

Galbács Gábor – Galbács Zoltán – Sipos Pál

**MŰSZERES ANALITIKAI KÉMIAI
GYAKORLATOK**

JATEPress

2008

Készült az SZTE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén

Dr. Galbács Gábor egyetemi docens

Dr. Galbács Zoltán egyetemi docens

Dr. Sipos Pál egyetemi docens

Lektorálta:

Dr. Posta József egyetemi tanár

Második kiadás

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS	5
MŰVELETEK ÉS FOGALMAK	
DEF – Néhány fontos alapfogalom a műszeres analitikai kémiában	7
GRA – Mérési adatok grafikus ábrázolása és kiértékelése	15
MIN – A nyomanalitikai célú mintavétel, mintaelőkészítés alapelvei	19
GYAKORLATI FELADATOK	
Elektroanalitikai feladatok	
PHM – pH-mérés üvegelektróddal, sav-bázis titrálás pH-metriás végpontjelzéssel	25
RED – Redoxi titrálás potenciometrikus végpontjelzéssel	33
DPM – A direkt potenciometria alkalmazása	41
KON – Konduktometriás mérések	49
AMP – Biamperometriás (dead-stop) titrálás	55
ICM – Indirekt coulombmetria	63
GRT – Erős sav-erős bázis titrálások kiértékelése a Gran-módszerrel	69
Spektroszkópiai feladatok	
SPF – UV-látható abszorpciós spektrofotometria	79
FES – Lángfotometriás mérések	87
AAS – Lángatomabszorpciós mérések	95
FLS – Fluoreszcencia spektroszkópia	103
Kromatográfiás feladatok	
ALC – Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia	111
AGC – Gázkromatográfia	121
ION – Ionkromatográfia	133
ELF – Gél-elektroforézis	143
Egyéb feladatok	
KTS – Komplexometriás titrálás spektrofotometriás végpontjelzéssel	153
MUA – Műanyagok azonosítása	163
FIA – Áramlásos rendszerű automatikus analízátor	173
MELLÉKLETEK	
ALA – Alapismeretek	185
LAB – Laborrend és balesetvédelem	189
XLS – Az Excel program használata mérési eredmények kiértékelésére	193
IRODALOM	199

BEVEZETÉS

A műszeres analitikai gyakorlatok önálló tárgyként történő oktatása több mint harminc éve indult el a Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén. Kezdetben ez kizárólagosan a kutató vegyészképzés számára szerveződött. Később, az analitikai kémia térhódításával, ezen belül a műszeres eljárások előtérbe kerülésével ez a gyakorlati képzés beépült a kémia, biológia, környezettan, környezetvédő tanár szakos, a gyógyszerész, klinikai kémikus hallgatók, majd a levelező, a kiegészítő-, és esti képzésű, végül az akkreditált felsőfokú szakképzésben résztvevő hallgatók tanrendjébe is. Az évtizedek során számos, a Tanszéken íródott (több kiadást is megért) jegyzet is segítette a műszeres analitikai kémia oktatását.

A jelen jegyzet megírását azok az időközben végbement változások kényszerítették ki, amiket természetesen képzésünknek is követni kell. Számos műszer és módszer (pl. polarográfia, oszcillometria) mára már túlhaladottá vált, ugyanakkor egy sor új metódus (pl. kromatográfiás módszer) jelent meg és terjedt el. Emellett mára már általánossá vált a mérési adatok számítógéppel való gyűjtése és kiértékelése. Az egyetemi képzésben is végbement bizonyos egységesítés, ami azt jelenti, hogy szakoktól függetlenül a leadott tananyag nagyobb része azonos, ugyanakkor a gyakorlati követelmény és a hallgatói előképzettség jelentősen különbözik. Előfordul az is, hogy a hallgatónak úgy kell gyakorlatot végezni, hogy még nem vizsgázott a gyakorlatot megalapozó elméleti tárgyból. A szűkösebbé váló anyagi lehetőségek, a laboratóriumi helyiség korlátozottsága és a személyzet létszámcsökkentése miatt ugyanakkor a gyakorlatféleségek számát csökkenteni, a vegyszereket és segédeszközöket minimalizálni, optimalizálni kényszerülünk. Az idők folyamán a gyakorlatok számára biztosított órakeret is jelentősen csökkent.

