táblázatban feltüntetett oldatokat a megadott mennyiségben!

Bemérendő anyag (cm^3)	Reagensvak	Standard 1	Standard 2	Standard 3
P_i törzsolgat ($10 \mu\text{g}$ foszfor/ cm^3)	-	0,25	0,5	1,0
H_2O	2,0	1,75	1,5	1,0
P-reagens	1,4	1,4	1,4	1,4

A keletkezett kék színt kb. 5-10 perc múlva fotometrálja 1 cm rétegvastagságú küvettában 720 nm-nél. A standard oldatok fotometrlását "reagensvakkal" szemben végezze.

A nyert abszorbanciaértékeket ábrázolja grafikusán: az abszcisszán a mérőközegbe bevitt foszfát *foszfortartalmát* μg -ban, az ordinátán pedig a hozzátartozó abszorbanciaértéket tüntesse fel. Ha a foszfáttartalmat μmol -ban akarja kifejezni, akkor a μg -ban kifejezett P-értéket a foszfor relatív atomtömegével 31-gyel kell osztani!

2. feladat. Ismeretlen oldat foszfát koncentrációjának meghatározása

Pipettázza kémcsőbe a következő oldatokat:

1,0 cm^3 ismeretlen koncentrációjú P_i oldat,

1,0 cm^3 desztillált víz,

1,4 cm^3 P-reagens.

A kék szín kialakulása után fotometrálja "reagensvakkal" szemben 720 nm-en. A kalibrációs görbe segítségével határozza meg a minta anorganikus foszfáttartalmát. Számítsa ki az oldat foszfát koncentrációját mmol/dm^3 (mM) egységekben.

* A P-reagens készítése: 5 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, vagy 5 g Mohr-só [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$] kristályokat oldjon fel kb. 70 cm^3 vízben, adjon hozzá 10 cm^3 5 M H_2SO_4 -ben oldott, 10%-os $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ oldatot és az egészet töltsse fel 100 cm^3 -re mérőlombikban. A fényre érzékeny P-reagenst barna üvegben, hűtőszekrényben kell tárolni.

Mintafeladat

Számítsd ki egy humán szérum P_i koncentrációját mmol/dm^3 -ben, ha a mért P_i tartalom $25 \mu\text{g/cm}^3$ és a szérum 2,5-szörös hígítású! A mérési mód teljes mértékben megegyezik a fent leírtakkal. A szérum P_i koncentrációja alacsony, normális vagy magas (a normál koncentráció-tartomány: $1,0\text{-}1,5 \text{ mmol/dm}^3$)?

$$c_{\text{szérum } P_i} = 25 \mu\text{g/cm}^3$$

$$V = 1 \text{ cm}^3 = 10 \times 10^{-4} \text{ dm}^3$$

Hígítás = 2,5-szörös

A szérum P_i tartalma: $25 \mu\text{g/cm}^3 \times 2,5 = 62,5 \mu\text{g/cm}^3$.

$$n = \frac{m_{P_i}}{M_p} = \frac{6,25 \times 10^{-5} \text{ g}}{31 \text{ g/mol}} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol}$$

$$C_{P_i} = \frac{n_{P_i}}{V} = \frac{2 \times 10^{-6} \text{ mol}}{10 \times 10^{-4} \text{ dm}^3} = 2 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3 = 2 \text{ mmol/dm}^3 \text{ (mM)}$$

A humán szérum P_i koncentrációja a normál értéknél magasabb.

Kérdések

Mi az abszorbancia (képlettel)?

Mi a transzmittancia (képlettel)?

Adja meg a fotometria alaptörvényét!

Mi az abszorpciós spektrum (példa vázlatos rajzzal)?

Mik a spektrofotométer főbb részei (a fény útjának megfelelő sorrendben)?

Ismertesse az anorganikus foszfát Taussky-Shorr féle meghatározásának elvi alapjait!

Gyakorló feladat

Egy P_i tartalmú oldat abszorbanciája 720 nm -en 1 cm -es küvettában mérve $0,2$. Ha az ϵ értéke $10 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, mennyi az oldat P_i koncentrációja?

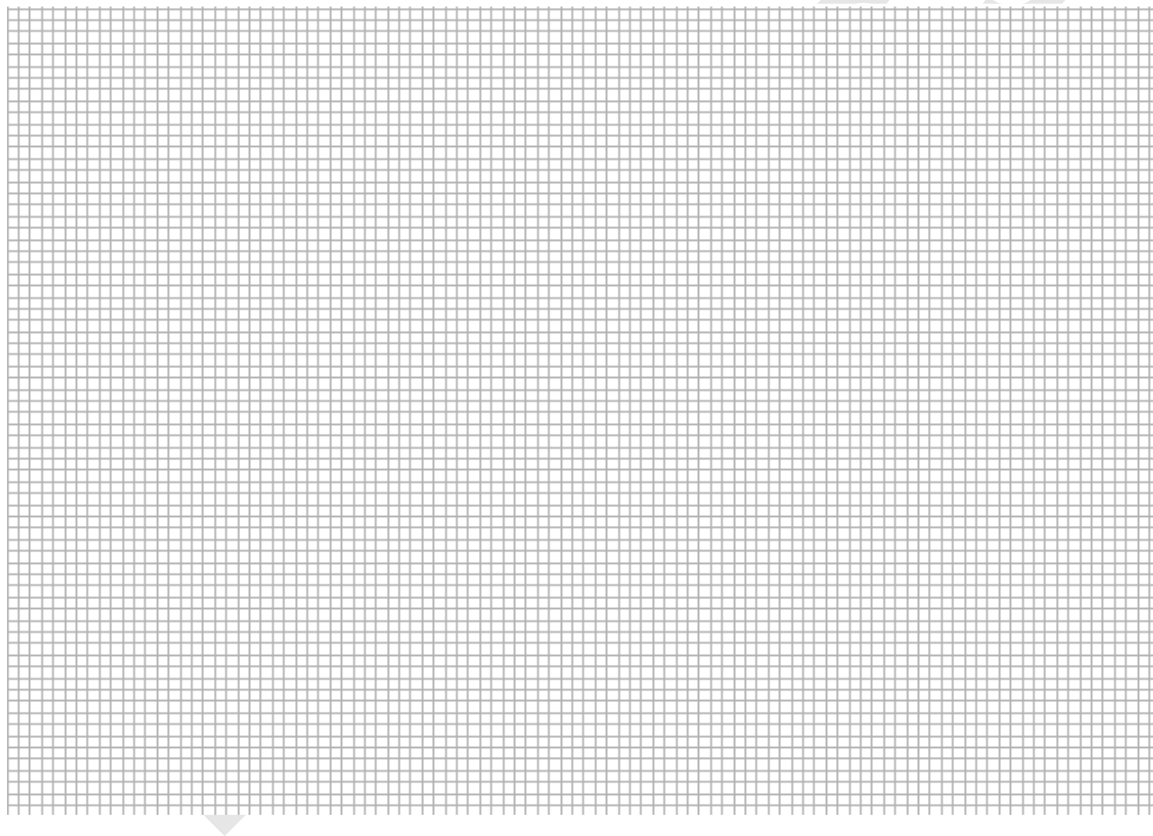
Gyakorlat

Dátum:

1. és 2. feladat. *Kalibrációs görbe felvétele és ismeretlen oldat anorganikus foszfát koncentrációjának meghatározása*

	Standard 1	Standard 2	Standard 3 számú ismeretlen
A minta P tartalma [μg]	2,5	5	10	
Abszorbancia				

Kalibrációs görbe



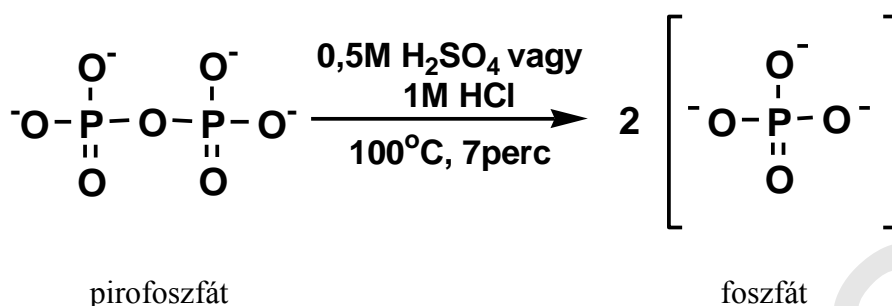
Számítás

..... számú ismeretlen oldat foszfáttartalma

$\mu\text{gP}/\text{cm}^3$, ami
 mmol/dm^3 foszfátnak felel meg.

Szerves foszfátvegyületek savlabil foszfáttartalmának meghatározása

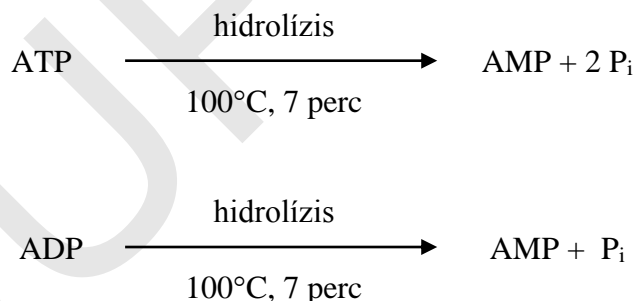
A pirofoszfát savanhidrid kötést tartalmaz, amely savval főzve hidrolizál és anorganikus foszfát keletkezik:



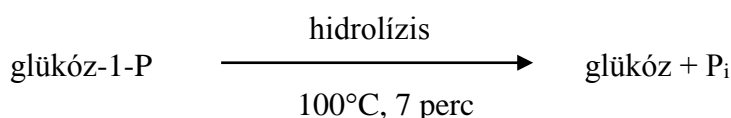
Ugyanakkor a legtöbb foszfát-észter kötés savas közegben nem hidrolizál (kivétel pl. a glikozidos hidroxil csoport észterkötése). A fentiek alapján a biológiai fontosságú pirofoszfát vegyületek pl. nukleotidok mennyisége meghatározható a savas hidrolízissel keletkező P_i (savlabil foszfát) mennyiségéből.

Savlabil foszfátnak az 1 M egyértékű ásványi savban 100°C -on 7 perc alatt hidrolizálódó foszfátot nevezzük (P_7). A Taussky-Shorr-eljárással a hidrolízissel felszabadított anorganikus foszfát meghatározható (az eljárás a szervesen kötött foszfátot nem méri).

Az ATP három foszfátjából kettő, az ADP két foszfátjából pedig egy szabadítható fel anorganikus foszfát (P_i) formájában savas hidrolízissel:



A glükóz-1-foszfát esetében a glükóz 1-es szénatomján lévő glikozid-kötésű foszfátcsoport savlabil:



1. feladat. ATP, ADP és G-1-P savlabil foszfáttartalmának meghatározása

Határozza meg ismeretlen koncentrációjú ATP, ADP és G-1-P oldatok P_7 -tartalmát az alábbi táblázat alapján. Számolja ki az oldatok koncentrációját. (A moláris tömegek ATP = 551 g/mol, ADP = 472 g/mol, G-1-P = 336 g/mol.)

Két kémcsőbe mérje össze a következő oldatokat és végezze el a hidrolízist:

Vak minta	P ₇ meghatározás
2,0 cm ³ H ₂ O ----- <i>hidrolízis 100 °C, 7 perc</i> 1,4 cm ³ P-reagens ----- össztérfogat 3,4 cm ³	1,0 cm ³ vizsgálandó oldat 1,0 cm ³ 2,25 M H ₂ SO ₄ ----- <i>hidrolízis 100 °C, 7 perc</i> 1,4 cm ³ P-reagens ----- össztérfogat 3,4 cm ³

Fotometrálja a mintákat állás után (5 perc szobahőmérsékleten) 720 nm-en, reagens-
vakkal (2,0 cm³ H₂O + 1,4 cm³ P-reagens) szemben.

Az anorganikus foszfát meghatározás során készített kalibrációs görbe alapján határozza meg az abszorbanciának megfelelő P-tartalmat µg-ban, és a P₇-tartalom alapján számítsa ki az ismeretlen oldatok koncentrációját µmol/cm³ és mg/cm³ egységekben.

Mintafeladat

Számítsa ki egy oldat ATP koncentrációját (mg/cm³-ben) a kalibrációs görbéről leolvasott P₇ tartalma (25,2 µg/cm³) alapján! Az ATP molekulatömege 551 g/mol.

A P₇ tartalmat a P_i kalibrációs görbe alapján határozzuk meg. Mivel az ATP három foszfátja közül kettő P₇ formájában savas hidrolízissel felszabadítható, ezért a számítás a következő:

$$n_{P_7} = \frac{m_P}{M_P} = \frac{25,2 \mu\text{g}/\text{cm}^3}{31 \mu\text{g}/\mu\text{mol}} = 0,8 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$$

$$n_{\text{ATP}} = \frac{n_{P_7}}{2} = 0,4 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$$

$$m_{\text{ATP}} = n_{\text{ATP}} \times M_{\text{ATP}} = 0,4 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times 551 \mu\text{g}/\mu\text{mol} = 220,4 \mu\text{g} = 0,22 \text{mg}/\text{cm}^3$$

Kérdések

Mit nevezünk savlabil foszfátnak?

Írja fel az ATP képletét, az anhidridkötések megjelölésével. Írja fel az ATP hidrolízisét sav jelenlétében.

Írja fel a glükóz 1-foszfát képletét és hidrolízisének egyenletét.

Gyakorló feladat

Számítsa ki egy ismeretlen glükóz-1-foszfát oldat koncentrációját mM-ban, ha a P₇ tartalom 16,5 µg/cm³. A G-1-P molekulatömege 336 g/mol.

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. ATP, ADP és G-1-P savlabil foszfáttartalmának meghatározása

Töltse ki a következő táblázatot az „Anorganikus foszfát fotometriás meghatározása” című gyakorlaton készített kalibrációs görbe segítségével.

Minta	Ismeretlen minta száma	Abszorbancia hidrolízis után	P ₇ (μg P)
ATP			
ADP			
G-1-P			

(a) Az ATP savlabil foszfáttartalmának meghatározása

Számítás

..... számú ismeretlen ATP-oldat koncentrációja: $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$, azaz 1 cm^3 minta mg ATP-t tartalmaz.

(b) ADP savlabil foszfáttartalmának meghatározása

Számítás

..... számú ismeretlen ADP-oldat koncentrációja: $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$, azaz 1 cm^3 minta mg ADP-t tartalmaz.

(c) Glükóz-1-foszfát (G-1-P) savlabil foszfáttartalmának meghatározása

Számítás

..... számú ismeretlen G-1-P-oldat koncentrációja: $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$, azaz 1 cm^3 minta mg G-1-P-t tartalmaz.

Vastartalom fotometriás meghatározása

A vastartalom fotometriás meghatározása vérszérumból és vizeletből igen elterjedt klinikai-kémiai módszer. Segítségével a vasfelszívódás, illetve raktározás zavaraira lehet következtetni. A szervezet vastartalma 4-5 g. A vas a hemoglobin, mioglobin és több enzim (citokrómok, peroxidáz, kataláz stb.) fontos alkotórésze.

A szérumban a vas egy transzportfehérjéhez, a transferrinhez kötött állapotban fordul elő. Ezt a vasmennyiséget nevezzük *szérumvasnak*.

Fiziológiás körülmények között a vérben lévő transferrin kb. 1/3 része van vassal telítve. Azt a vasmennyiséget, amely még a transferrinhez kötődhet, *telítetlen vaskötő kapacitásnak* nevezzük. A transferrin *teljes vaskötő képességét* pedig teljes vaskötő kapacitásnak (TVK) nevezzük. A TVK azt az összes vasmennyiséget jelenti, amelyet 1 dm³ szérum képes megkötni. Ha a TVK értékéből levonjuk a szérumvas értékét, a telítetlen vaskötő-kapacitást kapjuk meg. A szérum vastartalmának és vaskötő kapacitásának normálértékei a következők:

Koncentráció (μmol/dm ³)	Nő	Férfi
Szérumvas	18±6	20±5
Teljes vaskötő kapacitás	54±9	60±10
Telítetlen vaskötő kapacitás	36±10	40±10

A szérumvas normálértéke a nőkben kb. 10%-al alacsonyabb, mint a férfiakban.

Vashiányos állapotban: vérezés, vasszegény táplálkozás, vasfelszívódási zavarok következtében (pl. a gyomor műtéti eltávolítása után) először a *TVK értéke nő*, majd emellett a *szérumvas csökkenése* is bekövetkezik. A vashiányos állapotot jól felszívódó vas(II)-komplexekkel lehet hatásosan gyógyítani.

A fotometriás vasmeghatározás alapja, hogy a vas(II)-ionok bato-fenantrolin-diszulfonáttal érzékeny színreakciót adnak, amely kvantitatív meghatározásra is alkalmas. A mérés elvégzésénél különösen ügyelni kell az üvegeszközök tisztaságára. Az üvegfelülethez kötődött vasionok csak többnapos sósav-oldatban történő áztatással távolíthatók el. Ezért célszerű a meghatározást műanyag csövekben végezni.

1. feladat. Kalibrációs görbe készítése vastartalom méréséhez

Mérje műanyag csövekbe a táblázatban feltüntetett anyagokat a megadott sorrendben!

Bemérendő anyag	Reagensvak	Standard 1	Standard 2	Standard 3
Aszkorbinsav (mikrospatulahegynyi)	≈5 mg	≈5 mg	≈5 mg	≈5 mg
Deszt.víz	1 cm ³	0,8 cm ³	0,5 cm ³	□
Fe-törzsoldat** (1μg/cm ³)	-	0,2 cm ³	0,5 cm ³	1 cm ³
Reagens*	1 cm ³	1 cm ³	1 cm ³	1 cm ³

*Reagens: 0,68 nmol/dm³ bato-fenantrolin-diszulfonsav-Na₂ 0,4 M nátrium-foszfát pufferben (pH 5,5).

**Fe-törzsoldat: 860 mg Fe(NH₄)(SO₄)₂·12 H₂O oldva 16 cm³ 6 M HCl-ben és desztillált vízzel 1000 cm³-re feltöltve. Ebből készíthető 100-szoros hígítással 1 μg/cm³ koncentrációjú Fe-törzsoldat.

Az aszkorbinsav bemérése mikrospatulával történik. Hozzávetőlegesen 5 mg aszkorbinsav mennyisége megegyezik egy spatulahegynyi bemért anyag mennyiségével. Összerázás után hagyja állni a kémcsöveket szobahőmérsékleten 10 percig. Ezalatt a vas(III)-ionokat az aszkorbinsav vas(II)-ionokká redukálja; ezek a reagenssel vörös színű komplexet alkotnak. Ezután fotometrálja az oldatokat 1 cm rétegvastagságú küvettában 535 nm hullámhosszon reagensvakkal szemben.

Megjegyzés: Az Fe-törzsoldat bemérése előtt csak halvány rózsaszínű lehet a csövek tartalma. Ha valamelyik cső tartalma pirosabbá válik (vasszenyeződés miatt) új csőben új reakcióközeget kell összemérni.

Készítsen kalibrációs görbét: az ordinátán az abszorbanciát, az abszcisszán az Fe mennyiségét tüntesse fel μg -ban.

2. feladat. Ismeretlen oldat vastartalmának meghatározása

Pipetázza két műanyag kémcsőbe a táblázatban megadott anyagokat az adott sorrendben. (Az aszkorbinsav kiméréséhez használjon egy kisméretű spatulát, egy spatula hegynyi anyag kb. 5 mg-nak felel meg.)

Bemért anyag	Reagens vak	Ismetlen minta
Aszkorbinsav *	kb. 5 mg	kb. 5 mg
Desztillált víz	1,0 cm ³	-
Reagens**	1,0 cm ³	1,0 cm ³
Ismeretlen minta	-	1,0 cm ³

Keverje jól össze a kémcsöveket és hagyja szobahőmérsékleten állni 10 percig. A színes oldatok abszorbanciáját a reagens vak-kal szemben 535 nm hullámhosszon határozza meg spektrofotométerben. A kalibrációs görbe felhasználásával számítsa ki az oldat vastartalmát $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ egységben.

3. feladat. Vastartalmú tablettá vastartalmának meghatározása

Bontson szét egy kapszulát és tartalmát főzőpohárban kb. 20 cm³-nyi 0,01 M HCl-val szuszpendálja el. Mossa át a szuszpenziót 100 cm³-es mérőlombikba HCl-oldattal, tölts fel a jelig, majd keverje jól össze (100-szoros hígítás). További hígítás céljából pipetázzon 0,1 cm³-t 50 cm³-es mérőlombikba és HCl-oldattal tölts fel a jelig (ez további 500-szoros hígítást jelent). Ennek az oldatnak 1,0 cm³-éből végezze a meghatározást a következő módon. Pipetázza egy műanyag kémcsőbe a táblázatban megadott anyagokat az adott sorrendben. (Az aszkorbinsav kiméréséhez használjon egy kisméretű spatulát, egy spatula hegynyi anyag kb. 5 mg-nak felel meg.)

Bemért anyag	Minta
Aszkorbinsav *	kb. 5 mg
Desztillált víz	-
Reagens**	1,0 cm ³
Ismeretlen minta	1,0 cm ³

Keverje jól össze a kémcsövet és hagyja szobahőmérsékleten állni 10 percig. A színes oldatok abszorbanciáját a reagens vak-kal szemben 535 nm hullámhosszon határozza meg spektrofotométerben.