Ezen változások eredményeként egy koncepciójában is új gyakorlati jegyzetet igyekeztünk elkészíteni. Ebben az egyes gyakorlati leírások önállóan, a többi gyakorlattól teljesen függetlenül használhatók. Ez azzal a következménnyel jár, hogy néhány szövegrész (pl. egyes műszerek használati útmutatója) többször is előfordulnak. E terjedelmi bővülést, mint hátrányt, a szerzők véleménye szerint azonban bőségesen kompenzálja az az előny, hogy a hallgatók önálló felkészülése az adott gyakorlatra gyorsabb és könnyebb. A gyakorlatok leírása minden esetben tartalmaz egy rövid elméleti áttekintést is. Ez ugyancsak segítheti a gyakorlatra való felkészülést és különösen akkor szükséges, amikor a hallgató a műszeres analitikai gyakorlatokat a kapcsolódó elméleti kurzussal párhuzamosan vagy akár azt megelőzően veszi fel. A gyakorlatok végén felsorolt kérdések és számítási feladatok az adott

metodika lényegének megértését ellenőrzik; ezek képezik a laboratóriumi dolgozatok alapját is. A jegyzethez több új számítógépes célprogramot is írtunk, amelyek egyes itt szereplő műszerek vezérlését és mérésadatgyűjtését segítik. A közölt gyakorlatok mindegyike többszörösen kipróbált, jól bevált és megbízható analitikai eljárás.

A jegyzetben külön fejezetekben foglaljuk össze azokat az alapfogalmakat, definíciókat, amelyek a mindennapos laboratóriumi gyakorlatban nélkülözhetetlenek. Ezek ismerete és helyes használata minimális követelmény hallgatóinkkal szemben. A mérési eredmények grafikus megjelenítésével és kiértékelésével szintén részletesen foglalkozunk. Az igen elterjedt és a műszeres analitikai kémiai adatkiértékelésben is jól használható Microsoft Excel táblázatkezelő program rövid leírását is mellékeljük. Fontosnak tartottuk a laboratóriumi munkarenddel, balesetvédelemmel kapcsolatos ismeretek felelevenítését is, így ezekkel a kérdésekkel is egy külön fejezetben foglalkozunk. A gondos mintaelőkészítés jelentőségét nem lehet eléggé hangsúlyozni. A modern nyomanalitikai eljárások még komolyabb követelményeket támasztanak a mintaelőkészítéssel szemben, ezért egy fejezetet ennek a területnek is szenteltünk.

Reményeink szerint jegyzetünk meg fog felelni a bevezetőben felsorolt elvárásoknak és hasznos segédanyag lesz a műszeres analitikai kémiával foglalkozó hallgatóink számára.

Végül, de nem utolsó sorban ezúton is köszönetet mondunk jegyzetünk lektorának, Dr. Posta József egyetemi tanárnak igazán hasznos észrevételeiért és lelkesítő támogatásáért, amellyel segítette munkánk befejezését. Köszönettel tartozunk Sebőkné Kiss Mariann vegyésztechnikus kolléganőnknek is a kísérletek előkészítéséért, valamint Sebők Lajos elektrotechnikus kollégánknak egyes elektronikai eszközök megvalósításáért. Köszönetet mondunk a Tanszék analitikai kémiai munkaközösségének is a tapasztalatok átadásáért és észrevételeikért.

Szeged, 2008. május 1.

A szerzők

NÉHÁNY FONTOS ALAPFOGALOM A MŰSZERES ANALITIKAI KÉMIÁBAN

KALIBRÁCIÓ

A *kalibráció* folyamata során a műszer válaszele és a mérendő koncentrációja közötti összefüggést határozzuk meg. A kísérletileg meghatározott kapcsolatot a *kalibrációs görbe* (másképpen: mérőgörbe, analitikai görbe) grafikonja írja le, amely a műszer válaszelet vagy egy abból közvetlenül származtatott mennyiséget ábrázolja a mérendő komponens koncentrációja vagy anyagmennyisége függvényében. Kalibrációra minden kvantitatív műszeres analitikai módszer esetében szükség van, amely nem titrálás (végpontjelzés) jellegű. A kalibrációs görbe segítségével megállapítható a mérendő komponens koncentrációja (anyagmennyisége) a mintában, ha annak válaszeletét ismerjük. A görbe felvételét ismert koncentrációjú mintasorozattal végezzük; általában öt-hat kalibrációs minta használata elégséges. A görbe alakja az alkalmazott műszertől illetve mérési módszertől függően lehet más és más, azonban legtöbbször monoton növekvő, telítési jellegű. A telítési szakaszon az érzékenység egyre csökken, a koncentráció-meghatározás bizonytalansága egyre nagyobb, ezért mindig igyekszünk a még elfogadhatóan lineáris (kezdeti) szakaszon mérni. A kalibrációval kapcsolatban további információkat talál még a GRA fejezetben.

LINEARITÁSI TARTOMÁNY (DINAMIKUS TARTOMÁNY)

Ez alatt a fogalom alatt az adott módszerrel mérhető azon koncentrációtartományt értjük, amelyen belül a kalibrációs görbe jó közelítéssel egyenes (pl. a görbe eltérése az egyenestől sehol sem nagyobb mint 5%). A korábban elmondottak alapján előnyös, ha a linearitási tartomány minél szélesebb; egyes műszereknél elérheti az 5-8 koncentráció nagyságrendet is.

HITELESÍTÉS

Egy mérőműszer vagy mérőeszköz hitelesítése során annak pontosságát ellenőrizzük illetve állítjuk be. A hitelesítést hivatalos vizsgálati bizonylattal ellátott minta vagy eszköz

(etalon) segítségével végezzük. A műszerünk által mért értéknek az elvárt hibán belül meg kell egyeznie az etalon bizonylatban megadott jellemzőjének értékével. Hitelesíteni logikusan olyan mérőeszközöket szokás, amelyek valamilyen abszolút mennyiséget, sok esetben fizikai alapmennyiséget határoznak meg. Így például hitelesíthető egy analitikai mérleg (hiteles mérőszállal), egy feszültségmérő (hiteles feszültségforrással), esetleg egy pH-mérő műszer (hiteles puffer oldattal), stb., azonban logikusan nem szokás hitelesíteni pl. egy spektrofotométert, amely relatív mennyiséget (abszorbanciákat) határoz meg.

Nagyon fontos érzékelni a kalibráció és a hitelesítés fogalma közötti különbséget. A hitelesítés célja a fentiek szerint a műszer pontosságának ellenőrzése és beállítása. Ezt a műveletet általában egy, néha két etalonnal végezzük. A kalibráció célja ezzel szemben a válaszjel-koncentráció összefüggés alakját meghatározni, amelyhez mintasorozatot kell használnunk. Gondoljuk meg azt is, hogy a legtöbb kalibrációt igénylő (nem végpontjelzés jellegű) kvantitatív műszeres analitikai eljárás esetében nincs szükségünk arra, hogy a mért válaszjel abszolút értelemben is pontos legyen. Terhelheti ugyanis a válaszjelet a mérések időtartama alatt állandó nagyságú és előjelű rendszeres hiba, ennek jelenléte a koncentráció-meghatározás pontosságát mégsem fogja befolyásolni, mert az a mérőgörbe tengelymetszetének megváltozását okozza, az abszcisszáról leolvasott koncentráció azonban változatlan marad.

ÉRZÉKENYSÉG

Az *érzékenység* alatt a kalibrációs görbe meredekségét (deriváltját) értjük. Ha a görbe lineáris, akkor megállapítása egyértelmű. Ha a mérőgörbe nem lineáris, akkor meredeksége pontról-pontra változik, vagyis az érzékenység koncentrációfüggő. Ilyenkor az analitikai módszer érzékenységének általános jellemzésére a mérőgörbe kezdeti, még lineáris szakaszán megállapított meredekség alkalmas. Az érzékenység jele S , dimenziója a mérőgörbe koncentráció tengelyén szereplő dimenzió reciproka, amennyiben az analitikai jel dimenzióval nem rendelkezik (pl. mg/L koncentráció egységekben felvett mérőgörbéről leolvasott érzékenység dimenziója L/mg).