* Az aszkorbinsavat kisméretű spatulával lehet bemérni. Egy spatula hegynyi anyag kb. 5 mg.

** A reagens összetétele: 0,68 mmol/dm³ batofenatrolin diszulfonsav dinátrium só 0,4M foszfát pufferben (pH 5,5)

Számítás

$$Fe - \text{tartalom} = \frac{\mu\text{gFe}}{1000} \times \frac{100}{0.1} \times \frac{50}{1.0} \text{ (mg/kapszula)}$$

A mért abszorbancia értékeknek megfelelő $\mu\text{g Fe}$ mennyiségeket a kalibrációs görbéről olvassa le.

4. feladat. Szérum vastartalmának meghatározása

A szérumban lévő transferrinhez kötött vasat meghatározás előtt fel kell szabadítani, ami detergenssel vagy pH 5,5-re való savanyítással történik. A szabaddá vált vas(III)-ionokat aszkorbinsavval redukáljuk és a keletkező vas(II)ionokat bato-fenantrolin-diszulfonáttal reagáltatjuk. A képződő komplex vörös színét fotometráljuk. Szérumfehérjék jelenléte a meghatározást nem zavarja, ezért TCA-val történő fehérjementesítésre csak erősen színezett (pl. hemolitikus) savó esetén van szükség.

Mérje műanyag csövekbe a táblázatban feltüntetett anyagokat!

Bemérendő anyag	Reagensvak	Szérumvak	Fe-törzsoldat	Szérum (próba)
Aszkorbinsav (mikrospatulahegynyi)	$\approx 5 \text{ mg}$	$\approx 5 \text{ mg}$	$\approx 5 \text{ mg}$	$\approx 5 \text{ mg}$
0,4 M foszfát puffer (pH 5,5)	-	1 cm^3	-	-
Reagens	1 cm^3	-	1 cm^3	1 cm^3
Deszt.víz	1 cm^3	-	-	-
Szérum	-	1 cm^3	-	1 cm^3
Fe-törzsoldat ($1 \mu\text{g Fe/cm}^3$)	-	-	1 cm^3	-

Összerázás után hagyja állni szobahőmérsékleten 30 percig a kémcsöveket, majd fotometrálja az oldatokat 1 cm rétegvastagságú küvettában reagensvakkal szemben 535 nm hullámhosszon, kivéve a szérum vak-ot, amit deszt. vízzel szemben kell leolvasni.

Számítás

$$\frac{A_p - A_v}{A_{st}} = \frac{c}{1}$$

Ahol A_p a próba abszorbanciája reagensvakkal szemben, A_v a szérumvak abszorbanciája deszt. vízzel szemben és A_{st} a standard Fe-törzsoldat abszorbanciája reagensvakkal szemben.

A szérum vastartalma $\mu\text{mol/dm}^3$ -ben:

$$\text{szérum Fe } (\mu\text{g/cm}^3) \times 1000 / 55,8 = \text{szérum Fe } (\mu\text{mol/dm}^3)$$

Mintafeladat

Határozza meg egy humán szérumminta vastartalmát $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ -ben, ha a mért abszorbanciák 535 nm-en a következők:

$$A_p = 0,354$$

$$A_v = 0,026$$

$$A_{st} = 0,658$$

és $M_{\text{Fe}} = 55,8 \text{ g/mol}$.

A standard oldat koncentrációja $1 \mu\text{g Fe}/\text{cm}^3$.

$$m_{\text{Fe}} = \frac{0,354 - 0,026}{0,658} = 0,45 \mu\text{g Fe } 1 \text{ cm}^3\text{-ben}$$

$$n = \frac{m_{\text{Fe}}}{M_{\text{Fe}}} = \frac{4,5 \times 10^{-7} \text{ g}}{55,8 \text{ g/mol}} = 8,6 \times 10^{-9} \text{ mol}$$

$$C_{\text{Fe}} = \frac{n_{\text{Fe}}}{V} = \frac{8,6 \times 10^{-9} \text{ mol}}{10 \times 10^{-4} \text{ dm}^3} = 8,6 \times 10^{-6} \text{ mol/dm}^3 = 8,6 \mu\text{mol/dm}^3 \text{ (mM)}$$

Kérdések

Mit nevezünk szérumvasnak?

Írja le a vastartalom fotometriás meghatározásának módszerét!

Mi a teljes vaskötő kapacitás és a szérumvas?

Gyakorló feladat

Egy ismeretlen vastartalmú oldat abszorbanciája 535 nm-en 0,5. Teljesen megegyező körülmények között mérve egy $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ vastartalmú oldat abszorbanciája 0,2. Határozza meg az ismeretlen oldat koncentrációját!

Gyakorlat

Dátum:

1. és 2. feladat. *Kalibrációs görbe felvétele és ismeretlen oldat vaskoncentrációjának meghatározása*

Próbák	Standard 1	Standard 2	Standard 3	... számú ismeretlen
Vastartalom [$\mu\text{g Fe}$]	0,2	0,5	1,0	
Abszorbancia				

Kalibrációs görbe



Számítás

..... számú ismeretlen oldat vastartalma: $\mu\text{g/cm}^3$.

3. feladat. *Egy tablettá vastartalmának meghatározása*

A tablettá neve:

Az egy kapszulát tartalmazó (véghígítású) oldat térfogata:

A hígítás mértéke:

A meghatározáshoz használt minta térfogata	Abszorbancia	$\mu\text{g Fe}$	1 kapszulá vastartalma
$1,0 \text{ cm}^3$			

Számítás

A mérések átlaga alapján egy kapszulá vastartalma \quad mg vas.

4. feladat. *Szérumvas meghatározása*

$A_p =$

$A_v =$

$A_{st} =$

Számítás

A szérum vastartalma $\quad \mu\text{g}/\text{cm}^3;$ $\quad \mu\text{mol}/\text{dm}^3.$

Kvantitatív fehérjemeghatározási módszerek

A fehérjék korszerű meghatározása spektrofotometriás módszerekkel történik. A fehérjék szinte kivétel nélkül abszorbeálják a 280 nm hullámhosszú UV fényt, ami aromás aminosavak, főként triptofán jelenlétére vezethető vissza. Mivel a különböző fehérjék triptofántartalma erősen eltér egymástól, a leolvasott abszorbancia csak durva tájékoztatást nyújt a vizsgált anyag fehérjetartalmáról. Pontos meghatározás ultraibolya spektrofotometriával csak akkor végezhető, ha a vizsgált frakció tiszta és jól azonosítható. Ebben az esetben a fehérjekoncentrációt az abszorpciós együttható segítségével számíthatjuk ki, amely természetesen a különböző fehérjékre más-más értékű. Bár a fehérjék a fény látható tartományában nem abszorbeálnak, kémiai reakciókkal színes, fotometrálnak termékké alakíthatók.

Gyakran alkalmazott eljárás a *biuret-reakció*, amely során a fehérjék peptidkötései a réz(II)-ionokkal lúgos közegben ibolyaszínű komplexet képeznek. A komplex abszorpciós maximuma 545 nm-nél van. Mivel már két peptidkötés esetében is fellép az ibolya színű reakció, fehérjéken kívül a peptidok is meghatározhatók ezzel az eljárással. A minta előzetes hígítása nélkül a módszer az 1-10 mg/cm³ koncentráció-tartományban használható.

A fehérjekoncentráció különböző festékekkel is meghatározható. A *Bradford* módszer alapja az, hogy a Coomassie Brilliant Blue G-250 festék a fehérjék bázisos oldalláncaihoz kapcsolódva színváltozást mutat. A képződő fehérje-festék komplex abszorpciós maximuma 595 nm. A fehérje kötődése a kolloid festékszemeskéhez gyors folyamat és a fehérje-festék komplex kolloid oldatban marad kb. 1 óráig, így az eljárás gyors és nem szükséges a színreakció pontosan adott időben történő leolvasása. Ezzel a módszerrel 0,1-1 mg/cm³ fehérje határozható meg. Előnye egyszerűsége, gyorsasága és nagy érzékenysége.

1. feladat. Fehérjetartalom meghatározása biuret-reakcióval

A fehérjetartalmat szarvasmarha (bovin) szérum albumin (BSA) törzsoldatra vonatkoztatjuk.

Mérje négy kémcsőbe a táblázatban megadott anyagokat!

Bemérendő anyag (cm ³)	Reagensvak	Standard	Próba	Szérum
Ismeretlen fehérje-oldat	-	-	0,5	-
Szérum	-	-	-	0,05
5 mg/cm ³ BSA	-	0,5	-	-
0,9% NaCl	0,5	-	-	0,45
Biuret-reagens*	2,0	2,0	2,0	2,0

Fertőzések elkerülése végett a szérumot automata, vagy ballonos pipettával kell mérni!

A biuret-reagens hozzáadása után azonnal rázza össze a mintákat, 30 percig tartsa őket szobahőmérsékleten, majd fotometrálna 545 nm-en reagensvakkal szemben.

* Biuret-reagens készítése a következő: 1,5 g CuSO₄·5 H₂O és 6 g K-Na-tartarát feloldása 500 cm³ H₂O-ben. Ehhez az oldathoz 300 cm³ 0,1 % KI-t tartalmazó 10%-os karbonátmentes NaOH hozzáadása majd kiegészítése desztillált vízzel 1 dm³-re. Ha csapadék keletkezik, a reagens nem használható. A KI minimalizálja a csapadék keletkezését. A reagens műanyag edényben tartandó.

Az 5 mg/cm^3 BSA-t tartalmazó standard fényelnyelése alapján számítsa ki, hogy mennyi az ismeretlen oldat, ill. a szérumfehérje koncentrációja g/dm^3 -ben.

Számítás

$$\frac{A_{próba}}{A_{standard}} = \frac{Fehérje_{próba} (mg)}{5mg}$$

Vegye figyelembe, hogy az ismeretlen fehérje-oldatból $0,5 \text{ cm}^3$, a szérumból $0,05 \text{ cm}^3$ tartalmazza a mért mennyiséget.

Kiértékelés

A felnőttek normál szérumfehérje (összfehérje) értéke: $60\text{-}80 \text{ g/dm}^3$. Az emelkedett szérumfehérje koncentráció (hiperproteínémia) oka lehet folyadékvesztés vagy az immunglobulinok kóros felszaporodása. A szérumfehérje koncentráció csökkenése (hipoproteínémia) vesebetegségekben fordul elő a fokozott albuminürítés (albuminuria) következtében, továbbá a szérumfehérje szintézis zavaraiiban.

2. feladat. Fehérjemeghatározás Bradford szerint

Mérje három kémcsőbe a következő oldatokat:

Bemérendő anyag (cm^3)	Reagensvak	Standard	Próba
Ismeretlen oldat	-	-	0,05
$500 \mu\text{g/cm}^3$ BSA	-	0,05	-
Deszt.víz	0,05	-	-
Bradford-reagens*	2,5	2,5	2,5

Gyors összerázás és két perc várakozás után fotometrálja 595 nm -en reagensvakkal szemben.

Számítás

$$Fehérje_{próba} = \frac{A_{próba}}{A_{standard}} \times 500 (\mu\text{g/cm}^3)$$

* Bradford-reagens összetétele: 0,01% Coomassie Brilliant Blue G-250; 4 tf. % etilalkohol; 8,5 tf. % foszforsav. A reagenst használat előtt szűrőpapíron át kell szűrni.

Mintafeladat

Számítsa ki $0,05 \text{ cm}^3$ humán szérum fehérjekoncentrációját, ha a minta biuret-reakcióval mért abszorbanciája 545 nm -en $0,365 \text{ mg/ml}$ koncentrációjú BSA oldat 1 cm^3 -ét használtuk standard mintaként. Megegyező körülmények között mérve a standard abszorbanciája $0,11$. Értékelje ki a szérum fehérjetartalma a normál értékek között van-e?

A szérum fehérjetartalma:

$$Fehérjeszérum(mg) = \frac{A_{szérum}}{A_{standard}} \times 5 \text{ mg} = \frac{0,36}{0,11} \times 5 \text{ mg} = 16,36 \text{ mg } 0,05 \text{ cm}^3\text{-ben}$$

A szérum fehérjekoncentrációja:

$$16,36 \text{ mg} : 0,05 \text{ cm}^3 = 327,3 \text{ mg/cm}^3 = 327,3 \text{ g/dm}^3$$

A szérum fehérjekoncentrációja a normál érték ($60\text{-}80 \text{ g/dm}^3$) felett van.

Kérdések

Soroljon fel spektrofotometriás fehérjemeghatározási módszereket!

Mi az alapja a fehérjekoncentráció biuret-reakcióval történő meghatározásának?

Mi az alapja a fehérjetartalom Bradford-reagenssel történő meghatározásának?

Adja meg a humán szérum fehérjekoncentráció normál értékét!

Gyakorló feladat

Számítsa ki annak a fehérjeoldatnak a koncentrációját, melynek Bradford-módszerrel való mérése során, $0,05 \text{ cm}^3$ -ből mérve az abszorbancia értéke 595 nm hullámhosszon $0,36$. (A $0,1 \text{ cm}^3$ térfogatú $500 \mu\text{g/cm}^3$ koncentrációjú standard oldatra, ugyanolyan módon mérve $A_{595}=0,2$).

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. Fehérjemérés biuret-reakcióval

Ismeretlen száma:

Fehérje-oldat	Abszorbancia	Fehérje koncentráció (mg/cm ³)
Standard		5.0
Ismeretlen fehérje-oldat		
Szérum		

Számítás

..... számú ismeretlen fehérje-oldat koncentrációja: mg/cm³.

A szérum összes fehérje koncentrációja: mg/cm³, azaz g/dm³, ami a normálértékhez viszonyítva magasabb/alacsonyabb/megfelelő (húzza alá a megfelelő választ).

2. feladat. Fehérjemeghatározás Bradford módszerével

Ismeretlen minta száma:

Vizsgálandó	Abszorbancia	Koncentráció (µg/cm ³)
Standard		500
Ismeretlen fehérje-oldat		

Számítás

..... számú ismeretlen fehérje koncentrációja: µg/cm³.

redukciót” adó anyagok nem zavarják és a fruktozémia vagy galaktozémia elkülönítésére is alkalmas. A peroxidáz azonban nemcsak a kromogénre képes a H₂O₂ oxigénjét átvinni, hanem más oxidálható anyagokra is (pl. bilirubinra), emiatt ez a módszer sárgaságban szenvedő betegeknél - a vér magas bilirubintartalma miatt - a ténylegesnél alacsonyabb glükózértéket ad. A glükózoxidázos módszer egyszerűsége és a reagensek stabilitása miatt ma az egyik leggyakrabban alkalmazott kvantitatív glükózmeghatározási eljárás.

1. feladat. Vér glükózkoncentrációjának enzimatis meg határozása

Az enzimatis meg határozás Trinder-reagenssel* történik. Mérje kémcsövekbe a táblázatban feltüntetett anyagokat!

Bemérendő anyag (cm ³)	Reagensvak	Szérum	Glükóz-standard
Glükóz-standard (5 mmol/dm ³)	-	-	0,02
Szérum	-	0,02	-
Trinder-reagens	2,5	2,5	2,5

Hagyja állni a csöveket szobahőmérsékleten 30 percig. Fotometrlás 520 nm-en 1 cm-es rétegvastagság mellett reagensvakkal szemben.

A szérum glükózkoncentrációja az alábbi összefüggés alapján számítható ki:

$$\frac{c_{\text{glükóz}} \text{ mmol/dm}^3}{5 \text{ mmol/dm}^3} = \frac{A_{\text{szérum}}}{A_{\text{standard}}}$$

Mintafeladat

Számítsa ki egy szérumminta glükózkoncentrációját, ha annak abszorbanciája a reagens vakkal szemben mérve 520 nm-en 0,054. A standard glükóz oldat abszorbanciája 0,12!

$$C_{\text{glükóz}} \text{ mM} = \frac{A_{\text{szérum}}}{A_{\text{standard}}} \cdot 5 \text{ mM} = \frac{0,054}{0,12} \cdot 5 \text{ mM}$$

$$C_{\text{szérum}} = 2,25 \text{ mmol/dm}^3$$

Kérdések

Sorolja fel a vércukor kvantitatív meg határozására használható módszereket!

Mi a vér glukóz koncentráció normál értéke?

Írja fel a glükózkoncentráció enzimatis módszerrel történő meg határozásakor lejátszódo reakciók egyenletét. Mi a módszer előnye?

Gyakorló feladat

Mi a 3,1 mM glükóz-oldat abszorbanciája 520 nm-en mérve, ha a glükóz standard (5 mM) mért abszorbancia értéke 0,09?

* Trinder-reagens készítése: Gyárilag összeállított GOD + POD keveréket 1 liter 0,1 M pH 7,0 foszfát pufferben oldunk. Ebben az enzim-puffer keverékben a GOD koncentráció 12 U/cm³; a POD koncentráció 1,2 U/cm³. Ez az enzim-puffer keverék 4 °C-on három hónapig tartható el. 100 cm³ enzim-puffer keverékhez 250 mm³ gyárilag összeállított kromogén oldatot adunk (amely 4 M fenolt és 0,6 M p-amino-fenazont tartalmaz). A kromogént is tartalmazó Trinder-reagens naponta frissen készítendő az enzim-puffer keverékből.

Gyakorlat

Dátum:

1 feladat. Szérum glükóztartalmának enzimatis meg határozása

Abszorbancia értékek

$A_{\text{szérum}} =$

$A_{\text{standard}} =$

Számítás

A szérum glükóz koncentrációja: mmol/dm³

Értékelje ki, hogy a szérum glükózkoncentrációja a normál értékek között van-e.

POLARIMETRIA

A polarimetria a polarizált fényvel kapcsolatos kvantitatív vizsgálatokkal foglalkozik. A mérés során optikai forgatóképességet, azaz a síkban polarizált fény rezgési síkjának elfordulását mérjük. Lineárisan, síkban polarizált (poláros) fényről akkor beszélünk, ha az elektromos térerősségvektor (és így természetesen a mágneses is, csak az elektromosra merőlegesen) egyetlen síkban rezeg. A természetes fényben sem az elektromos térerősségvektornak, sem a mágneses térerősségvektornak nincs kitüntetett rezgési iránya, minden rezgési irány azonos valószínűséggel található meg. A természetes fényből megfelelő szűrőkkel (polarizátorokkal) tetszés szerinti rezgésirányú fény kiválasztható.

Az optikailag aktív anyagok a síkban polarizált fény polarizációs síkját elforgatják. Ha az anyag csak kristályos állapotban aktív (pl. kvarc), megolvadt vagy oldott állapotban nem, akkor a jelenség oka a kristályszerkezetben van. Ha ellenben az optikai aktivitás oldott vagy megolvadt állapotban is megmarad, akkor a forgatóképesség magyarázatát a molekulaszervezetben kell keresni. Optikailag aktívak azok az anyagok, amelyek molekulájában van olyan szénatom, amelyhez 4 különböző ligandum kapcsolódik (aszimmetriás szénatom, kiralitáscentrum). Az ilyen vegyületeknek két olyan térbeli szerkezete van, amelyek egymásnak tükörképei, azaz nem forgathatók egymásba.

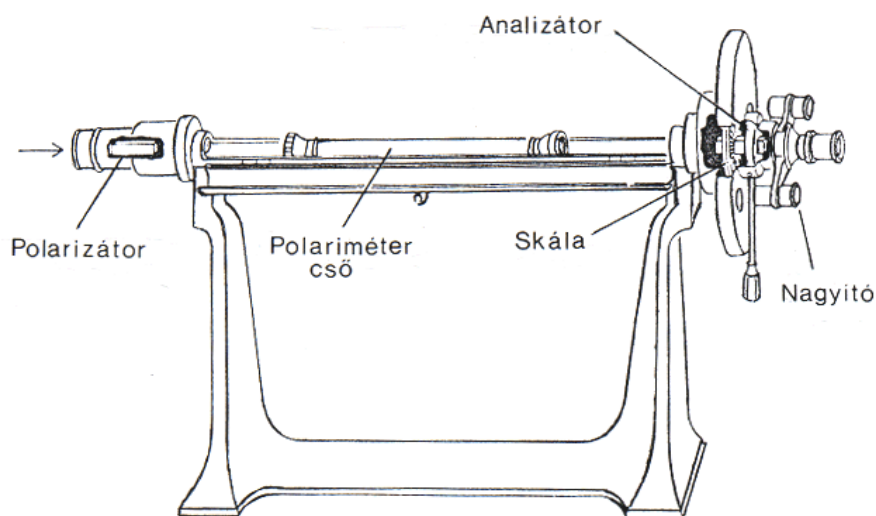
Egy optikailag aktív anyag oldatának forgatóképessége (α) adott hőmérsékleten és hullámhosszon arányos az oldat koncentrációjával (c), az oldat rétegvastagságával (l) és a fajlagos forgatóképességgel:

$$\alpha = [\alpha]_D^T \times l \times c$$

ahol l az adott réteg vastagsága dm-ben, c pedig az oldat koncentrációja g/cm³ egységben. A fajlagos forgatóképesség $[\alpha]$, anyagi minőségre jellemző állandó, ami azt a szöveget jelenti, amellyel a síkban polarizált λ hullámhosszúságú fény polarizációs síkja elfordul, ha T °C-on a kérdéses anyag 1 dm vastagságú rétegén áthalad, feltéve, hogy az aktív anyagnak 1 g-ja van 1 cm³-ben feloldva. A gyakorlatban a fajlagos forgatóképességet általában 25 °C-ra és 589 nm hullámhosszra (az ún. nátrium-D spektrumvonal hullámhosszára) szokták megadni $[\alpha]_D^{25}$.

A forgatóképesség mérése felhasználható az optikailag aktív anyagok koncentrációjának meghatározására, vagy a koncentráció ismeretében a specifikus aktivitás számolása révén az optikailag aktív anyag azonosítására, tisztaságának ellenőrzésére is alkalmazható.

Az optikai forgatóképességet polariméterrel mérjük (17. ábra).



17. ábra Polariméter

A polariméter fő részei: a síkban polarizált fényt előállító polarizátor, az aktív oldatot befogadó, végein planparallel üveglemezekkel lezárt, ismert hosszúságú, esetleg termosztálható cső az ún. polarimétercső és az analizátor. Polarizátorként és analizátorként általában ún. Nicol-féle prizrát használnak, amely csiszolt mészpátkristályból áll. A mészpát a természetes fényt két egymásra merőleges irányban polarizált részre bontja. Megfelelő csiszolással elérhető, hogy csak az egyik polarizált fénysugár jusson át a prizmán, a másik visszaverődjék (polarizátor). Az így előállított polarizált fény egy másik prizmán (analizátor) csak akkor haladhat át, ha az utóbbinak a főmetszete párhuzamos az elsőével. Ha a főmetszetek merőlegesek egymásra, akkor a második prizma teljesen elnyeli a ráeső fényt. A fényintenzitás-maximum vagy fényintenzitás-minimum azonban csak mérsékelt pontossággal állítható be. Az emberi szem viszont igen érzékenyen meg tudja azt állapítani, hogy a látótér két felének megvilágítása azonos-e. A polariméter felépítése ezt a félárnyék módszernek nevezett beállítást teszi lehetővé, amikor a polarizátor és analizátor 90°-os állása esetén a látómezőben észlelhető látótér egyenletesen (de nem teljesen) sötét. A készülék nullpontját tehát úgy állapítjuk meg, hogy a polarimétercsövet desztillált vízzel töltve meg beállítjuk a félárnyékot. Ha a síkban polarizált fény optikailag aktív anyagon halad át, akkor a polarizátorból kilépő fény síkja elfordul. Ezt a látótér középső részén megjelenő eltérő intenzitású sáv jelzi. Emiatt az analizátort (amely eredetileg merőlegesen helyezkedett el a polarizátor főmetszetéhez viszonyítva, teljes kioltást okozva) az eredeti helyzetétől valamilyen szöggel el kell forgatni, hogy ismét létrejöjjön a teljes kioltás, azaz a látótérben visszaállítsuk a félárnyékot. Ha az analizátort az óramutató járásának irányában kell elforgatni, akkor jobbra (+) forgató anyaggal van dolgunk, ellenkező esetben viszont balra forgató anyagról beszélünk (-).

Szénhidrátok polarimetriás vizsgálata

A szénhidrátok a dihidroxi-aceton kivételével optikailag aktív vegyületek, így polarimetriás módszerrel, optikai forgatás alapján a specifikus forgatóképesség ismeretében az egyes szénhidrát oldatok koncentrációja meghatározható. A legfontosabb cukrok specifikus forgatóképességét a 6. táblázat foglalja össze.

$$c = \frac{\alpha}{l \times [\alpha]_D^{25}}$$

6. táblázat Mono- és diszacharidok specifikus forgatóképessége

Cukor	$[\alpha]_D^{25}$ *
D-glükóz	+52,7
D-frukóz	-93,0
Szacharóz	+66,5
Invertcukor (D-glükóz: D-fruktóz, 1:1)	-20,2
Maltóz	+136,0
D-mannóz	+14,2
D-galaktóz	+80,5

*Az adatok egyensúlyi elegyekre vonatkoznak (lásd mutarotáció).

A cukorbetegek vizeletében lévő glükóz koncentrációját régebben polariméterrel határozták meg. A vizeletben azonban más optikailag aktív anyagok is megjelenhetnek (fehérjék, β -hidroxivajsav, glükuronsav, cisztin, laktóz, galaktóz stb.), ezért a polarimetriás meghatározás nem eléggé specifikus. A vizelettel ürített glükóz mennyiségi meghatározása napjainkban spektrofotometriás módszerrel, specifikus színreakciókkal (*o*-toluidines, ill. enzimatis cukormeghatározás) történik.

1. feladat. Glükóz és fruktóz oldat koncentrációjának polarimetriás meghatározása

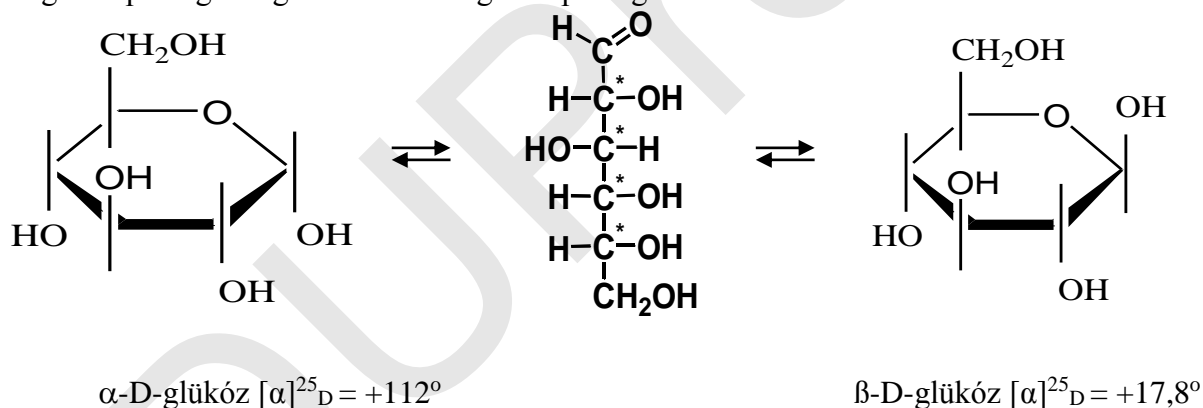
Ellenőrizze mérés előtt a polariméter 0 helyzetét. Buborékmentesen desztillált vízzel töltsen meg a polariméter csövet, majd a csövet a polariméterbe helyezve állítsa be az ún. félárnyékot. A polariméter látómezőjében három sávot láthat. Ezek közül a két szélső fényintenzitása egyenlő, a középsőé viszont eltérő (vagy világosabb, vagy sötétebb). Az analizátor elfordításával elérhető, hogy a látómezőben mindhárom rész egyformán világos legyen. Ilyenkor az analizátor teljes mértékben átengedi a polarizált fényt. Kb. 90°-os elfordítás után pedig a három térrész egyformán sötét lesz (teljes kioltás). Ez a pont a készülék nulla pontja.

Öblítse át a polariméter csövet a vizsgálandó oldattal, hogy a mérés alkalmával az oldat ne híguljon fel. Ezután töltsen meg a polariméter csövet a vizsgálandó oldattal buborékmentesen. A csövet a polariméterbe helyezve, az analizátort addig forgassa el, hogy a látótérben a három térrész egyforma -sötét- legyen. Mivel a glükóz jobbra (az óramutató járásával megegyező irányba) forog, az analizátort is az óramutató járásának irányába kell elforgatni. Fruktóz meghatározásakor ellentétes irányban kell az analizátort elforgatni, mivel a fruktóz balra forog.

A koncentráció kiszámításához szükséges specifikus forgatóképesség a 6. táblázatban található. Adja meg az ismeretlen glükóz-, ill. fruktóz oldat koncentrációját.

2. feladat. Glükóz mutarotációjának vizsgálata

A kristályos kereskedelmi D-glükóz α -D-glükózt tartalmaz. Az α -D-glükóz specifikus forgatóképessége közvetlenül a feloldás után $[\alpha]_D^{25} = +112^\circ$. Vizes oldatban a glükóz α - és β -D-glükóz egyensúlyi keverékévé alakul át, miközben a glükózoldat specifikus forgatóképessége megváltozik. A forgatóképesség változása a mutarotáció.



Az α - és β -D-glükóz aránya a feloldás után kb. 1 óra múlva már megközelíti, de csak kb. 24 óra múlva éri el az egyensúlyi állapotot. Ekkor $[\alpha]_D^{25} = +52,7^\circ$. Az egyensúlyi keverék 37% α - és 63% β -D-glükózt tartalmaz. A mutarotációt savak és bázisok, továbbá a glükomutarotáz enzim gyorsítja.

A kísérlet leírása

Mérjen le táramérleggel 4 g glükózt, oldja fel desztillált vízben és töltsen fel 20 cm³-re mérőhengerben ($c = 0,2$ g/cm³). Közvetlenül ezután töltsen a polariméter csövébe az oldatot és olvassa le az optikai forgatás szögét. Leolvasás után a glükóz oldatból 15 cm³-t töltsön vissza a mérőhengerbe és pipettázzon hozzá 0,2 cm³ 0,1 M NaOH-t. Kezdje el az időmérést. Összekeverés után töltsen vissza az oldatot a polarimétercsöbe. A lúg hozzáadásától számítva 2, 4, 6, 8, 12, 16 és 20 perc elteltével olvassa le az optikai forgatás szögét.

Ábrázolja grafikusán a specifikus forgatóképesség időbeni változását: az abszcisszán az időt tüntesse fel percekben, az ordinátán a glükóz oldat specifikus forgatóképességét. A 0 perces $[\alpha]_D^{25}$ értéket a lúg nélküli glükóz oldat forgatásából számítsa ki.

Minta feladatok

1. Egy ismeretlen koncentrációjú glükóz oldat forgatóképességének mért értéke $2,64^\circ$. A méréshez használt polariméter cső hossza $1,00\text{ dm}$ Számítsa ki a glükóz oldat koncentrációját!

$$\alpha = 2,64^\circ$$

$$[\alpha]_D^{25} = 52,7$$

$$l = 1,00\text{ dm}$$

$$c = \frac{\alpha}{l \times [\alpha]_D^{25}}$$

$$c = \frac{2,64}{1,00 \times 52,7} = 0,05 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$$

$$c = 0,05\text{ g/cm}^3$$

2. $2,0\text{ g}$ (+)-glicerinaldehidet $10,0\text{ cm}^3$ vízben feloldva oldatot készítettünk. 25°C hőmérsékleten polarimetriás mérést végeztünk 100 mm hosszúságú polariméter csövet használva. Az mért forgatóképesség értéke $1,74^\circ$. Számolja ki a (+)-glicerinaldehid specifikus forgatóképességét!

$$\alpha = 1,74^\circ$$

$$l = 100\text{ mm} \times \frac{1\text{ m}}{1000\text{ mm}} \times \frac{10\text{ dm}}{1\text{ m}} = 1,00\text{ dm}$$

$$c = \frac{2,0\text{ g}}{10,0\text{ cm}^3} = 0,20\text{ g/cm}^3$$

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\alpha}{l \times c}$$

$$[\alpha] = \frac{1,74}{1,00 \times 0,20} = 8,7$$

$$[\alpha]_D^{25} = 8,7$$

Kérdések

Adja meg az optikailag aktív anyag koncentrációja és az optikai forgatóképesség közötti összefüggést és a képletben szereplő jelek definícióját.

Mit jelent a fajlagos forgatóképesség?

Hogyan határozná meg egy optikailag aktív anyag koncentrációját optikai forgatása alapján?

Hogyan azonosítana egy ismeretlen szénhidrátot polarimetria segítségével?

Mi a mutarotáció? Szerkezeti képletekkel mutassa be a glükóz példáján!

Az α -D-glükóz képlete, a glikozidos hidroxil csoport jelölésével.

Az β -D-glükóz képlete, a glikozidos hidroxil csoport jelölésével.

A D-glükóz nyílt láncú alakjának képlete.

Gyakorló feladat

Számítsa ki annak a szénhidrát oldatnak a specifikus forgatóképességét, melynek $0,2\text{ g/cm}^3$ koncentrációjú oldatának forgatóképessége $10,54^\circ$. A polarimetriás méréshez használt, polariméter cső hossza $1,00\text{ dm}$. A 6. táblázat segítségével adja meg a szénhidrát nevét!

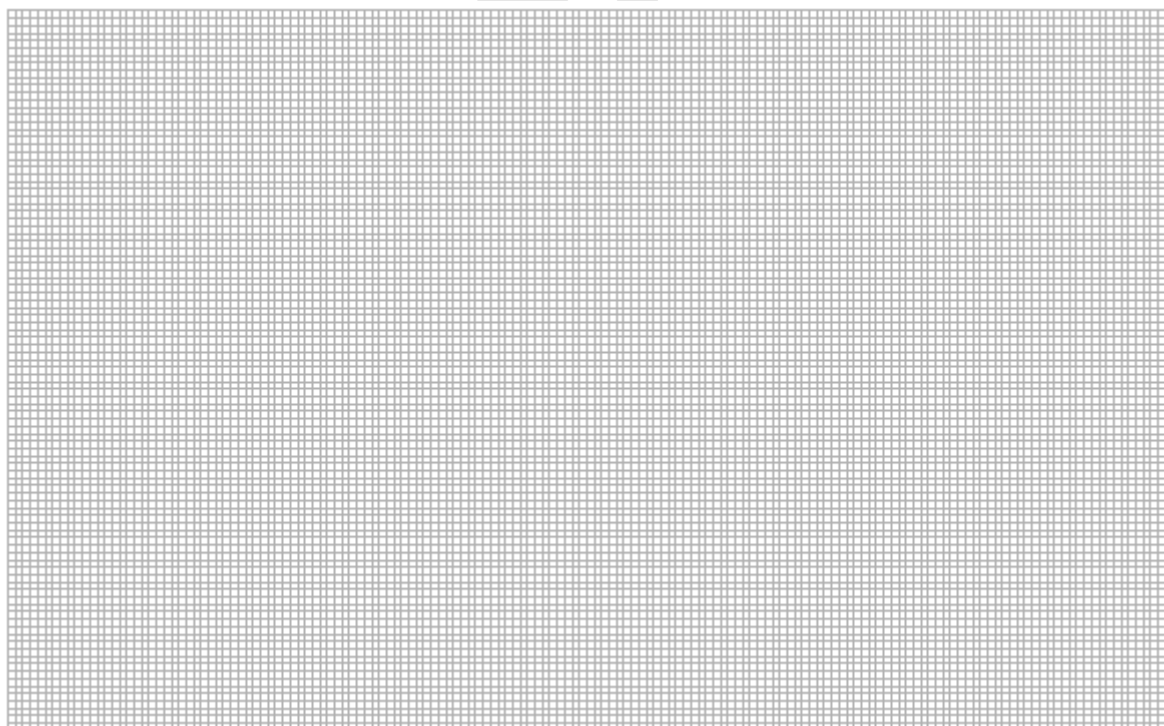
2. feladat. *Glükóz mutarotációjának vizsgálata*

$l =$ dm $C_{\text{glucose}} =$ g/cm³

Töltse ki az alábbi táblázatot!

Idő [perc]	α	$[\alpha]_D^{25}$
0		
2		
4		
6		
8		
12		
16		
20		

Grafikus ábrázolás



A glükóz vizes oldatának specifikus forgatóképessége az egyensúly beállta után:

ELEKTROMETRIA

Potenciometria (elektrometria) néven foglaljuk össze az elektródpotenciál mérésére visszavezethető módszereket. A Nernst-egyenlet szerint egy elektród elektródpotenciálja következő összefüggéssel adható meg:

$$\varepsilon = \varepsilon^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln c$$

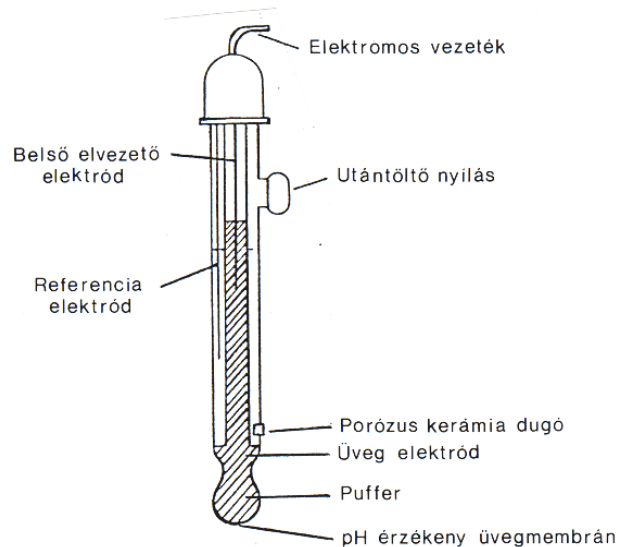
ahol ε° a standard redukciós elektródpotenciál, R az egyetemes gázállandó, T az abszolút hőmérséklet, n az elektronszám-változás, F a Faraday állandó c az oxidált forma koncentrációja, fémelektrod esetén például a fémion koncentrációja. Az elektródpotenciálból tehát kiszámíthatjuk az ismeretlen koncentrációt. Egyetlen elektród abszolút potenciálját azonban nem lehet mérni, mindig két elektród közti potenciálkülönbség mérhető.

$$E = \varepsilon_{\text{katód}} - \varepsilon_{\text{anód}} = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln Q$$

ahol E° a katód és az anód standard redukciós elektródpotenciál értékének a különbsége, Q a reakció hányados. A mérőelektrodot egy másik, ún. összehasonlító, vagy más néven referencia-elektroddal galvánelemmé kell tehát kapcsolni, s az így létrejövő elem elektromotoros erejének (E) méréséből számítjuk ki a mérőelektrod potenciálját. Referencia-elektrodként másodfajú (kalomel, vagy Ag/AgCl) elektród használható, amelyre jellemző, hogy működése közben az ionkoncentráció nem változik, így elektródpotenciálja állandó. Az elektródpotenciál-skála vonatkoztatási alapja a standard hidrogénelektrod, melynek standard redukciós elektródpotenciálja megállapodás szerint $\varepsilon^{\circ} = 0,0$ V.

Elektrometriás pH-mérés és az elektrolitok egyensúlyának vizsgálata

A pH, a hidrogénion-koncentráció tízes alapú negatív logaritmus, $pH = -\lg [H^+]$. A pH legpontosabban elektrometriásan határozható meg. Az elektrometriás pH-méréskor a leggyakrabban használt pH-érzékeny mérőelektrod az *üvegelektrod*. Működésének elve, hogy ha üvegből vékonyfalú gömböt készítünk és azt hidrogénionokat tartalmazó oldatba merítjük, az üvegmembránon fellépő potenciál arányos lesz az oldat hidrogénion-koncentrációjával. A gyakorlatban igen elterjedt a *kombinált elektród* (18. ábra) használata, amelyben egybeépítve található a mérő- és a referencia-elektrod, közöttük porózus diafragma biztosítja az elektromos kapcsolatot (az anionok vándorlását). Előnye, hogy kis térfogatban is használható



18. ábra. A kombinált elektród

A kombinált elektród felépítése



Az elektromotoros erő a mérendő oldat pH értékétől függ. Tízest alapú logaritmusra áttérve és az állandókat ($T = 298 \text{ K}$, $F = 96500 \text{ Coulomb}$) összevonva

$$E = K' + 0,0592 \text{ pH}$$

ahol K' a referencia és az üvegelektrod minőségétől függ.

Az elektród kezelése

A kombinált elektródot használaton kívül telített KCl oldatban kell tárolni; ügyelve arra, hogy a diafragma is az oldatba merüljön. Ez biztosítja, hogy se az üvegelektrod felülete, se a diafragma ne száradjon ki, és az elektródban lévő telített KCl oldat ne híguljon fel.

Az elektródot mérés előtt desztillált vízzel mossa le, majd itassa le szűrőpapírral. Mérés alkalmával úgy helyezze az elektródot a mérendő oldatba, hogy abban a diafragma is elmerüljön, de az elektród ne érintkezzen a mérőedény oldalával és aljával.

pH mérő

A mérő- és referencia-elektrodból összeállított elem elektromotoros erejét csővoltmérővel mérjük, amelynek nagy belső ellenállása lehetővé teszi az elektromotoros erő mérését (mV skála). A pH-mérők skáláján közvetlenül a pH olvasható le. A pH-skálát az alábbi képlet alapján készítették:

$$\text{pH} = \frac{\text{elektromotoros erő (V)}}{0,0592}$$

A különböző típusú pH-mérők kezelése kis mértékben eltérhet egymástól, ezért gondosan olvassa el a készülékhez mellékelt használati utasítást.

1. feladat. *Ismeretlen oldat pH-jának meghatározása elektrometriásan*

A mérés megkezdése előtt végezze el a készülék hitelesítését a hitelesítő pufferek segítségével a készülék használati utasításának megfelelően. Emelje ki az elektródot a hitelesítő pufferból, öblítse le desztillált vízzel és itassa le papírvattával. Főzőpohárba töltve a ismeretlen oldat egy részletét határozza meg a pH-értéket.

2. feladat. *Hígítás hatása erős és gyenge sav pH-jára*

Mérje meg elektromos pH mérővel a különböző hígítású, 0,001 M, 0,01 M, 0,1 M HCl- és ecetsav- oldatok pH-értékét.

Számítsa ki a várható pH-értékeket az alábbi képletek felhasználásával:

$$\text{pH}_{\text{HCl}} = -\lg[\text{HCl}]$$

A sósav erős sav, teljes mértékben disszociál, így a H^+ -ion koncentráció megegyezik a sósav koncentrációjával.