SZELEKTIVITÁS, SPECIFIKUSSÁG

A *szelektivitás* kvalitatív fogalom, mennyiségileg nem szokás kifejezni. Szelektívnek akkor nevezünk egy analitikai eljárást, ha az a mérendő komponensre nézve nagymértékben jellemző válaszjelet szolgáltat vagy másképpen, hogy az analízist egyéb komponensek jelenléte igen kevésbé zavarja. Sok műszer önmagában egyáltalán nem vagy igen kevésbé szelektív mérést biztosít. Ilyenkor a szelektivitást megfelelő kémiai mintaelőkészítéssel biztosíthatjuk. A nem szelektív mérést biztosító műszerek közé tartozik nyilvánvalóan pl. a konduktométer, de kevésbé szelektív pl. az UV-Vis spektrofotométer is, hiszen a vegyületek

széles elnyelési sávjai és azok átlapolódása miatt sok szerves vegyület elnyelési spektruma hasonló. Szelektív (jó szelektivitású) például az ionszelektív elektródokkal kivitelezett mérés és általában az atom- vagy tömegspektrometriás analízis is.

A szelektivitás extrém, ideális esete a *specifikusság*: ilyen esetben a kérdéses válaszjel kizárólag egy konkrét mérendő komponens jelenlétében keletkezik. Könnyen belátható, hogy korlátozás nélküli, általánosan specifikus analitikai eljárás nem létezik, hiszen a jelenlévő komponensek okozta zavaró hatás mértéke mindig azok koncentrációjának/anyagi minőségének függvénye (a specifikusság fogalmát a IUPAC sem javasolja használni).

SZÓRÁS

A párhuzamos mérési eredmények közötti eltérések jellemzésére használatos mennyiségi adat a szórás. A statisztika elmélete szerint ennek pontos meghatározásához igen nagyszámú mérés elvégzésére van szükség. A gyakorlatban erre többnyire nincs lehetőség, ezért a szórás értékét a *korrigált empirikus (tapasztalati) szórás* (s) képletével becsüljük:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$$

ahol n a mérések számát, $\bar{x}$ a mérési adatok átlagértékét, x_i pedig az egyes mérési adatokat jelöli. Az ily módon számított szórás dimenziója azonos a mért eredmény dimenziójával. A szórás nagysága a mért értékek és természetesen a középérték nagyságától is függ. A szórásadatokat ezért könnyebb összehasonlítani, ha azokat *relatív szórás*-ként adjuk meg. Ennek számítása:

$$s\% = \frac{s \cdot 100}{\bar{x}}$$

Ügyeljünk arra, hogy amennyiben az analízis végeredményét a precizitással együtt kívánjuk megadni, akkor a precizitást zárójelben adjuk meg. Például: 245 (17) $\mu\text{g/L}$. Ne használjunk azonban a szórásadat előtt $\pm$ jelet, ugyanis az a konfidenciasáv megadására van fenntartva (lásd később).

KIMUTATÁSI HATÁR

Egy analitikai módszerre vonatkozó kimutatási határ (D_L) az a koncentráció, amely mérése során kapott válaszjel már egyértelműen megkülönböztethető a háttértől. Ezt a teoretikus koncentrációt a gyakorlatban azzal a koncentrációval közelítjük, amely a vakminta

szórásának háromszorosával egyező nagyságú jelet szolgáltat. Ez az érzékenységgel kifejezve:

$$D_L = \frac{3 \cdot s_{vak}}{S}$$

ahol s_{vak} a vakminta (a mérendőt nem tartalmazó minta) jelének szórása, S pedig az érzékenység. Amennyiben a vakminta szórása nem mérhető az adott módszerrel (pl. abszorpciós spektrometria), akkor azt a kalibráló sorozatbeli legkisebb koncentrációjú oldatra kapott szórással közelítjük. A kimutatási határ dimenziója megegyezik azzal a koncentráció dimenzióval, amelyből az érzékenységet számítottuk. *Abszolút kimutatási határ* is megadható a kimutatható anyagmennyiségre vonatkozóan, ez esetben az átszámítás alapja az a mintatérfogat, amelyet a méréshez felhasználunk. Pl. ha 20 μL mintát vizsgálva $D_L=0,012 \text{ mg/L}$ érték adódott, akkor az abszolút kimutatási határ $2,4 \cdot 10^{-10} \text{ g}$.

MEGHATÁROZÁSI HATÁR

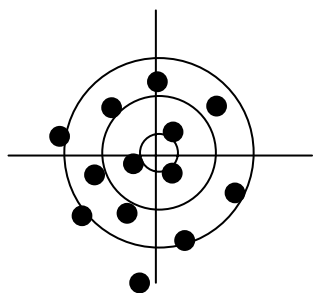
A meghatározási határ az a legkisebb koncentráció vagy anyagmennyiség, amely az adott módszerrel még elfogadható precizitással és pontossággal megmérhető. Az „elfogadható” szint definiálása a meghatározási határ megadásakor természetesen mindig szükséges. A gyakorlatban a meghatározási határt leginkább a kimutatási határ öt-tízszerezésének tekintik.

PONTOSSÁG ÉS PRECIZITÁS

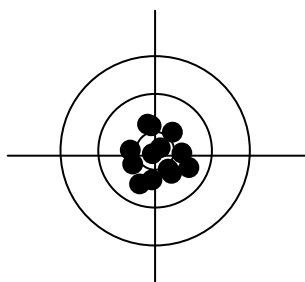
A *pontosság* (másképpen helyesség) azt jellemzi, hogy az adott analízis eredménye milyen közel esik a valódi értékhez (másképpen: mekkora a mérés torzítása, hibája). Egy módszer pontosabb mint a másik, ha eredménye kisebb hibával terhelt. A pontosság mennyiségi megadásakor legtöbbször a valódi értékre vonatkoztatott relatív (%) adatot adunk meg. Így például, ha a valódi érték 100 g/L, az analízis átlageredménye pedig 105 g/L, akkor a relatív pontosság 5%. Megjegyzendő, hogy ismeretlen minták esetében nem ismert a valódi érték.

A *precizitás* a kölcsönösen független megismételt (párhuzamos) vizsgálatok eredményei közötti egyezés mértéke, amelyet általában a tapasztalati szórással jellemzünk. A szórás és precizitás fogalma között az az eltérés, hogy szórásról elsősorban jelekkel, mért értékekkel (pl. intenzitás, abszorbanancia) kapcsolatban beszélünk, a precizitást pedig mindig a meghatározás végeredményére (koncentrációra) vonatkozóan adjuk meg. Dimenziója, miként a szórásé is, természetesen a végeredményével egyezik meg.

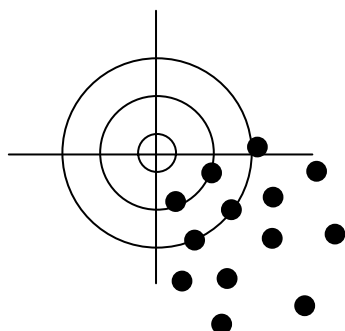
Összefoglalóan és kvalitatíve, ha a mérési hiba kicsi, akkor pontos mérésről vagy nagy pontosságú mérésről beszélünk. Amennyiben a mérési adatok szórása kicsi, akkor azt mondjuk, hogy a mérés precíz vagy másképpen, hogy precizitása nagy. Annak a ténynek a megvilágítására, hogy egy mérési sorozat eredményének pontossága és precizitása nem függ feltétlenül össze, a célbalövés példáját szokás hozni. Az alábbi négy ábra azt illusztrálja, hogyan helyezkedhetnek el a mérési adatok (lövedékek) a valódi érték (a céltábla közepének) környezetében.



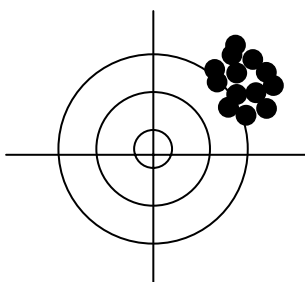
pontos, de kis precizitású mérés



pontos és precíz mérés



pontatlan és kis precizitású mérés



pontatlan, de precíz mérés

ISMÉTELHETŐSÉG

Az ismételhetőség a precizitás azon fajtája, amely ismételhető körülmények között elvégzett kísérletekre vonatkozik, vagyis mértéke kifejezhető pl. azonos módszerrel, azonos anyagon, azonos műszerrel, azonos kezelő által azonos laboratóriumban különböző időpontban végzett meghatározások eredményei közötti szórással.

REPRODUKÁLHATÓSÁG (MEGISMÉTELHETŐSÉG)

A reprodukálhatóság a precizitás azon fajtája, amely megismételhető körülmények között elvégzett kísérletekre vonatkozik, vagyis pl. azonos módszerrel, különböző anyagon, különböző műszerrel, különböző kezelők által azonos laboratóriumban végzett meghatározások közötti szórással fejezhető ki.