Az ecetsav gyenge sav, vizes oldatban csak kis mértékben disszociál ($\text{pK}_a = 4,76$).

$$\text{pH}_{\text{CH}_3\text{COOH}} = -\frac{1}{2} \lg(K_a \times [\text{CH}_3\text{COOH}]) = 2,38 - \frac{1}{2} \lg[\text{CH}_3\text{COOH}]$$

3. feladat. Erős sav elektrometriás titrálása

Az elektrometriás pH-mérés alkalmas savak és bázisok titrálással történő meghatározására is. Ennek a módszernek előnye a pontosság mellett az, hogy színes, ill. zavaros oldatokban is lehetővé teszi a mérést.

Mérjen ki 100 cm³ kb. 0,01 M (nem pontos koncentrációjú) HCl oldatot 250 cm³-es főzőpohárba. Titrálja meg kevergetés közben 0,1 M NaOH oldattal, kövesse az oldat pH-változását elektrometriásan.

Ábrázolja grafikusán a mért pH-értékeket 0; 5; 7,5; 9; 10; 11; 12,5 és 20 cm³ 0,1 M NaOH adása után. A legnagyobb pH-ugrás az ekvivalencia pont körül várható. Az ekvivalenciapont a titrálási görbe inflexiós pontján van. Grafikusán határozza meg az inflexiós pont/ekvivalencia pont helyzetét!

Mekkora az oldat pH-értéke a HCl-val egyenértékű NaOH hozzáadása után az ekvivalenciaponton? Számítsa ki a HCl oldat pontos koncentrációját az ekvivalenciapont eléréséhez szükséges 0,1 M NaOH fogyás alapján!

4. feladat. Gyenge sav elektrometriás titrálása

Mérjen ki 100 cm³ kb. 0,01 M (nem pontos koncentrációjú) ecetsavat 250 cm³-es főzőpohárba és titrálja meg 0,1 M NaOH oldattal, kövesse a pH változását elektrometriásan.

Ábrázolja grafikusán a 0; 2; 5; 8; 9; 10; 11; 12; 15 és 20 cm³ 0,1 M NaOH adagolása után leolvasott pH-értékeket. Állapítsa meg a görbe inflexiós pontját, ami megfelel az ekvivalenciapontnak.

Mennyi az oldat pH-ja az ecetsavval egyenértékű NaOH hozzáadása után? Számítsa ki az ecetsav pontos koncentrációját az ekvivalenciapontig fogyott 0,1 M NaOH térfogata alapján.

5. feladat. Pufferoldat pufferkapacitásának elektrometriás vizsgálata

Pufferoldatnak nevezzük a gyenge savat és sóját (konjugált bázisát) vagy gyenge bázist és sóját (konjugált savát) tartalmazó oldatokat. A pufferoldatok pH-ja csak kis mértékben változik, ha nagyobb mennyiségű savat vagy erős bázist adunk hozzá. Működésük a közös ion hatásán alapul. A pufferkapacitás a pufferoló képességet jelenti; értéke a 1000 cm³ pufferoldat pH-ját 1 egységgel eltoló 1 M HCl, illetve 1 M NaOH cm³-einek száma.

(a) Savval szembeni pufferkapacitás

Mérjen ki 20 cm³-t a vizsgálandó pufferoldatból és adjon hozzá 30 cm³ desztillált vizet. Állapítsa meg az oldat pH-ját elektrometriásan és adjon hozzá 0,1M HCl-t bürettából mindaddig, amíg a pufferoldat pH-ja kb. 1 egységgel nem csökken.

$$Pufferkapacitás_{sav} = \frac{fogyás, ml(0,1M HCl) \times 5}{pH_{kezdeti} - pH_{végső}}$$

(b) Lúggal szembeni pufferkapacitás

Mérjen ki újabb 20 cm³-t a vizsgálandó pufferoldatból és hígítsa 30 cm³ desztillált vízzel, majd 0,1 M NaOH adagolásával növelje a pH értékét kb. 1 egységgel. Számítsa ki a puffer savval és lúggal szembeni kapacitását.

$$Pufferkapacitás_{lúg} = \frac{fogyás, ml(0,1M NaOH) \times 5}{pH_{végső} - pH_{kezdeti}}$$

Minta feladatok

1. Számolja ki 0,2 M koncentrációjú sósav pH-ját!

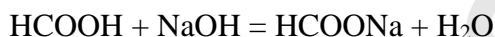
$$\text{pH} = -\lg 0,2$$
$$\text{pH} = 0,699$$

2. Számolja ki 0,02 M koncentrációjú CH₃COOH oldat pH értékét! K_a = 1,8 × 10⁻⁵.

$$\text{pH} = -\frac{1}{2} \lg (K_a \times [\text{CH}_3\text{COOH}]) = -\frac{1}{2} \lg (1,8 \times 10^{-5} \times 0,02) = -\frac{1}{2} \lg 3,6 \times 10^{-7} = 3,22$$

$$\text{pH} = 3,22$$

3. Hangyasav oldat titrálása során 10,0 mL 0,10 M NaOH oldatot adtunk 30,0 mL 0,15 M HCOOH oldathoz. Számolja ki a pH értékét! K_a(HCOOH) = 1,7 × 10⁻⁴.



0,15 mol/L × 0,03 L = 0,0045 mol HCOOH van a titrálendő oldatban, amelyhez adtunk
0,1 mol/L × 0,01 L = 0,001 mol NaOH-ot.

HCOOH még feleslegben van: 0,0045 – 0,001 = 0,0035 mol. Az oldat térfogata: 30,0 + 10,0 = 40,0 mL = 0,04 L

HCOOH koncentrációja: 0,0035 mol / 0,04 L = 0,0875 M

A semlegesítési reakcióban képződött 0,001 mol HCOONa

HCOONa koncentrációja: 0,001 mol / 0,04 L = 0,025 M

A titrálás során ebben a pontban a gyenge sav és sója (konjugált bázisa) is jelen van.

A Henderson Hasselbach egyenlet szerint:

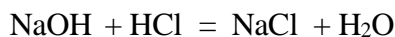
$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{konjugált bázis}]}{[\text{gyenge sav}]}$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{HCOONa}]}{[\text{HCOOH}]}$$

$$\text{pH} = 3,770 - 0,544 = 3,226$$

$$\text{pH} = 3,226$$

4. 10 cm³ sósavat 0,1 M NaOH oldattal titráltunk. Az ekvivalenciapontig 10,5 cm³ 0,1 M NaOH fogyott. Számolja ki a fogyás alapján a HCl koncentrációját! Mennyi a pH az ekvivalencia pontban?



A semlegesítéshez szükséges NaOH mennyisége 0,1 mol/dm³ × 0,0105 dm³ = 0,00105 mol
1 mol NaOH 1 mol HCl -val reagál a reakcióegyenlet szerint.

Tehát 0,00105 mol HCl volt 10 cm³ meghatározandó oldatban.

A sósav koncentrációja: 0,105 mol/1000 cm³.

A sósav koncentrációja: 0,105 M. Az ekvivalenciapontban a pH = 7,0, mivel az ekvivalenciapontban só és víz van jelen és a képződött só (NaCl) nem hidrolizál.

Kérdések

A pH-mérés során használt elektródok felépítése és működése.

Rajzolja fel az erős sav titrálási görbét erős bázissal, az ekvivalenciapont feltüntetésével.

Rajzolja fel az gyenge sav titrálási görbét erős bázissal, az ekvivalenciapont feltüntetésével.

A pufferkapacitás fogalma.

Az acetát-puffer komponenseinek reakciója erős savval illetve erős bázissal (reakcióegyenletek).

A foszfát-puffer összetevői és a foszfát-puffer pH-ját meghatározó összefüggés.

Gyakorló feladatok

1. Számolja ki 0,4 M koncentrációjú HCl oldat pH-ját!
2. Számolja ki 0,2 M koncentrációjú ecetsav oldat pH-ját! $pK_a(\text{CH}_3\text{COOH}) = 4,76$
3. Számítsa ki 10^{-1} M HCl és 10^{-1} M ecetsav hidrogénion koncentrációját és pH-ját! (Az ecetsav K_a értéke $1,8 \times 10^{-5}$).
4. Mekkora pH változást okoz a HCl, ill. az ecetsav 10-szeres és 100-szoros hígítása? Indokolja meg miért!
5. $25,0 \text{ cm}^3$ 0,1 M HCl oldathoz $5,0 \text{ cm}^3$ 0,1 M NaOH oldatot adtunk. Számolja ki a pH-t!
6. $25,0 \text{ cm}^3$ 0,1 M CH_3COOH oldathoz $5,0 \text{ cm}^3$ 0,1 M NaOH oldatot adtunk. Mennyi lesz az így kapott oldat pH értéke? Hány cm^3 0,1 M NaOH fogy az ekvivalenciapontig? $pK_a(\text{CH}_3\text{COOH}) = 4,76$ Mennyi lesz az oldat pH-ja az ekvivalencia pontban?

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. Ismeretlen oldat pH-jának meghatározása

Ismeretlen száma:

pH =

2. feladat. Hígítás hatása erős és gyenge sav pH-jára

Sav koncentráció	HCl		CH ₃ COOH	
	számolt pH	mért pH	számolt pH	mért pH
0,1 M				
0,01 M				
0,001 M				

Számítás

Hasonlítsa össze a mért és a számított értékeket!

Magyarázza meg a HCl és CH₃COOH pH értékei közötti különbségeket!

3. feladat. Erős sav elektrometriás titrálása

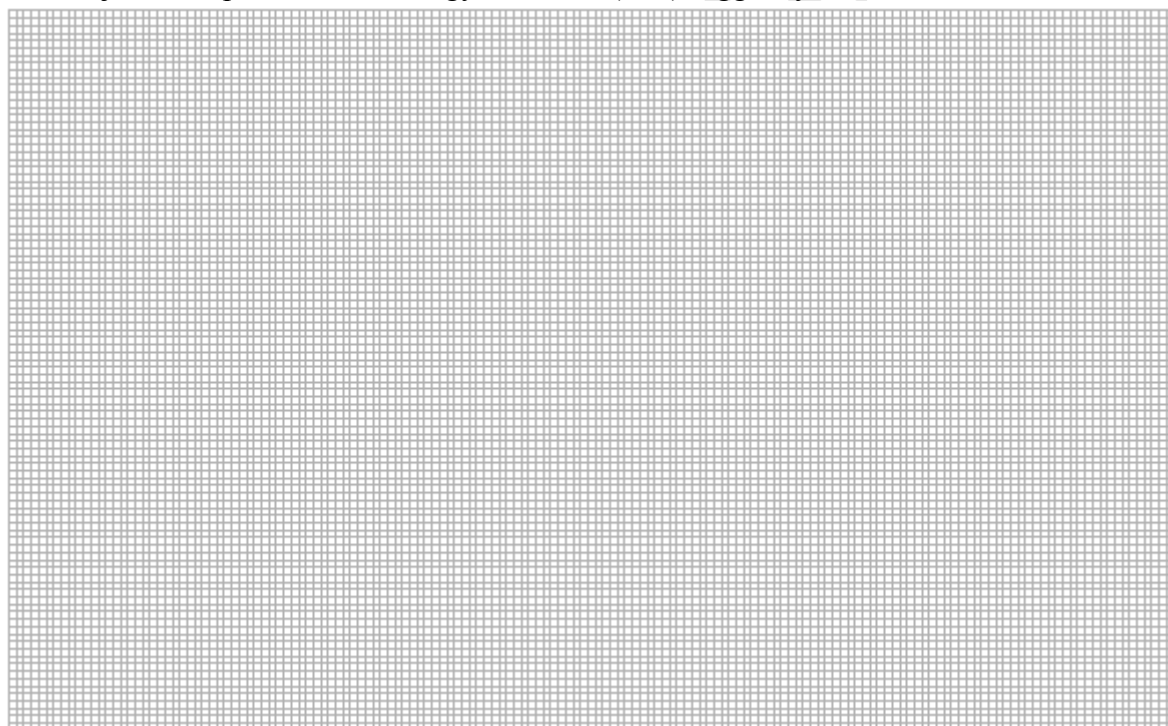
A HCl oldat száma:

A HCl oldat térfogata:

NaOH oldat koncentrációja: 0,1 M

0,1 M NaOH fogyás (cm ³)	pH
0,0	
5,0	
7,5	
9,0	
10,0	
11,0	
12,5	
20,0	

Ábrázolja a mért pH értékeket a fogyott NaOH (cm³) függvényében!



Az oldat pH-értéke az ekvivalenciaponton:

Az ekvivalenciaponthoz tartozó 0,1 M NaOH fogyás: cm³.

Számítás

A HCl oldat pontos koncentrációja: M

4. feladat. Gyenge sav elektrometriás titrálása

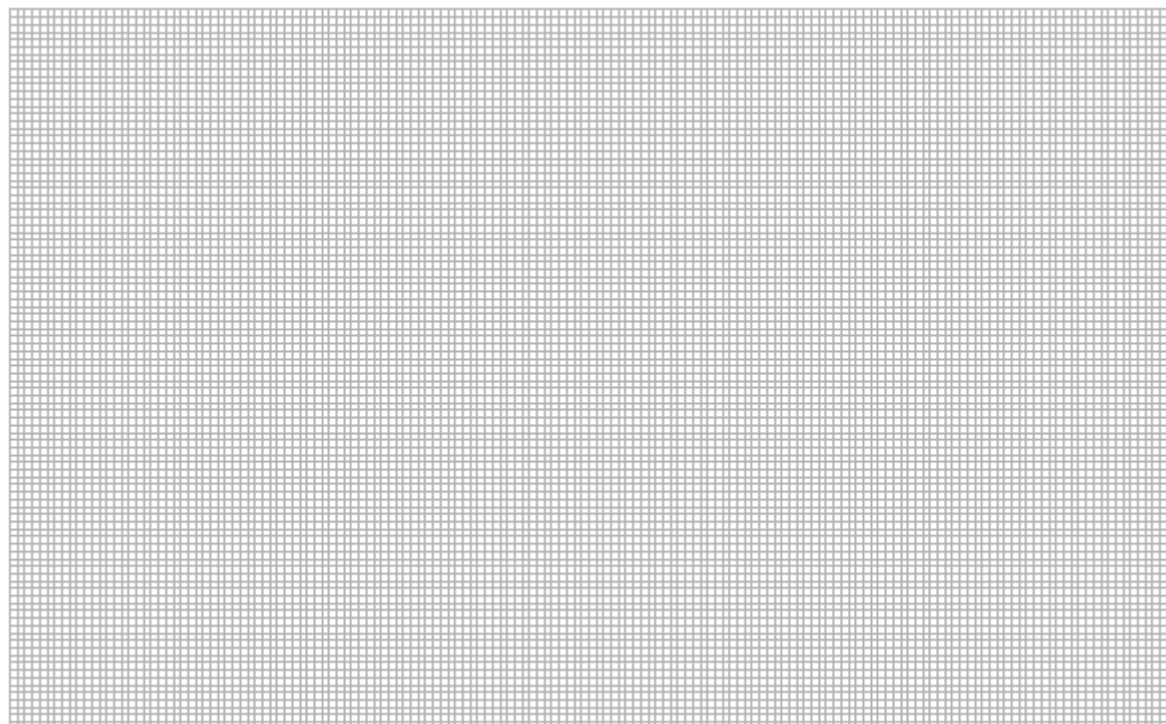
A CH₃COOH oldat száma:

A CH₃COOH oldat térfogata:

NaOH oldat koncentrációja: 0,1 M

0,1 M NaOH fogyás (cm ³)	pH
0,0	
2,0	
5,0	
8,0	
9,0	
10,0	
11,0	
12,0	
15,0	
20,0	

Ábrázolja a mért pH értékeket a fogyott NaOH (cm³) függvényében!



Az oldat pH értéke az ekvivalenciaponton:

Az ekvivalenciaponthoz tartozó 0,1 M NaOH fogyás: cm³

Számítás:

A CH₃COOH oldat pontos koncentrációja: M.

Miért tér el az ecetsav és a sósav titrálási görbéje?

5. feladat. *Pufferkapacitás vizsgálata*

Az ismeretlen száma:

(a) *Savval szembeni pufferkapacitás*

fogyott 0,1M HCl (cm ³)	kezdeti pH	végző pH	Δ pH	pufferkapacitás

Számítás

(b) *Lúggal szembeni pufferkapacitás*

fogyott 0,1M NaOH(cm ³)	kezdeti pH	végző pH	Δ pH	pufferkapacitás

Számítás

KROMATOGRÁFIA

A *kromatográfia* (szóösszetétel, a görög χρώμα: kroma, szín és a γραφειν: *grafein*, írni szavakból áll össze) gyűjtőfogalma azon laboratóriumi eljárásoknak, amelyeket keverékek elválasztásához használunk.

A kromatográfiában használatos alapfogalmak

- A *mozgó fázis* az oldószerből és a benne oldott, elválasztandó anyagokból álló keverék, amely az álló fázison keresztül mozog.
- Az *álló fázis* egy olyan anyag, amely helyhez kötött az elválasztási folyamat során, illetve a mozgó fázis és az elválasztandó anyagok rajta keresztül mozognak, illetve hozzá kötődnek.
- A *retenció idő* az a jellemző idő, mialatt egy bizonyos molekula egy bizonyos kromatográfiás elválasztás során, kontrollált körülmények között keresztülhalad a kromatográfiás rendszeren.
- Az *eluens* egy oldószer elegy, ami a mozgó fázist alkotja.
- A *kromatogramm* a kromatográfiás elválasztás vizuális megjelenítése. Az egyes megjelenő csúcsok, vagy mintázatok az elválasztott keverék egyes összetevőit jelenítik meg.

A kromatográfia elmélete

A kromatográfiás elválasztás során a molekulák álló- és a mozgó fázis közötti eltérő megoszlását használjuk ki a keverékek elválasztására. A keverékek komponensei az álló fázissal töltéseik, relatív oldhatóságuk, vagy abszpció alapján léphetnek kapcsolatba.

A kromatográfiás elválasztás folyamatának megértéséhez induljunk ki abból a feltételezésből, hogy a mozgó- és az álló fázis egyensúlyban van. A megoszlási hányados (K), amely leírja az elválasztandó anyagok megoszlását a következő egyenlet definiálja:

$$K = \frac{\text{Az elválasztandó anyag koncentrációja az álló fázisban}}{\text{Az elválasztandó anyag koncentrációja a mozgó fázisban}}$$

A K független a koncentrációtól, és változhat, ha a kísérleti körülmények megváltoznak, például ha a hőmérséklet emelkedik vagy csökken. A K értékének növekedésével az elválasztandó anyag egyre erősebben kötődik az álló fázishoz, vagyis egyre lassabban mozdul a mozgó fázishoz képest.

A retencióval egy adott anyag vándorolási sebességét jellemezzük, amellyel egy adott kromatográfiás rendszerben mozog. A papírkromatográfiában a retenciót a *retenció faktorral* (R_f) fejezzük ki, amely az adott anyag és az eluens frontja által megtett út hányadosa:

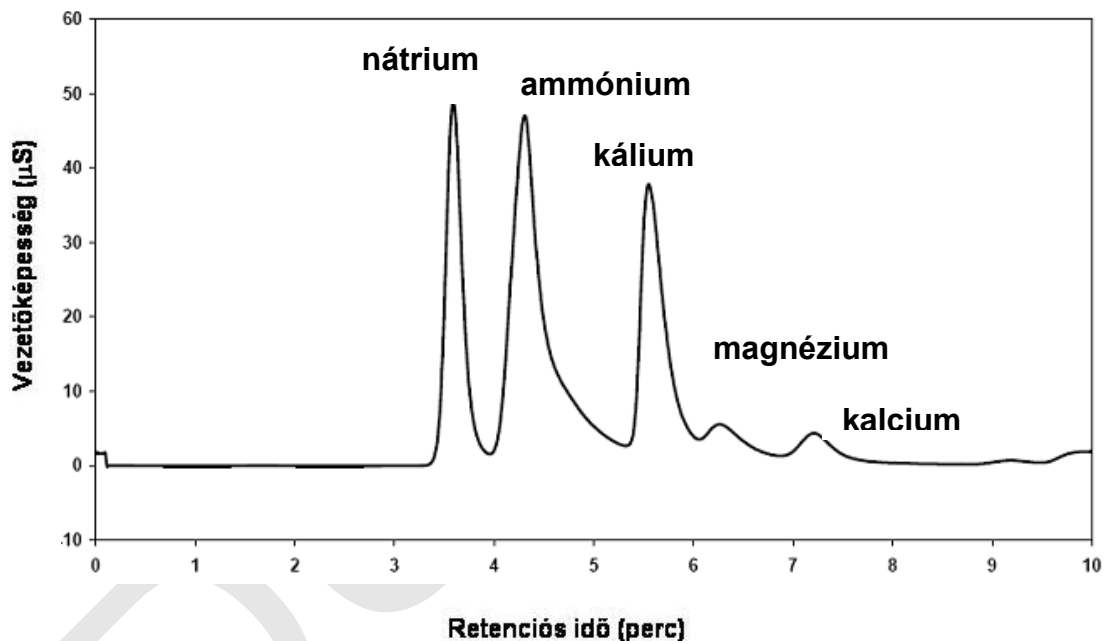
$$R_f = \frac{\text{Az elválasztandó anyag által megtett út}}{\text{Az oldószerfront által megtett út}}$$

Az R_f értéke 0 és 1 között változhat ($R_f = 1$ esetén az elválasztandó anyag az eluenssel együtt mozog, míg ha az $R_f = 0$, akkor az anyag nem mozdul el a felvitel helyéről).

Oszlopkromatográfiában, amikor az elválasztott anyagok az eluenssel együtt eluálódnak, a retenciót retenciós idővel jellemezzük. A retenciós idő (t_R) a mintafelvitel és a minták detektálása között eltelt idő.

A kromatográfiás elválasztás a mintafelvitellel kezdődik, amit a minták futtatása követ. A futás során a mozgó fázis mozgása elkezdődik, és a kromatográfiás elválasztás megtörténik. A folyamat végpontjának megállapítása történhet az elválasztandó anyagok mozgásának követésével, vagy ezen anyagok a kromatográfiás rendszerből történő távozásának megfigyelésével. Az elválasztott anyagok futásának grafikus megjelenítését kromatogrammnak nevezzük.

A kromatogramm kvalitatív elemzése során az egyes csúcsokhoz tartozó komponenseket azonosítjuk. Az azonosításhoz az ismeretlen csúcsok helyét jól ismert standardokhoz hasonlítjuk és az azonos helyen megjelenő csúcsok azonos anyagokra utalnak. A kromatogrammból egy adott anyag mennyiségét is meg lehet határozni az elválasztás után. Az egyes anyagok mennyisége arányos a csúcsok magasságával, illetve a görbe alatti területtel. A kvantitatív meghatározáshoz ismert koncentrációjú oldatokkal kalibrálni kell a mérésünket, később ezekhez az oldatokhoz hasonlítjuk az ismeretlen oldatot.



19. ábra Egy tipikus kromatogramm

A vezetőképesség emelkedése jelzi az egyes kationok megjelenését. Az egyes kationok és az egyes csúcsok egymáshoz rendelése a kromatogramm kvalitatív elemzése. A görbék alatti terület arányos az adott anyag mennyiségével. A koncentráció ilyen meghatározását a kromatogramm kvantitatív elemzésének nevezzük.

Papírkromatográfia

A papírkromatográfia (PK) és a vékonyrétegekromatográfia (VRK) együtt a rétegekromatográfiák közé tartoznak. A VRK és a PK közötti alapvető különbség van az állófázis természetében, míg technikai részleteiket tekintve (mintafelvitel, kifejlesztés és detektálás) nagyon hasonlóak.

A PK-ra a gyakorlatban különböző cellulóz papírokat (a Whatman, vagy a Schleicher – Schüll papírok), illetve üvegszálaspapírokat, melyek szilika géleket tartalmaznak. Az álló fázist a papír és a hozzá kapcsolódó víz alkotja, míg a mozgó fázist a szerves oldószer alkotja.

A PK során az elválasztás az alábbi elv szerint zajlik le. Az elválasztandó oldat egy cseppjét a szűrőpapírra cseppentjük és rászárítjuk. A szűrőpapírt egy, az eluens tartalmazó kádba helyezzük. Az eluens a kapilláris erőtől hajtva a papír rostjai mentén áramolni kezd. Amikor az eluens eléri a foltot a beszárított anyag egy része beoldódik. A tovább áramló eluens új, friss felszínhez ér, ahol az oldott anyagok egy része reszorbeálódik, hogy azon a ponton is beálljon az oldategyensúly. Ugyanakkor tiszta eluens érkezik ugyanarra a területre és a lerakott anyagok újra beoldódnak. Ahogy az eluens tovább áramlik az oldott anyagok együtt haladnak vele az eluens vándorlási irányában. Az egyes anyagok vándorlási sebessége attól függ, hogy milyen erősen abszorbeálódnak a cellulózhoz és milyen mértékben oldódnak vissza az eluensben.

Megfelelő idő eltelte után a papírt eltávolítjuk az oldószerből, majd megszárazítjuk, és ha szükséges, a láthatóvá tételéhez szükséges reagenssel kezeljük. A PK-t általában oldatok kvalitatív analizésére használjuk.

Fontos megjegyzés! A kísérlet során puha ceruzát használunk a papíron jelölésre. Ne sértsük meg a papír rostjait!

1. feladat. *Élelmiszerszínezékek elválasztása felszálló papírkromatográfiával*

Ebben a kísérletben élelmiszerszínezékeket fogunk elválasztani. Ezeket a mesterséges élelmiszerszínezékeket ételek vagy italok színezésére használják, ennek megfelelően fontos, hogy pontosan azonosíthatóak legyenek. Az egyes vegyületeket azonosíthatjuk papírkromatográfia során, amennyiben tiszta standard engedélyezett színezékekhez viszonyítjuk az ismeretlen mintákat.

A gyakorlaton az alábbi, a Magyar Szabvány által engedélyezett, élelmiszerszínezékeket vizsgáljuk meg:

Amaranth (málnavörös),

Eritrozín (vörös),

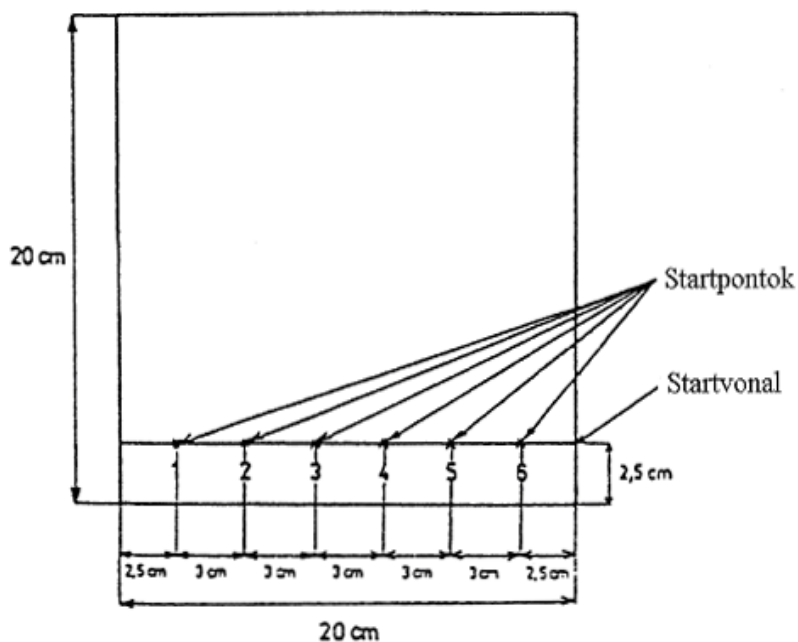
Indigókarmin (kék),

Neukokcín (cseresznyepiros),

Tartrazín (citromsárga).

A kísérlet leírása

Egy 20 X 20 cm-es Whatman No.1 szűrőpapírra rajzoljunk ceruzával az alapjától 2,5 cm-re egy az alappal párhuzamos vonalat, majd ezen a vonalon jelöljük ki 6, egymástól egyenlő távolságra lévő pontot, mint azt a 20. ábrán láthatjuk. A pontokat számozzuk el 1–6-ig.

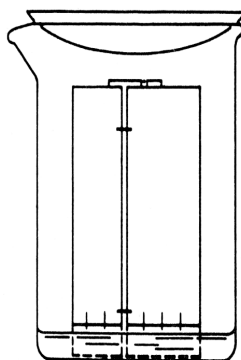


20. ábra. Szűrőpapír előkészítése élelmiszerszínezékek kromatográfiájához

A megjelölt pontokra az alábbi mintákból vigyen fel egy-egy cseppet az eppendorff csövek alatt lévő pipettahegyek segítségével.

Startpont	Minta
1	Amaranth standard oldat
2	Indigókarmin standard oldat
3	Neukocin standard oldat
4	Tartrazin standard oldat
5	Standardok keveréke (1-4)
6	Meghatározandó minta

Hajszárítóval szárítsa meg a felvitt mintákat, majd formáljon hengert a szűrőpapírból és rögzítse a henger végeit tűzőgéppel. Helyezze szűrőpapír hengert egy futtató edénybe, amelyben 1 cm szintmagasságban áll a futtató folyadék (2,5%-os Na-acetát : cc. NH₄OH : deszt.víz = 2 : 5 : 93 elegye). Zárja le a futtató edény fedelét és futtassa meg a kromatográfiát (21. ábra).

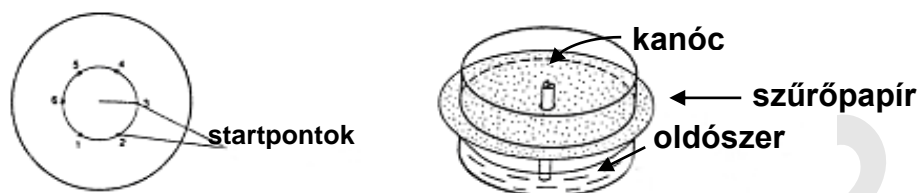


21. ábra Kromatografáló edény felszálló papírkromatográfiához

Amikor az oldószer eléri a papír tetejét vegyük ki a kromatogrammot az edényből és **miután megjelöltük az oldószerfront helyzetét** szárítsuk meg a kromatogrammot. Számítsa ki az egyes foltokhoz tartozó Rf értékeket és a számított Rf értékek, illetve a foltok színe alapján azonosítsa az ismeretlen oldat komponenseit.

2. feladat. *Fémionok elválasztása horizontális papírkromatográfiával*

Ebben a kísérletben kör alakú Schleicher-Schüll vagy Macherey-Nagel szűrőpapírt és horizontális elrendezést fogunk használni. Egy 9 cm átmérőjű szűrőpapír közepére egy 20 Forintos érmével rajzoljon egy kört. Az így kapott íven helyezzen el 6 pontot egymástól egyenlő távolságra és számozza meg 1 – 6-ig. (22. ábra). Lyukassza ki a szűrőpapír közepét.



22. ábra Szűrőpapír előkészítése horizontális papírkromatográfiához és a kromatogramm kifejlesztése

Az alábbi oldatokat vigye fel a megfelelő pontokra:

Startpont	Minta
1	NiSO ₄ oldat
2	Co(NO ₃) ₂ oldat
3	CuSO ₄ oldat
4	FeCl ₃ oldat
5	A standard oldatok keveréke
6	Ismeretlen minta

A kiadott négyzet alakú szűrőpapír darabból formáljon egy vékony oszlopot, amit illesszen a kör alakú szűrőpapíron kialakított lyukba. Öntsön friss eluent (acetone: 20 %-os HCl = 88 : 12 elegye) egy Petri csészébe, majd helyezze a Petri-csészébe a kör alakú szűrőpapírt, úgy, hogy a kisméretű, utólag beillesztett szűrőpapírdarab beleérjen az eluensbe. Fedje le a Petri-csészét a tetejével (22. ábra).

A kromatogrammot addig engedje futni, amíg 1 cm-re meg nem közelíti az oldószerfront a papír szélét. Vegye ki a kromatogrammot, dobja el a kanócként használt szűrőpapírdarabot. Jelölje meg az oldószerfront helyét a papíron körben, majd szárítsa meg a papírt. Vizsgálja meg a fémionok színét és rögzítse a jegyzőkönyvébe. Bár a fémionoknak van saját színük, a jobb láthatóság érdekében rubeánsavval permetezzük be a papír teljes felszínét, és újra megszáritjuk a papírt. A fémionok színes foltokat fognak adni:

Ion	Szín
Ni ²⁺	kék
Co ²⁺	sárga
Cu ²⁺	zöldesbarna
Fe ²⁺	sárgásbarna

Azonosítsa az ismeretlen oldat komponenseit!

Kérdések

- Mi a kromatográfia alapja?
- Mi az eluens?
- Mi a mozgó fázis?
- Mi az állófázis?
- A papír kromatográfiában esetében mi alkotja az egyes fázisokat?
- Mit jelent az R_f ?
- Hogyan számítható ki az R_f értéke?
- Az R_f milyen értékeket vehet fel?
- Ismertesse az élelmiszerszínezékek azonosítására alkalmazott felszálló kromatográfiát!
- Ismertesse a fémionok azonosítására alkalmazott horizontális kromatográfiát!
- Hogyan azonosítható egy ismeretlen anyag kromatográfiás eljárásokkal?

Gyakorlat

1. feladat. Élelmiszerszínezékek elválasztása felszálló papírkromatográfiával

Dátum:

Ismeretlen minta sorszáma:

Papír: Whatman No.1

Eluens: 2.5% (m/v) Na-acetát - cc. NH₄OH - víz (2:5:93)

Futási idő: perc

Oldószerfront által megtett út: cm

Startpont	színezék	A folt színe	Az adott folt által megtett út (cm)	R _f
1.	Amaranth			
2.	Indigokarmin			
3.	Neukokcin			
4.	Tartrazin			
5.	Keverék (standard) 1. folt 2. folt 3. folt 4. folt			
6.	Ismeretlen minta 1. folt 2. folt 3. folt			

..... számú ismeretlen élelmiszer-színezék összetétele:

2. feladat. Fémionok elválasztása horizontális papírkromatográfiával

Dátum:

Ismeretlen minta sorszáma:

Papír: Macherey-Nagel (9 cm átmérőjű)

Futtató folyadék: aceton: 20%-os HCl (88:12)

Futtatási idő: perc

Oldószerfront által megtett út: cm

Start-pont	Fémionok	A folt színe		A megtett úthossz (cm)	R _f
		az első szárítás után	rubeánsavas előhívás után		
1.	Ni ²⁺				
2.	Co ²⁺				
3.	Cu ²⁺				
4.	Fe ²⁺				
5.	Keverék (standard) 1. folt 2. folt 3. folt 4. folt				
6.	Minta 1. folt 2. folt				

..... számú minta a következő fémionokat tartalmazza:

Ioncserélő kromatográfia

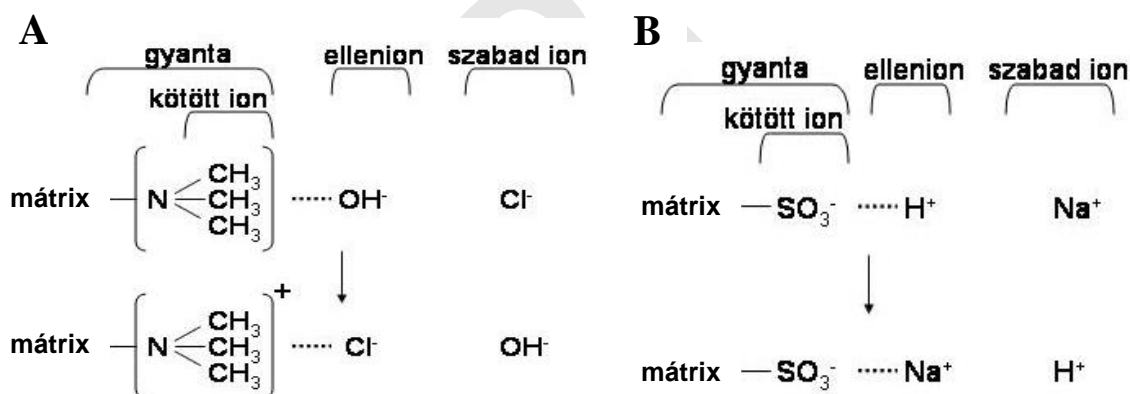
Az ioncserélő kromatográfia során egy szilárd mátrixhoz kötődő ionok cseréje történik meg a mátrixot körülvevő oldat ionjaival.

A szilárd mátrixot *ioncserélőnek* nevezzük. Az ioncserélőt oldhatatlan anyag (*mátrix*) alkotja, mely áthatolható belső molekuláris szerkezettel rendelkezik és felszínén kovalensen kötött töltéssel rendelkező csoportok (*kötött ionok*). A kötött ionok töltését disszociálisan *ellenionok* egyensúlyozzák ki. Az ellenionok „kicserélhetőek” egyéb, azonos töltésű, a mátrixot körülvevő oldatban találhatóak ionokra.

Az ellenionok töltésétől függően megkülönböztetünk kation- és anioncserélő kromatográfiát. Ha a mátrix fix ionjai pozitív töltésűek, akkor ezzel szemben negatív ellenionok találhatóak, az ilyen ioncserélő gyantát anioncserélőnek nevezzük. Ezzel szemben, ha a mátrix fix ionjai negatív töltésűek, akkor ezzel szemben pozitív ellenionok találhatóak, az ilyen ioncserélő gyantát kationcserélőnek nevezzük.

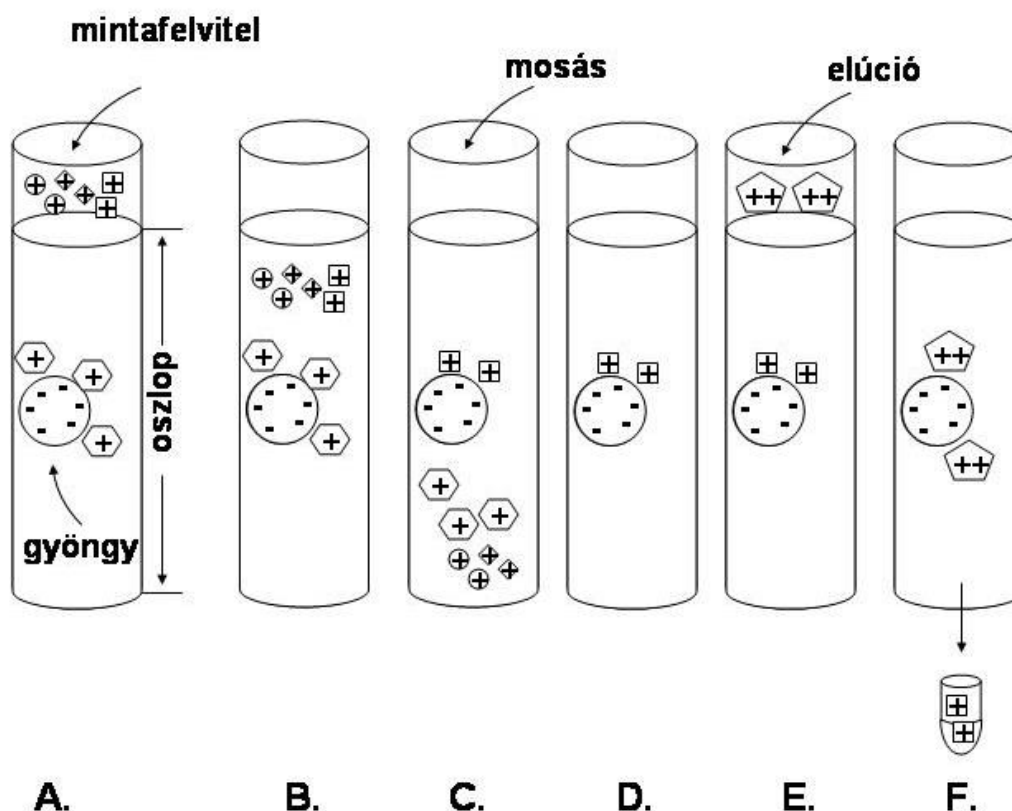
A mátrixot nagy molekulatömegű, keresztkötött polimer alkotja. Az *anioncserélő gyanták* felszínén aminocsoportok (általában kvaterner ammónium csoportok) találhatóak. A kvaterner ammónium csoportok pozitív töltését ekvimoláris mennyiségű OH⁻-ion egyensúlyozza ki. Ezek az ionok egy NaCl oldatból kicserélődnek a Cl⁻-ionokra (23.A ábra).

A *kationcserélő gyanták* szulfo-, karboxil-, vagy fenol csoportokat hordoznak a felszínükön, amelyek negatív töltésűek. A negatív töltéseket ekvimoláris mennyiségű kation (pl. H⁺-ionok) egyensúlyozza ki. NaCl oldat ioncserélő kromatográfiája során a H⁺-ion Na⁺-ionra cserélődik ki (23.B ábra).



23. ábra. Az anion (A) és a kationcsere (B) folyamata

Az ioncserélő kromatográfia általánosan elterjedt és alkalmazott technika a biokémiában fehérjék vagy nukleinsavak (cDNS vagy RNS) tisztítására. Az elválasztás során az oszlopot a megfelelő pufferrel ekvilibrálnak, majd felvisszük a mintát. Az elválasztandó molekula a mátrixhoz kötődik az ellenionok leszorítása után. A gyantához nem kötődő anyagokat mosással eltávolítjuk. A kötött molekulák eluálhatóak az oszlopról magas ionerejű pufferrel történő oldattal való mosással (24. ábra).



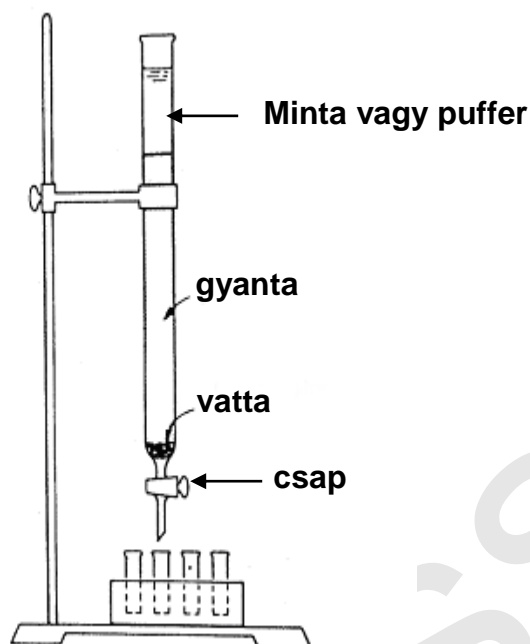
24. ábra. A kationcsere vázlata

- A gyantát ekvibráljuk a megfelelő ellenionokkal és a mintákat felvisszük az oszlopra.
- A minták behatolnak az gyantaszemcsék közé.
- Az elválasztandó ion kötődik a negatív töltésű gyantaszemcsékhez az ellenionok eltávolításával.
- A nem kötődő anyagokat mosással eltávolítjuk.
- Megkezdjük az elúciót az elúcióhoz szükséges magas ionerejű oldattal. Az elúciós oldatok kationjai erősebben kötődnek a gyantához az elválasztandó anyagnál.
- Az elválasztandó anyag helyet cserél az újonnan felvitt kationnal és távozik, eluálódik az oszlopról. Az elválasztott anyagot összegyűjtjük.

1. feladat. Kationcserélő kromatográfia

Ebben a kísérletben NaCl oldat kationcserélő kromatográfiáját fogjuk elvégezni. A NaCl oldat Na^+ -ionjait cseréljük le a gyanta H^+ -ionjaira (ezek az eredeti ellenionok!). Az inoncserélő gyantát kromatográfias oszlopba helyezték.

FONTOS! A gyantát ne hagyjuk soha kiszáradni, állandóan legyen rajta folyadék! Az oszlop átfolyási sebessége ne haladja meg a $2 \text{ cm}^3/\text{perc}$ sebességet.



25. ábra. A kromatográfias oszlop felépítése

A NaCl oldat felvitele

Helyezzünk egy Erlenmeyer lombikot az oszlop alá. Engedjük ki a felesleges vizet az oszlopból. Amikor a vízfelszín éppen eléri a gyanta szintjét zárjuk el a leeresztő csapot és mérjük pipettával 5 cm^3 ismeretlen NaCl oldatot az oszlop tetejére.

Helyezzünk egy új, üres és tiszta Erlenmeyer lombikot az oszlop alá.

Nyissuk meg a csapot és engedjük, hogy a sóoldat belépjen a gyantába. Gyűjtjük a kifolyó oldatot ez Erlenmeyer lombikba. Amikor a NaCl oldat szintje egyvonalba ér a gyanta szintjével zárjuk el az oszlopot.

Elúció

- Pipettával vigyen fel $3 \times 10\text{ cm}^3$ vizet az oszlopra.
- Nyissa meg az oszlopot és gyűjtse az eluálódó oldatot továbbra is ugyanabba az Erlenmeyer lombikba.
- **Mérjen ki $2 \times 10\text{ cm}^3$ eluálódott oldatot két új Erlenmeyer flaskába.**

Mérés

Határozza meg a két minta HCl tartalmát 0.1 M NaOH oldattal történő titrálással metilnarancs indikátor jelenlétében.

2. feladat. Anion cserélő kromatográfia

A maradék kation cserélt eluátum (az 1. feladtból) 2 cm^3 -ét vigyük fel az anioncserélő oszlopra, majd mossuk tovább az oszlopot 10 cm^3 deszt.vízzel. Gyűjtjük a kifolyó oldatot egy Erlenmeyer lombikba.

A lecsepegő oldatnak **ellenőrizze a pH-ját** indikátorpapírral és a **Cl^- tartalmát** AgNO_3 oldattal. Vesse össze a felvitt és az eluált minták pH-ját és Cl^- -reakcióját.

Minta feladat

A kísérletben 5 cm^3 NaCl oldatot vetettünk alá kationcserélő kromatográfiának. Az oszlopra 5 cm^3 oldatot vittünk fel, majd az oszlopot 30 cm^3 vízzel mostuk, és 35 cm^3 eluent gyűjtöttünk a kísérlet során. Az eluensből $3 \times 10 \text{ cm}^3$ mintát $0,1 \text{ M}$ NaOH oldattal titráltuk.

A három párhuzamos titrálás az alábbi eredményt adta:

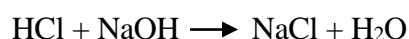
1. titrálás: $9,9 \text{ cm}^3$
2. titrálás: $10,2 \text{ cm}^3$
3. titrálás: $10,2 \text{ cm}^3$

A titrálások átlaga: $(9,9 \text{ cm}^3 + 10,2 \text{ cm}^3 + 10,2 \text{ cm}^3) / 3 = 10,1 \text{ cm}^3$
 $10,1 \text{ cm}^3$ $0,1 \text{ M}$ NaOH oldat NaOH tartalma:

$$\begin{array}{rcl} 1000 \text{ cm}^3 \text{ oldat} & & 0,1 \text{ mol NaOH} \\ 10,1 \text{ cm}^3 \text{ oldat} & \times & x \text{ mol NaOH} \end{array}$$

$$x = \frac{(0,1 \text{ mol NaOH} * 10,1 \text{ cm}^3)}{1000 \text{ cm}^3} = 0,00101 \text{ mol NaOH} = 1,01 \text{ mmol NaOH}$$

A titrálás során az alábbi reakció játszódik le:



A NaOH és a HCl aránya 1:1, így a 10 cm^3 minta $1,01 \text{ mmol}$ NaCl-ot tartalmaz. A teljes elúciós térfogat 35 cm^3 (5 cm^3 , az eredeti minta térfogata + 30 cm^3 , a víz térfogata), vagyis a teljes NaCl mennyisége:

$$\begin{array}{rcl} 10 \text{ cm}^3 & & 1,01 \text{ mmol} \\ 35 \text{ cm}^3 & & x \text{ mmol} \\ x = \frac{35 \text{ cm}^3 * 1,01 \text{ mmol}}{10 \text{ cm}^3} = 3,535 \text{ mmol} \end{array}$$

Az oszlopra tehát $3,535 \text{ mmol}$ NaCl-ot vittünk fel.

5 cm^3 NaCl oldatban $3,535 \text{ mmol}$ NaCl található, vagyis a NaCl oldat koncentrációja:

$$c (\text{mol/dm}^3) = \text{NaCl móljainak száma} / \text{a minta térfogata} (\text{dm}^3)$$

$$\begin{array}{l} 3,535 \text{ mmol NaCl} = 0,003535 \text{ mol NaCl} \\ 5 \text{ cm}^3 = 0,005 \text{ dm}^3 \end{array}$$

$$c = 0,003535 \text{ mol NaCl} / 0,005 \text{ dm}^3 = 0,707 \text{ mol/dm}^3$$

Az eredeti NaCl oldat koncentrációja tehát $0,707 \text{ cm}^3/\text{dm}^3$.

Kérdések

Rajzolja le a kationcserélő gyanta szerkezetét a kötött- és az ellenionok jelölésével!

Rajzolja le az anioncserélő gyanta szerkezetét a kötött- és az ellenionok jelölésével!

Írja fel a kationcsere egyenletét!

Írja fel az anioncsere egyenletét!

NaCl oldaton kationcserét végeztünk el, milyen lesz az eluens pH-ja?

Gyakorló feladatok

1. NaCl oldatot kationcserélő kromatográfiás oszlopon futtattunk. Az oszlopra 10 cm^3 oldatot vittünk fel és az oszlopot 20 cm^3 vízzel mostuk. A 30 cm^3 eluálódott oldatot $3 \times 10\text{ cm}^3$ részekre osztva $0,1\text{ NaOH}$ oldattal titráltuk. A titrálások eredménye a következő: $15,2\text{ cm}^3$, $14,9\text{ cm}^3$ és $15,0\text{ cm}^3$. Mi volt a NaCl oldat eredeti koncentrációja?

2. NaCl oldatot anioncserélő kromatográfiás oszlopon futtattunk. Az oszlopra 5 cm^3 oldatot vittünk fel és 30 cm^3 vízzel mostuk. A 35 cm^3 eluálódott oldatot $3 \times 10\text{ cm}^3$ részekre osztva $0,1\text{ HCl}$ oldattal titráltuk. A titrálások eredménye a következő: $5,2\text{ cm}^3$, $4,9\text{ cm}^3$ és $5,0\text{ cm}^3$. Mi volt a NaCl oldat eredeti koncentrációja?

Gyakorlat

1. feladat. Kationcserélő kromatográfia

Dátum:

Az ismeretlen minta sorszáma:

Kationcserélő gyanta: Varion KS kationcserélő gyanta

Eluens: desztillált víz

Átfolyási sebesség: cm^3/min

A felvitt NaCl oldat térfogata: cm^3

Az eluálódott oldat térfogata: cm^3

Titrálás

A titrált oldat térfogata:

Titráláshoz használt oldat: 0,1 M NaOH

1. titrálás: cm^3

2. titrálás: cm^3

A titrálások átlaga: cm^3

Számítás

A felvitt minta NaCl tartalma: mmol

A NaCl oldat eredeti koncentrációja: mol/dm^3

2. feladat. *Anion cserélő kromatográfia*

	pH	Cl ⁻
Ismeretlen NaCl oldat		
Kationcserélőről kapott eluátum		
Anioncserélőről kapott eluátum		

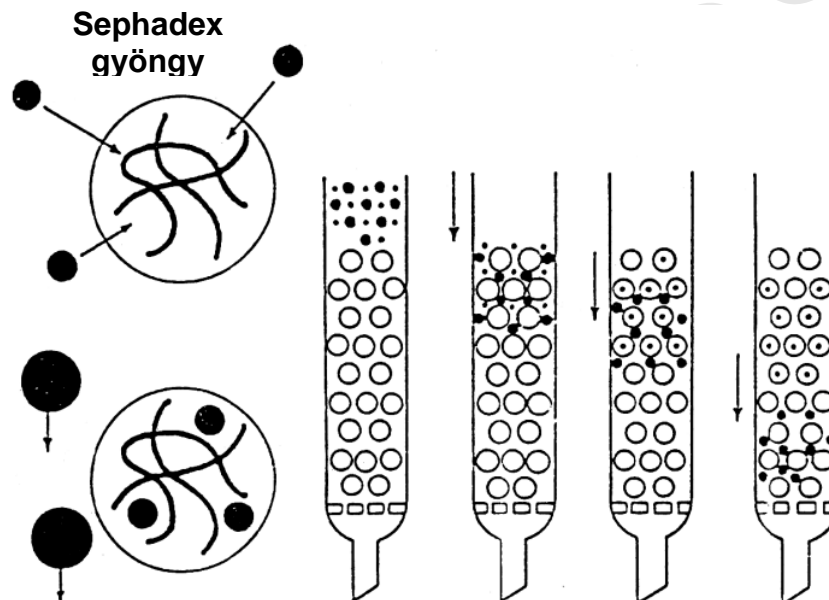
Írja le a kationcsere, az anioncsere és a Cl⁻-tartalmat kimutató reakció egyenletét.

DUPress

Gélszűrés

A gélszűrés vagy gélkromatográfia a megoszlási kromatográfiák közé tartozik, ebben az esetben az elválasztandó anyagok mérete az elválasztás alapja. A mozgó fázis a kísérletben használt puffer, míg az álló fázis egy porózus *gél*. A gél pórusait a mozgó fázist alkotó oldat tölti ki. A gél makromolekulák alkotják (dextrán, agaróz, vagy poliakrilamid), amelyet jól nedvesít az alkalmazott oldószer. Ezek a gélek általában kovalensen keresztkötött szerkezetűek, amelyek háromdimenziós oldhatatlan hálózatot képeznek.

A gélben az elválás azon alapszik, hogy a minta egyes molekulái méretükből adódóan más-más eséllyel képesek belépni a gél pórusaiba. Nagyméretű molekulák sosem képesek belépni az álló fázisba, így keresztülfutnak a gél darabjai közötti nagyméretű csatornáknak gyorsan, anélkül, hogy bármi is visszatartaná. Kisebb molekulák, melyek képesek belépni a gél pórusaiba, az előbbinél lassabban futnak végig az oszlopon, mert az álló fázis kisebb pórusaiba belépve lassabban képesek mozogni. Vagyis a molekulák méretüknek megfelelően eluálódnak az oszlopról (26. ábra).



26. ábra. A gélszűrés folyamata

○ gél gyöngyök, • • kis és nagyméretű molekulák

Kísérletünkben Sephadex G-25 töltetet fogunk használni. A Sephadex G terméknév pontosan definiálja a gél kémiai összetételét, a Sephadex G típusú tölteteket dextrán alkotja. Az egyes Sephadex G töltetek más-más molekulatömeg tartományban képesek az oldott anyagok elválasztására. A megadott tartomány feletti molekulatömegű anyagok teljesen kizáródnak a gélből, nem képesek belépni a gyöngyök pórusaiba, ezt a felső molekulatömeget *kizárási molekulatömegnek* nevezzük. A kizárási molekulatömegnél nehezebb molekulák eluálódnak az oszlopról először, azonban nincs közöttük elválás! A molekulatömeg tartomány alsó határa alatti molekulatömegű molekulák utoljára eluálódnak, és hasonlóan nincs közöttük elválás. A Sephadex G-25 töltetek elválasztási tartománya 1000-5000 Da és a kizárási molekulatömeg 5000 Da.

A gélkromatográfias oszlopok esetében nincs szükség regenerálásra, az elválasztás után, ha meggyőződünk arról, hogy a felvitt anyagok teljes egészében eltávoztak a gélből, újra használhatjuk az oszlopot.

1. Kísérlet Tojásfehérje sómentesítése gélszűréssel

- Számozzon fel két sorozat kémcsövet 1-től 12-ig.
- Helyezzen egy üres főzőpoharat az oszlop alá.
- Használat előtt mossa át a gélagyat 5 cm^3 pufferoldattal. Az átfolyási sebességet állítsa $0,5\text{-}1 \text{ cm}^3/\text{perc}$ sebességre stopper és a kiadott mérőhenger segítségével. Amikor a pufferoldat szintje eléri a gélagyat zárja el az oszlopot.
- Pipettával mérjen 1 cm^3 tojásfehérje- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ oldatot a géltre. Az oszlopot megnyitva engedje belépni az oldatot a gélagyba. Amikor az oldat szintje eléri a gélagyat zárja el az oszlopot.
- Helyezze az egyik felszámozott kémcsősorozatot az oszlop alá és az oszlopot megnyitva 1 cm^3 -es frakciókat gyűjtsön ($1 \text{ cm}^3 \sim$ egy ujjbegynyi oldat). Természetesen az oszlopot a szükséges mennyiségű pufferrel mossa a kísérlet során.
- Töltse a frakciók kb. felét a másik kémcsősorozatra. Az egyik sorozatban végezze el SO_4^{2-} ionok kvalitatív meghatározását, minden csőhöz adjon 1 cm^3 BaCl_2 oldatot. A másik sorozat esetében határozza meg az oldatban lévő fehérjéket, minden csőhöz adjon 2 cm^3 Biuret reagenst.

Kérdések

Mi a gélszűrés elve?

Gélszűrés során mi az álló és mi a mozgó fázis?

Mit nevezünk kizárási molekulatömegnek?

Hogyan lehet ammónium-szulfát pufferben oldott tojásfehérje oldatot gélszűréssel sómentesíteni?

Gyakorlat

1. feladat. Tojásfehérje sómentesítése gélszűréssel

Dátum:

Gél típusa: Sephadex G-25 töltet

Átfolyási sebesség: 0,5 cm³/min

Elválasztandó minta: 1 cm³ tojásfehérje-(NH₄)SO₄ oldat

Puffer: 0,01 M Na-β glicerofoszfát (pH 6,8)

Frakciók térfogata: 1 cm³

Frakció sorszáma	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Fehérjetartalom												
SO ₄ ²⁻ tartalom												

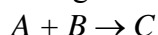
(A fehérje kimutatása biuret, a SO₄²⁻ kimutatása BaCl₂ reagenssel történik. Jelölje +-szal a pozitív reakciót adó frakciókat. A színintenzitás ill. csapadékképződés mértékét +++, ++, + és - jelekkel érzékeltesse.)

A számú frakciók tartalmazzák a sómentes fehérjét.

A számú frakciók tartalmazzák az NH₄SO₄ sót.

REAKCIÓKINETIKAI VIZSGÁLATOK

A reakciókinetika a kémiai folyamatok sebességét meghatározó törvényszerűségekkel és a reakciómechanizmus felderítésével foglalkozik. Egy kémiai reakció sebességén a reakcióban résztvevő anyagok koncentrációjának időegység alatt bekövetkező változását értjük. A következő egyirányú reakció sebességét többféleképpen is kifejezhetjük;



$$v = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = \frac{d[C]}{dt}$$

ahol v a reakciósebességet, $[A]$, $[B]$ és $[C]$ a kiindulási anyagok illetve a termék koncentrációját, t az időt jelentik. Az előjelek arra utalnak, hogy a reakciósebességet a kiindulási anyagok (- jel) vagy a termékek (+ jel) egyikére is vonatkoztathatjuk.

Az előző kémiai reakció kezdeti sebességét a kiindulási anyagok koncentrációja és a reakciókörülmények határozzák meg;

$$v = k[A]^m[B]^n$$

ahol k a reakció sebességi állandója, amely adott reakció esetén csak a hőmérséklettől függ és $m+n$ a reakció rendűsége.

Kinetikusan elsőrendű reakciók sebessége egyetlen anyag koncentrációjával arányos, felezési ideje - az az időtartam, amely alatt az átalakuló anyag koncentrációja a kezdeti értéknek felére csökken - pedig független a kezdeti koncentrációtól.

$$v = k[A]$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

Így a kinetikusan elsőrendű reakciók a sebességi állandó mellett a felezési idővel is jól jellemezhetőek.

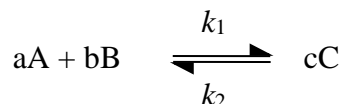
Kinetikusan másodrendű reakciók sebessége egy anyag koncentrációjának négyzetével, ill. két anyag koncentrációjának szorzatával arányos.

$$v = k[A]^2 \text{ vagy } v = k[A][B]$$

A felezési idő az első esetben fordítottan arányos a kezdeti koncentrációval, $[A]_0$.

$$t_{1/2} = \frac{1}{k[A]_0}$$

A reakciók kinetikus rendje csak elemi reakció esetén egész szám. A legtöbb folyamatban pl. az összetett reakciókban a reakció kinetikus rendje törtérték. Az összetett reakciók közé tartoznak az egyensúlyra vezető folyamatok, amelyekben a reakció termékei egyben az ellentétes irányú folyamat kiindulási anyagai.



Az egyensúlyi folyamat bruttó sebessége a két ellentétes irányú folyamat sebességének a különbsége.

$$v = v_1 - v_2$$

Egy idő múlva beáll az egyensúlyi állapot, azaz az előre- és visszahaladó reakciók sebessége egyenlővé válik.

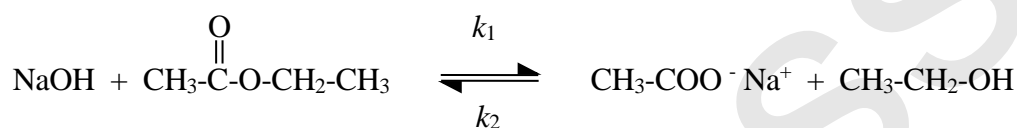
$$v_1 = v_2$$

Egyensúlyban levő rendszerben adott körülmények között az anyagok koncentrációja (egyensúlyi koncentráció) nem változik az időben és a folyamat bruttó sebessége nulla, $v = 0$.

A kémiai reakciók sebességét a kiindulási koncentrációk és a hőmérséklet megváltoztatásával, valamint katalizátorok alkalmazásával lehet befolyásolni. A katalizátor növeli a reakció sebességét, de az egyensúlyt nem befolyásolja.

Az etilacetát elszappanosításának vizsgálata

Az etilacetát elszappanosítása során NaOH hatására nátrium-acetátra és etil-alkoholra hidrolizál:



Kezdetben az etilacetát és a nátrium hidroxid koncentrációja magas, de a termékek még nincsenek jelen a reakcióelegyben. Ekkor a reakció egyirányúnak tekinthető, mivel a termékek hiányában a visszaalakulás elhanyagolható. A reakció sebességét a reagáló anyagok koncentrációja határozza meg;

$$v_1 = k_1 [\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5] [\text{NaOH}]$$

ahol k_1 a reakció sebességi állandó.

A reakció előrehaladtával az elszappanosítás sebessége fokozatosan csökken. Egyrészt azért, mert csökken a kiindulási anyagok koncentrációja, másrészt a termékek mennyiségének emelkedésével a visszafelé haladó reakció is lejátszódik, amelynek sebessége

$$v_2 = k_2 [\text{CH}_3\text{COONa}] [\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}]$$

ahol k_2 a reakció sebességi állandó. A bruttó reakció sebességét a két elemi lépés sebességének különbsége határozza meg.

$$v = v_1 - v_2 = k_1 [\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5] [\text{NaOH}] - k_2 [\text{CH}_3\text{COONa}] [\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}]$$

Egyensúlyban az oda- és visszaalakulás sebessége azonos. A reakciósebesség az egyensúly eléréséig folyamatosan változik, ezért a reakciót a k_1 és k_2 sebességi állandókkal, illetve a felezési idővel lehet jellemezni. A NaOH koncentrációja jól követhető sav-bázis titrálással, ezért a felezési idő könnyen meghatározható. Mivel az elszappanosítás első fázisában a reakció másodrendűnek tekinthető, a felezési idő függ a kiindulási koncentrációtól.

1. feladat. A reakciósebesség vizsgálata szobahőmérsékleten

(a) A NaOH kiindulási koncentrációjának (nulla perces minta) meghatározását külön kísérletben végezze, mivel a reakció sebessége a kezdeti pillanatokban olyan nagy, hogy a mintavétel és a titrálás ideje alatt már lényeges mennyiségű NaOH fogyna. Ennek kiküszöbölésére mérjen Erlenmeyer-lombikba 10 cm³ hűtött desztillált vízhez 5 cm³ 0,25 M NaOH oldatot, majd további hűtés után 5 cm³ etilacetátot és **azonnal** titrálja meg 0,1 M HCl oldattal fenolftalein indikátor jelenlétében. A titrálás végpontját (ekvivalencia pontot) az indikátor színének eltűnése jelzi.

(b) Mérjen négy Erlenmeyer-lombikba 10-10 cm³ desztillált vizet pipettával és állítsa a lombikokat jeges vízbe. Mérjen ki mérőhengerrel 40 cm³ etilacetátot és 40 cm³ 0,25 M NaOH oldatot, majd öntse a két oldatot egy csiszolatos Erlenmeyer-lombikba. A keveréket rázza össze és dugja be a lombikot, nehogy az illékony etilacetát elpárolgása hibát okozzon. Jegyezze fel az összekeverés időpontját, amely a reakció kezdetét jelenti. Mérjen ki a reakcióelegyből 10-10 cm³ mintát 2, 5, 10 és 20 perc után a 10-10 cm³ desztillált vizet tartalmazó, előre lehűtött Erlenmeyer-lombikokba. (A lehűtés és a hígítás az elszappanosítási reakció lelassulását eredményezi.) Mintavétel után **azonnal** titrálja meg a mintákban változatlanul megmaradt NaOH-t 0,1 M HCl oldattal fenolftalein indikátor jelenlétében.

2. feladat. Reakciósebesség vizsgálata 50 °C-on

Ismételje meg az 1.b feladatot úgy, hogy a reagáló anyagokat (40 cm³ etilacetát és 40 cm³ 0,25 M NaOH oldat) 50 °C-os vízfürdőben külön-külön melegítse elő. Az előinkubált két oldatot öntse össze, majd a reakcióelegyet helyezze vissza az 50 °C-os vízfürdőbe. Vegyen a reakció 1, 4, 8 és 12-ik percében 10-10 cm³ mintát az előzetesen lehűtött és 10-10 cm³ desztillált vizet tartalmazó Erlenmeyer-lombikokba. A NaOH kiindulási koncentrációját nem kell újra megmérnie, az 1.a feladatban meghatározott értéket használhatja.

Hasonlítsa össze a két különböző hőmérsékleten végzett reakció kinetikáját, határozza meg a felezési időt és az egyensúly eléréséhez szükséges időt.

Mintafeladatok

1. Az alábbi kémiai reakció mind az A, mind a B anyagra nézve elsőrendű:



Adja meg a reakciósebességi egyenlet.

$$v = k[A][B]$$

2. Számítsa ki egy elsőrendű kémiai reakció felezési idejét, ha $k = 5,7 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$?

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = 0,693/5,7 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1} = 1,22 \times 10^4 \text{ s}$$

Kérdések

Mit értünk reakciósebességen?

Adja meg a reakciósebességi egyenlet általános formáját, definiálja a rendűséget és a reakciósebességi állandót.

Értelmezze az elsőrendű reakciót, adja meg annak általános sebességi egyenletét és felezési idejét.

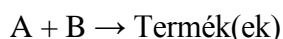
Értelmezze a másodrendű reakciót.

Mi az a három tényező, amely alapvetően befolyásolja a kémiai reakciók sebességét?

Írja fel az etil-acetát elszappanosítási reakciójának egyenletét és sebességi egyenletét.

Gyakorló feladatok

1. Az alábbi kémiai reakció az A anyagra nézve másodrendű, a B anyagra nézve pedig elsőrendű:



Adja meg a reakciósebességi egyenlet.

2. Számítsa ki egy elsőrendű kémiai reakció sebességi állandóját, ha $t_{1/2} = 1600 \text{ s}$?

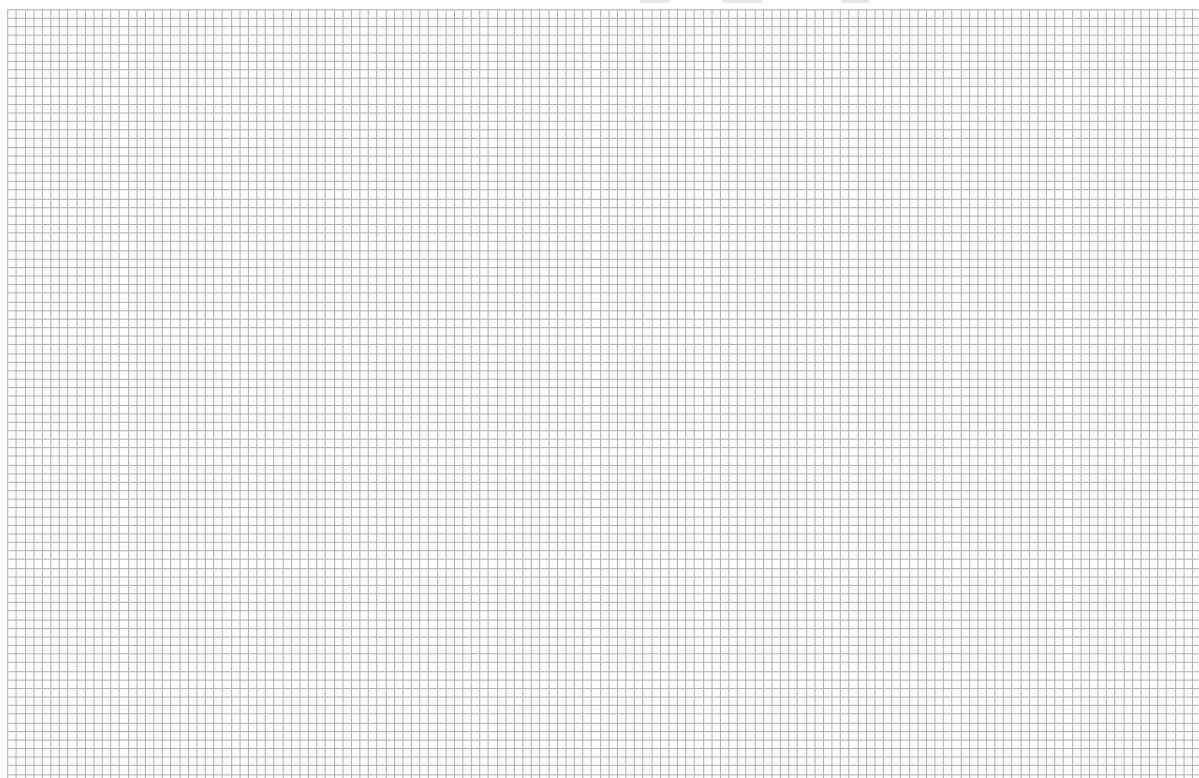
Gyakorlat

Dátum:

A laboratórium hőmérséklete (szobahőmérséklet): °C

Szobahőmérséklet.....°C		50 °C	
t (min)	fogyott HCl (cm ³)	t (min)	fogyott HCl (cm ³)
0		0	
2		1	
5		4	
10		8	
20		12	

A kapott eredményeket ábrázolja grafikusán. Az abszcisszán (x tengely) az időt percekben, az ordinátán (y tengely) a különböző időpontokban fogyott sósavat cm³-ekben tüntesse fel.



Hogyan változott a NaOH koncentrációja az idő előrehaladtával?

Hogyan tudná igazolni, hogy a reakció kinetikusan másodrendű?

A rendszer hány perc múlva érte el az egyensúlyi állapotot

szobahőmérsékleten:

50 °C-on:

Az etilacetát elszappanosítási reakciójának felezési ideje?

szobahőmérsékleten:

50 °C-on:

Hasonlítsa össze a kétféle hőmérsékleten kapott felezési időket!

A hőmérséklet emelése hogyan befolyásolja a reakció sebességét?

Jodidion oxidációjának vizsgálata Landolt-módszerrel

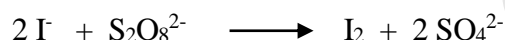
Speciális esetben lehetőség van a reakciósebesség ún. Landolt-módszerrel történő meghatározására. A Landolt-módszer lényege, hogy az időegység alatt átalakult anyagmennyiség helyett egy adott (ismert és a különböző sorozatméréseknél állandó) anyagmennyiségváltozáshoz (Δc) szükséges időt mérjük.

A Δc állandósága esetén a reakciósebesség (v) fordítva arányos a reakció lejátszódásához szükséges idővel (t):

$$v = \frac{\Delta c}{t}$$

A Landolt-módszeralkalmazása csak bizonyos feltételek mellett lehetséges: (1) egy anyag a tanulmányozni kívánt reakció termékei közül valamelyikkel reakcióba lép, azt a képződésénél nagyobb sebességgel elfogyasztja, (2) de nem lép reakcióba a tanulmányozni kívánt reakció kiindulási anyagaival és közttermékeivel, (3) az összetett reakcióban ennek az anyagnak a mennyisége a limitáló tényező.

A jodidionok és a perszulfátionok közötti redoxireakció sebessége a reaktánsok koncentrációjának megfelelő megválasztásával a Landolt-módszerrel kényelmesen mérhető.



Tioszulfát lesz az az alkalmas anyag, amely a reakcióban képződő jóddal gyorsan elreagál.



Mivel a tioszulfátionok és a jód között végbemenő reakció sebessége jóval nagyobb, mint a tanulmányozni kívánt reakcióé, ezért a jód csak a tioszulfát teljes mennyiségének oxidációja után jelenik meg észlelhető koncentrációban. Ha kevés keményítőt is teszünk a reakcióelegybe, akkor a jód megjelenését a reakcióelegyben a jódkeményítő kék színével láthatóvá tehetjük.

1. feladat. A jodidion koncentráció hatása a jodid - perszulfát reakció sebességére szobahőmérsékleten

Négy db 100 cm³-es főzőpohárba mérje össze a következő reakcióelegyeket:

	1. minta	2. minta	3. minta	4. minta
Desztillált víz	10	10	10	10
0,005 M Na ₂ S ₂ O ₃ (cm ³)	10	10	10	10
0,2% keményítő (cm ³)	5	5	5	5
0,2 M KI (cm ³)	12,5	9,4	6,3	3,1
0,2 M KNO ₃ (cm ³)	-	3,1	6,2	9,4

Mérjen 4 db kémcsőbe 12,5 - 12,5 cm³ 0,1 M K₂S₂O₈ oldatot.

Öntse a K₂S₂O₈ oldatokat az összeállított reakcióelegyekhez (1-4. minta) és mérje meg a jódkeményítő kék színének megjelenéséig eltelt időt (az ún. Landolt-időt).

2. feladat. Cu(II)-ionok katalitikus hatásának vizsgálata

A jodidionok és a perszulfácionok közötti redoxireakciót Cu(II)-ionok katalizálják. Mérje meg a Landolt-időt Cu(II)-ionok jelenlétében az 1. feladat 1. minta reakcióelegyet úgy megismételve, hogy a 12,5 cm³ 0,1 M K₂S₂O₈ oldathoz adjon előzetesen 0,4 cm³ 0,01 M CuSO₄ oldatot.

Mintafeladat

Számítsa ki a KI moláris koncentrációját az 1. feladat 1. minta reakcióelegyében.

Bemért KI térfogata = 12,5 cm³

Bemért KI koncentrációja = 0,2 M

A reakcióelegy térfogata = víz térfogata + Na₂S₂O₃ térfogata + keményítő térfogata + KI térfogata + K₂S₂O₈ térfogata = 10 cm³ + 10 cm³ + 5 cm³ + 12,5 cm³ + 12,5 cm³ = 50 cm³

KI hígulása a reakcióelegyben = bemért KI térfogata : reakcióelegy térfogata = 12,5 : 50 = 1 : 4

KI koncentrációja a reakcióelegyben = 0,2 M : 4 = 0,05M

Kérdések

Mi a reakciósebesség Landolt-módszerrel történő mérésének lényege?

Milyen összefüggés van a reakciósebesség és a Landolt-idő között?

Hogyan határozható meg a Landolt-idő a jodid-perszulfát reakcióban?

Hogyan befolyásolja a jodidionok koncentrációja a Landolt-időt és a reakciósebességet a jodid- perszulfát reakcióban?

Hogyan befolyásolja a Cu(II) -ionok jelenléte a Landolt-időt és a reakciósebességet a jodid-perszulfát reakcióban és milyen szerepet töltenek be ezen ionok a reakció során?

Gyakorló feladatok

1. Számítsa ki a KI moláris koncentrációját az 1. feladat 2-4. minta reakcióelegyeiben!

2. Számítsa ki a KNO₃ moláris koncentrációját az 1. feladat 2-4. minta reakcióelegyeiben!

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. A jodidion koncentráció hatásának vizsgálata

A laboratórium hőmérséklete: °C

	1. minta	2. minta	3. minta	4. minta
I ⁻ koncentráció (mol/dm ³)				
Landolt-idő (min)				

Állapítsa meg, hogy a reakcióelegyek I⁻-koncentrációjának változása hogyan befolyásolja a Landolt-időt, illetve a reakciósebességet!

Milyen szerepet tölt be a reakció közegben a KNO₃-oldat?

2. feladat. Katalizátor hatásának vizsgálata

A katalizátor nélküli reakció (1. feladat 1. minta) Landolt-ideje: perc

A katalizált reakció Landolt-ideje: perc

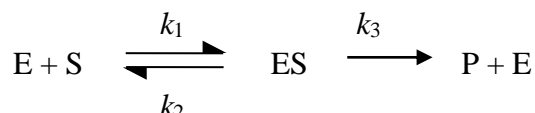
Hasonlítsa össze a katalizált és a nem katalizált folyamat reakciósebességét!

Hogyan befolyásolja a reakció sebességét a katalizátor és miért?

ENZIMREAKCIÓK VIZSGÁLATA

Az enzimek katalitikus funkciójú fehérjék, amelyek az élő szervezetben különféle anyagok (ún. szubsztrátok) átalakulását gyorsítják. Más katalizátorokhoz hasonlóan, az enzimek hatására sem változik meg a termodinamikai egyensúly, a reverzibilis reakciók sebességét mindkét irányban azonos mértékben növelik meg.

L. Michaelis és M. Menten olyan egyszerű kinetikai modellt javasolt 1913-ban, amely szerint az enzim (E) és szubsztrátja (S) komplexet (ES) képez reverzibilis reakcióban (k_1 és k_2 sebességi állandókkal) és tovább alakul (k_3 sebességi állandóval) terméké (P-vé).



A termék nem alakul vissza szubsztráttá, a k_3 folyamat egyirányú, mert a S nagy feleslegben van jelen az E-hez képest. Ha k_1 sokkal nagyobb, mint k_3 , ami a reakciók többségére igaz, akkor az ES koncentrációja, [ES], gyorsan elér egy állandó (*steady-state*) koncentrációt.

A teljes reakció sebességét a termék képződésének sebessége határozza meg.

$$v = k_3[ES]$$

Az ES *steady-state* koncentrációja meghatározható. A *steady-state* állapot viszonylagos állandóságot jelent, amikor az ES keletkezésének sebessége, $v_1 = k_1[E][S]$; megegyezik elbomlásának sebességével, $v_2 = k_2[ES] + k_3[ES] = (k_2 + k_3)[ES]$; és [ES] állandónak tekinthető.

$$k_1[E][S] = (k_2 + k_3)[ES]$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{(k_2 + k_3) / k_1}$$

A három sebességi állandót helyettesítjük egy új konstanssal, az ún. *Michaelis-állandóval*:

$$K_M = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

Így az ES *steady-state* koncentrációja

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M}$$

A S nagy feleslege miatt a *steady state* [S] alig különbözik a bevitt $[S_T]$ -től, $[S_T] \approx [S]$. Másrészt a szabad [E] a bevitt $[E_T]$ -nél jóval kisebb, mert az enzim nagy része ES komplexben van.

$$[E] = [E_T] - [ES].$$

Ezt behelyettesítve az $[ES]$ -t kifejező egyenletbe

$$[ES] = ([E_T] - [ES]) \frac{[S]}{K_M};$$

$$[ES] = [E_T] \frac{[S]}{[S] + K_M}.$$

A termékképződés sebessége

$$v = k_3[ES] = k_3[E_T] \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

A sebesség akkor maximális (v_{\max}), ha az enzim telítve van a szubsztráttal. Ilyenkor $[S] \gg K_M$,

e ezért $\frac{[S]}{[S] + K_M} \cong 1$, és

$$v_{\max} = k_3[E_T]$$

Behelyettesítve a v_{\max} -ot a termékképződés sebességi egyenletébe megkapjuk az enzim-katalizált reakciók *Michaelis-Menten egyenletét*:

$$v = v_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

A Michaelis-Menten egyenletben szereplő két állandó, v_{\max} és K_M , az egyes enzimekre jellemző érték.

A 27A. ábra a Michaelis-Menten egyenlet grafikus ábrázolása. Alacsony $[S]$ -nál, amikor $[S] \ll K_M$, a sebesség egyenesen arányos a S koncentrációjával, $v = v_{\max} [S] / K_M$. Nagy $[S]$ -nál, amikor $[S] \gg K_M$, a sebesség maximális, $v = v_{\max}$, és független a S koncentrációjától.

Ha $v = 1/2 v_{\max}$;

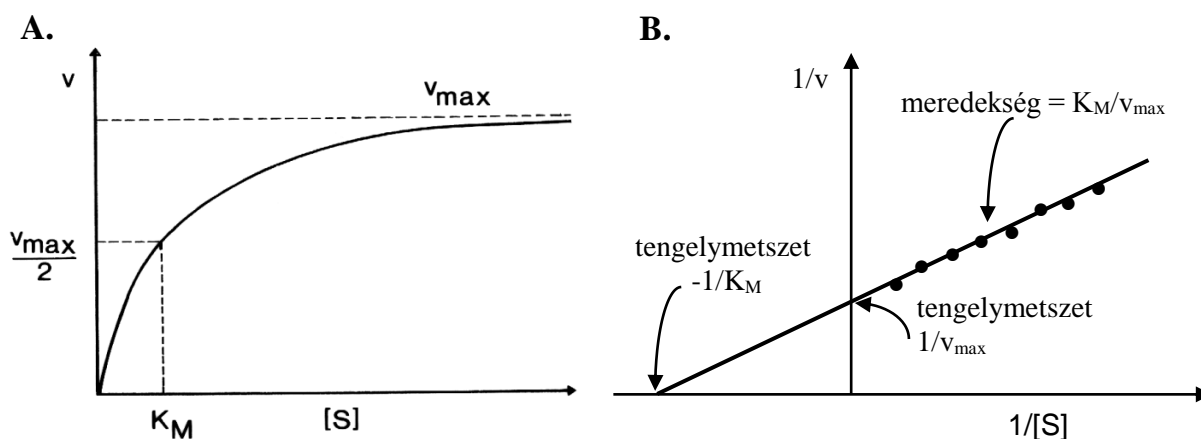
akkor

$$\frac{1}{2} v_{\max} = \frac{v_{\max} [S]}{[S] + K_M};$$

és

$$[S] = K_M.$$

Vagyis K_M az a szubsztrátkoncentráció, ahol az enzimreakció sebessége a maximális reakciósebesség felével egyenlő.



27. ábra. Enzimreakció sebességének változása a szubsztrátkoncentrációval

A. A Michaelis-Menten kinetikát követő enzimekre jellemző a hiperbolikus szubsztráttelítési görbe. v : reakciósebesség, $[S]$: szubsztrátkoncentráció, v_{max} : maximális reakciósebesség és K_M : Michaelis-állandó. **B.** Lineweaver-Burk ábrázolás.

A v_{max} és K_M értékének pontos meghatározása a 27A. ábrán bemutatott grafikon segítségével pontatlan. A hiperbolikus görbe linearizálásával a meghatározás pontossága növelhető. A Lineweaver-Burk technika szerint (27B. ábra) a szubsztrát koncentráció reciprokának ($1/[S]$) függvényében ábrázoljuk a reakció sebesség reciprokát ($1/v$). Az így kapott egyenes tengelymetszete az $1/v$ tengelyen az $1/v_{max}$, míg az $1/[S]$ tengelyen $-1/K_M$ értékeknek felelnek meg.

Az enzimek katalitikus aktivitása nemcsak a szubsztrátkoncentrációtól, hanem a közeg pH-jától, a hőmérséklettől és az ionerősségtől is függ. Az enzim aktivitása érzékenyen befolyásolható különböző aktivátorokkal és inhibitorokkal, amelyek gyorsítják, ill. lassítják a reakció sebességét. Normális anyagcserében az enzimaktivitás aktiválása és gátlása egyaránt fontos szerepet játszik a metabolikus folyamatok szabályozásában. Sok esetben a mérgezések és bizonyos gyógyszerfelvételek hatása is specifikus enzimatis reakciók gátlására vezethető vissza.

Az enzimreakció sebességét, az enzimaktivitást, különféle egységekkel szokás jellemezni. Az SI mértékegység a *katal* (rövidítve *kat*), aminek jelentése a másodpercenként átalakított szubsztrát móljainak száma ($1 \text{ kat} = 1 \text{ mol/sec}$). Az *aktivitás egység* (*U*) az 1 perc alatt átalakított szubsztrát μmol -jait adja meg ($1 \text{ U} = 1 \mu\text{mol/perc}$). $1 \text{ U} = 1/60 \text{ micro katal} = 16,67 \text{ nano katal}$, illetve $1 \text{ kat} = 60\,000\,000 \text{ U}$.

Az enzimfehérje tömegére vonatkoztatott aktivitás az ún. *specifikus aktivitás* (kat/kg , vagy U/mg). Az enzimek hatékonyságára jellemző érték a *molekuláris aktivitás*, amely az 1 mól enzim által 1 perc alatt átalakított szubsztrát móljainak számát jelenti.

Glikogén foszforiláz aktivitásának mérése

A glikogén foszforiláz a glikogén lebontását katalizálja fiziológias körülmények között



ahol n a glikogénben levő glükózil egységek száma és P_i az inorganikus foszfát. A szövetekben a P_i koncentráció többszörösen meghaladja a glükóz-1-foszfát (glükóz-1-P, G-1-P) koncentrációját, emiatt az egyensúlyi reakció a glikogénbontás (a felső nyíl) irányában van eltolva *in vivo* körülmények között.

A glikogén foszforiláz azonban *in vitro* a glikogén szintézisét is katalizálhatja, ha főlegben alkalmazzuk a glükóz-1-P-t, amelyből az enzim glükózt képes beépíteni a glikogén molekulába P_i felszabadítása közben (alsó nyíl). A glikogén foszforiláz enzimaktivitása a szintézis irányában arányos a felszabadított P_i -tal és ennek fotometriás meghatározásával jól mérhető. Az enzimaktivitást az időegység alatt képződő P_i mennyiségében (μmol -ban) fejezzük ki.

Nyugalmi állapotú izomban a glikogén foszforiláz inaktív, b formában található. Hormonális vagy idegi hatásra az enzim aktív, a alakba megy át foszforiláció révén. A glikogén foszforiláz a önmagában aktív, míg a glikogén foszforiláz b aktivitását csak egy aktivátor, az adenzin-5'-monofoszfát (AMP) jelenlétében lehet mérni.

1. feladat. Glikogén foszforiláz b aktivitásának mérése AMP aktivátor jelenlétében

A glikogén foszforiláz b aktivitását pH 6,8-on és 30 °C-on történő inkubálással határozza meg az alábbiak szerint.

Három kémcsőben állítsa össze az alábbi reakcióelegyeket:

- 0,1 cm³ hígított glikogén foszforiláz b
- 0,1 cm³ Na-glicerofoszfát puffer (pH 6,8)
- 0,1 cm³ 4 %-os glikogén oldat (első szubsztrát)

Inkubálja az elegyeket 30 °C-on 5 percig, hogy a reagensek felvegyék a reakció hőmérsékletét, majd mindegyik mintához adja hozzá a szintén előmelegített második szubsztrátot és az aktivátor AMP-t tartalmazó oldatot:

0,1 cm³ 4 mM AMP-t tartalmazó 64 mM G-1-P oldat

Inkubálja a mintákat 30 °C-on:

1. kémcső:	5 percig,
2. kémcső:	10 percig,
3. kémcső:	15 percig.

A reakcióidő elteltével adjon a mintákhoz

1,6 cm³ 5 % triklórecetsav (TCA) oldatot!

A TCA az oldatban a glikogén foszforiláz fehérje kicsapásával leállítja a reakciót.

A leállított reakcióelegyekben határozza meg a képződött P_i mennyiségét Taussky-Shorr módszere szerint:

- 2,0 cm³ TCA-val leállított reakcióelegy
- 1,4 cm³ P-reagens
- 3,4 cm³ végtérfogat

Összerázás után az oldatokat kb. 5 percig, a kék szín teljes kifejlődéséig hagyja állni, majd az 5, 10 és 15 perces próbákat fotometrálja a vakpróbával szemben 720 nm-en az *Anorganikus foszfát fotometriás meghatározása* című gyakorlatnak megfelelően.

A vakpróbát az alábbi oldatok összemérésével készítse el, a megadott sorrendben:

- 0,1 cm³ hígított glikogén foszforiláz *b*
- 0,1 cm³ Na-glicerofoszfát puffer (pH 6,8)
- 0,1 cm³ 4 %-os glikogén oldat
- 1,6 cm³ TCA
- 0,1 cm³ AMP-t tartalmazó glükóz-1-P oldat
- 1,4 cm³ P-reagens
- 3,4 cm³ végtérfogat

Az 5, 10 és 15 perces próbák abszorbancia értékeiből határozza meg a P_i mennyiségét a korábban (*Anorganikus foszfát fotometriás meghatározása*) készített kalibrációs görbéből. Számítsa ki a tömény glikogén foszforiláz *b* aktivitását az alábbi képlet segítségével.

$$\text{Aktivitás } (\mu\text{kat} / \text{cm}^3) = \frac{P_i (\mu\text{g})}{31 \text{ g/mol} \times 0.1 \text{ cm}^3 \times \text{reakcióidő (s)}} \times \text{hígítás}$$

ahol 31 g/mol a foszfor moláris tömege és 0,1 cm³ a hígított enzim térfogata a mérési közegben.

2. feladat. *Glikogén foszforiláz b aktivitásának változása a glükóz-1-P koncentrációjával*

Mérje meg a hígított glikogén foszforiláz *b* aktivitását az 1. feladat-ban leírt reakcióelegyben, de változtassa meg a glükóz-1-P koncentrációját (állandó 4 mM értéken tartva azonban az AMP koncentrációját) az alábbi táblázat szerint.

Kémcső jelzése	Glükóz-1-P (mM)		Inkubálási idő (perc)
	bemért koncentráció	vég-koncentráció	
1	8	2	15
2	16	4	15
3	32	8	10
4	64	16	5
5	128	32	5

Vakpróbaként az előző feladatban készült vakpróba használható.

Gyakorló feladat

0,1 cm³ 100-szorosan hígított glikogén foszforiláz *b* aktivitását mértük 10 percig 1. feladatban leírtak szerint. A felszabadított P_i mennyisége 15 μg-nak adódott. Számítsa ki

a) a 100-szorosan hígított glikogén foszforiláz *b* aktivitását μkat/cm³ egységben, valamint

b) a tömény glikogén foszforiláz *b* aktivitását μkat/cm³ egységben, ha M_r = 31 a foszforra.

a) 10 perc reakcióidő alatt

0,1 cm³ 100-szorosan hígított glikogén foszforiláz *b* 15 μg foszfort hasított ki a szubsztrátból. Ugyanennyi idő alatt

1.0 cm³ 100-szorosan hígított glikogén foszforiláz *b*

1.0 cm³/0.1 cm³ × 15 μg = 150 μg foszfort hasít ki.

31 g foszfor = 1 mol foszfor

31 μg foszfor = 1 μmol foszfor

150 μg foszfor = 150 μg / 31 μg × 1 μmol = 4,83 μmol foszfor

tehát 1.0 cm³ 100-szorosan hígított glikogén foszforiláz *b* 10 perc alatt 4,83 μmol foszfort hasít ki a szubsztrátból.

1 kat = 1 mol/sec és 1 μkat = 1 μmol/sec

Reakcióidő: 10 perc = 10 × 60 sec = 600 sec

600 sec alatt 4,83 μmol foszfor szabadul fel (szubsztrát alakul át)

1 sec alatt 4,83/600 = 0,008 μmol foszfor szabadul fel (szubsztrát alakul át)

tehát a 100-szorosan hígított glikogén foszforiláz *b* aktivitása 0,008 μkat/cm³.

b) a tömény glikogén foszforiláz *b* aktivitása pedig

100 × 0,008 μkat/cm³ = 0,8 μkat/cm³.

Kérdések

Ábrázolja az enzimreakciók sebességét a szubsztrátkoncentráció függvényében. Jelölje a grafikonon a K_M és v_{max} paramétereit.

Adja meg a Michaelis-Menten kinetikát leíró összefüggést a jelölések értelmezésével.

Adja meg az enzimaktivitás két leggyakrabban alkalmazott mértékegységének definícióját.

Mi a szubsztrátja a glikogén foszforiláznak a gyakorlaton szereplő aktivitásmérési reakcióban?

Milyen hatással van az AMP a glikogén foszforiláz *b*-alakjának aktivitására?

Hogyan befolyásolja a glükóz-1-foszfát koncentrációja a glikogén foszforiláz által katalizált reakció sebességét?

Mi a K_M és v_{max} paraméterek jelentése?

Számítási feladat

0,1 cm³ mértük a Számítási példában leírtak szerint 5, 10 és 15 perces reakciókban. A felszabadított P_i mennyisége 21, 44 és 80 μg-nak adódott. Számítsa ki

a) az 50-szeresen hígított glikogén foszforiláz *b* aktivitását μkat/cm³-ben mindhárom reakcióban,

b) a három aktivitás átlagát, valamint

c) a tömény glikogén foszforiláz *b* aktivitását μkat/cm³-ben,

d) és U/cm³-ben.

Gyakorlat

Dátum:

1. feladat. Az enzimaktivitás meghatározása AMP aktivátor jelenlétében

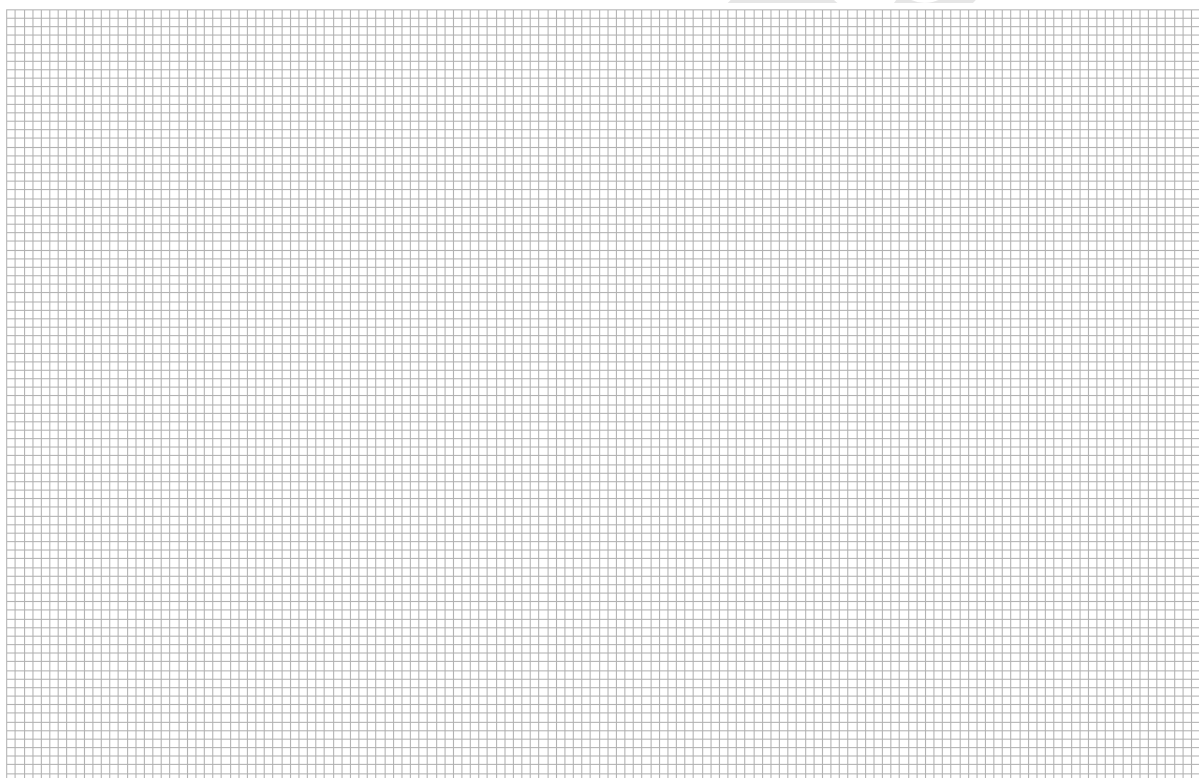
A mérési eredmények alapján számítsa ki a foszforiláz aktivitását $\mu\text{kat}/\text{cm}^3$ egységben!

Kémcső	Inkubálási idő (perc)	A_{720}	P_i (μg)	$\mu\text{kat}/\text{cm}^3$
1.	5			
2.	10			
3.	15			

Számítsa ki a három enzimaktivitás átlagát:

$\mu\text{kat}/\text{cm}^3$

Ábrázolja grafikusán a képződött P_i mennyiségét az idő függvényében!



Számítsa ki a glikogén foszforiláz kezdeti aktivitását a grafikon segítségével és hasonlítsa össze a fent kiszámított átlag értékkel!

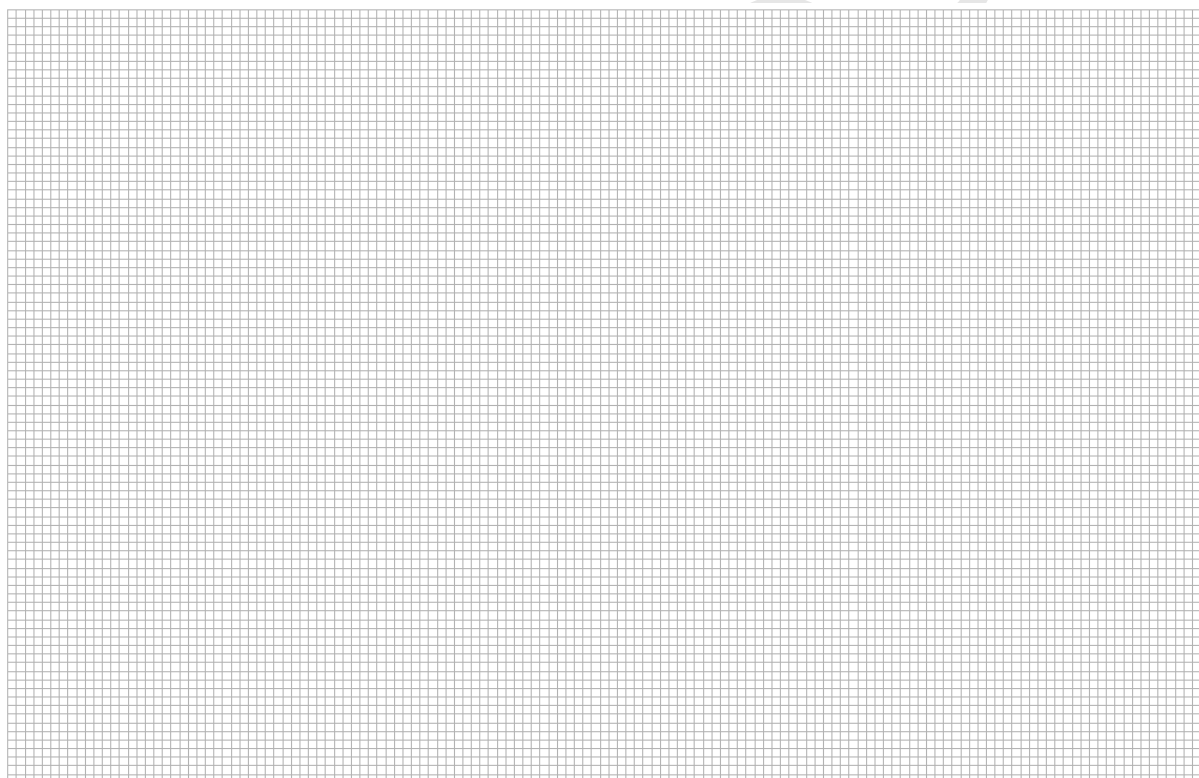
Az idő előrehaladtával miért csökken a reakció sebessége?

2. feladat. A szubsztrátkoncentráció, [G1P], hatásának vizsgálata

Mérési eredményei alapján töltsse ki az alábbi táblázatot!

[G1P] (mM)	1/[G1P] (1/mM)	Time (min)	A_{720}	P_i (μg)	Aktivitás ($\mu\text{kat}/\text{cm}^3$)	1/aktivitás ($\text{cm}^3/\mu\text{kat}$)
2		15				
4		15				
8		10				
16		5				
32		5				

Ábrázolja az enzimaktivitást a glükóz-1-foszfát koncentrációjának függvényében!

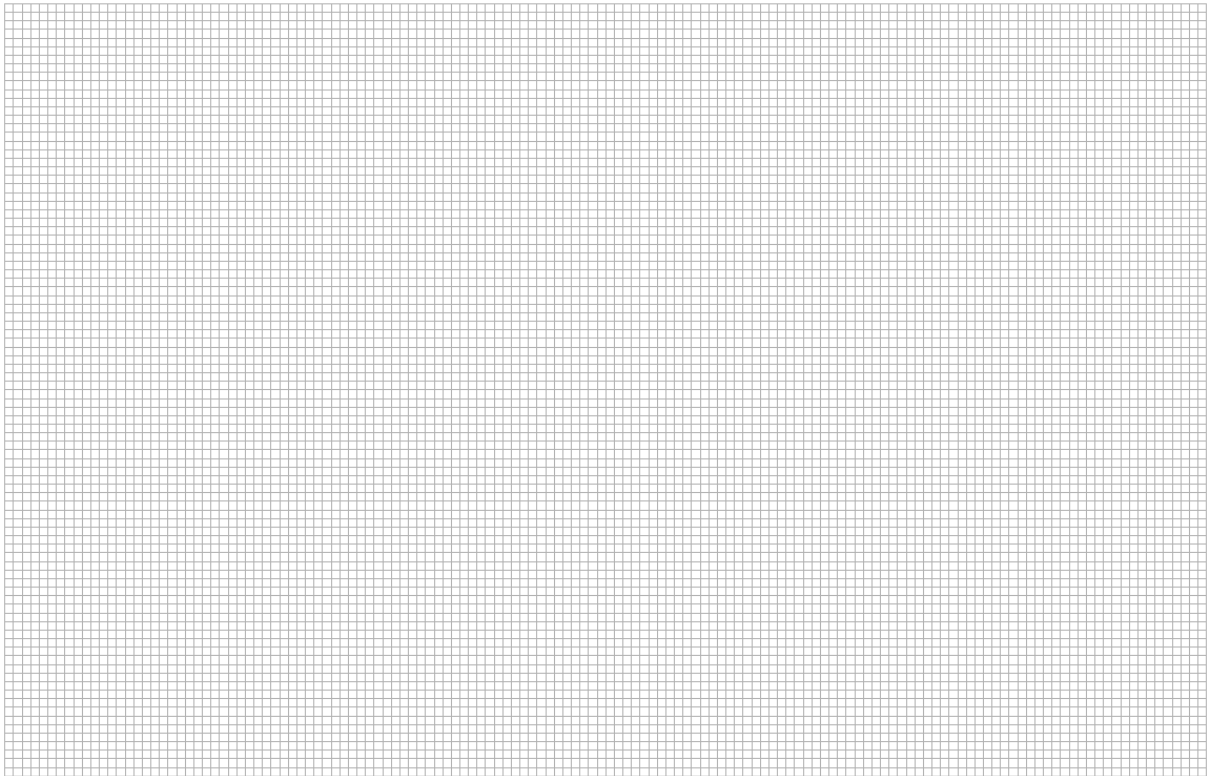


A grafikon segítségével becsülje meg a v_{\max} és K_M értékét.

v_{\max} :

K_M :

Ábrázolja az aktivitás reciprok értékét a glükóz-1-foszfát koncentráció reciprokának függvényében.



A Lineweaver-Burk ábrázolásból is határozza meg a v_{\max} és K_M értékét!

v_{\max} :

K_M :

Hasonlítsa össze a becsült (előző oldal) és a Lineweaver-Burk módszerrel meghatározott értékeket!

FÜGGELÉK

DUPress

ORVOSI KÉMIA GYAKORLATOK

Hét	Dátum	A gyakorlat címe	Aláírás
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
Név:			
Csoportszám:			

TARTALOMJEGYZÉK

Előszó	3
Balesetvédelmi és tűzvédelmi előírások	4
Laboratóriumi alapküvetek	6
Minőségi analízis	15
Az ivóvíz kémiai vizsgálata	15
Szervetlen sók és komplexek vizsgálata	21
Cukorkimutatási eljárások	24
Mennyiségi analízis	30
Térfogatos analízis	30
Sav-bázis titrálások	30
Erős savak titrálása	35
Gyenge savak titrálása	40
Redoxititrálások	46
Jodometriás titrálások	47
Bromatometriás titrálások	54
Komplexometriás titrálások	58
Műszeres analízis	67
Spektrofotometria	67
A spektrofotométer	70
Anorganikus foszfát fotometriás meghatározása	72
Szerves foszfátvegyületek savlabil foszfáttartalmának meghatározása	75
Vastartalom fotometriás meghatározása	78
Kvantitatív fehérjemeghatározási módszerek	84
Glükóz kvantitatív meghatározása	88
Polarimetria	91
Szénhidrátok polarimetriás vizsgálata	92
Elektrometria	97
Elektrometriás pH-mérés és az elektrolitok egyensúlyának vizsgálata	97
Kromatográfia	106
Papírkromatográfia	108
Ioncserélő kromatográfia	114
Gélszűrés	121
Reakciókinetikai vizsgálatok	124
Az etilacetát elszappanosításának vizsgálata	125
Jodidion oxidációjának vizsgálata Landolt-módszerrel	129
Enzimreakciók vizsgálata	132
Glikogén foszforiláz aktivitásának mérése	135
Függelék	141

DUPress