KONFIDENCIASÁV (MEGBÍZHATÓSÁGI INTERVALLUM)

Eredményeink precizitásának megadásához a fentiek szerint a tapasztalati szórást használjuk. Ez az adat azonban kisszámú mérés esetén jelentős hibával közelíti azt az elméleti szórást, amely segítségével pl. pontosan megadhatnánk azt az intervallumot, amelyet mérési adataink becsült értéke körül kijelölve, abba a mért mennyiség valódi értéke adott megbízhatósággal esik. Feltételezve a párhuzamos mérések azonos szórású normális hibaeloszlását, ilyenkor a Student-féle valószínűségi függvényt kell alkalmaznunk. A számítás lényege, hogy a tapasztalati szórásadatot egy, az elvégzett mérések számától függő együtthatóval szorozzuk be; az így kapott mennyiség, méréseink középértéke körül ($\pm$) elgondolva lesz a megbízhatósági intervallum.

Mérések száma - 1	A Student-féle (t) együttható értéke különböző statisztikus biztonsági szinteken	
	95%	99,7%
1	12,706	235
2	4,303	19,2
3	3,182	9,22
4	2,776	6,62
5	2,571	5,51
6	2,447	4,90
7	2,365	4,53
8	2,306	4,27
9	2,262	4,09

Példa: Ha 5 mérésünk átlagértéke 124,4 mg/L, a tapasztalati szórás 9,45 mg/L és 99,7%-os megbízhatósággal kívánjuk eredményünket megadni, akkor a következőképpen számolunk:

$$c = \bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} = 124,4 \pm \frac{6,62 \cdot 9,45}{\sqrt{5}} = 124,4 \pm 27,97 \text{ mg/L}$$

Ahol n az elvégzett mérések száma, t a Student-féle együttható (lásd fenti táblázat), s a tapasztalati szórás, $\bar{x}$ pedig a mérési adatok átlaga. Az előbbi példában tehát legalább 99,7%-os megbízhatósággal állíthatjuk, hogy az így kijelölt koncentrációsávba esik a mintában mért komponens valódi koncentrációja.

FELBONTÁS

Ez a fogalom abból a szempontból jellemzi az analitikai műszereket, hogy azok mennyire teszik megkülönböztethetővé a kromatogramon vagy spektrumon megjelenő két szomszédos csúcsot. Pl. tömegspektrometriában, ahol a csúcsok tömeg (m_1 , m_2) szerint különülnek el, megállapítjuk, hogy a legkisebb $\Delta m = |m_1 - m_2|$, amely esetén a spektrumban két szomszédos csúcs teljesen különállónak látszik (vagyis a csúcsok átfedése kisebb, mint átlag magasságuk 5%-a), akkor a felbontás (R):

$$R = \frac{m_1 + m_2}{2 \cdot \Delta m}$$

Analóg módon definiáljuk a felbontást más spektroszkópai módszerek esetében is. Ezekben az esetekben a fenti példában szereplő tömeg szerepét a hullámhossz veszi át. Érdekes tény ugyanakkor, hogy a kromatográfiában éppen a fenti — természetesen retenciós időkkel felírt — képlet reciprokát hívják felbontásnak.

ZAJ ÉS HÁTTÉR

A *zaj* a detektortól vagy az elektronika más részeitől származó jelingadozás (szórással jellemezzük). A *háttér* fogalma magában foglalja a zajt és a mért jelnek a mérendő komponens távollétében kapott állandó részét is (a háttér vagy alapvonal az a görbe, amelyre a mérendő komponensektől származó csúcsok „rá vannak ültetve” egy kromatogramon vagy spektrumon). A gyakorlatban mindig igyekszünk úgy beállítani műszerünket, hogy a lehető legnagyobb nettó jelet mérhessük a lehető legkisebb zaj (vagy háttérjel) mellett, vagyis a *jel/zaj viszony* a legnagyobb legyen.

MÉRÉSI ADATOK GRAFIKUS ÁBRÁZOLÁSA ÉS KIÉRTÉKELÉSE

A GRAFIKONOK KÉSZÍTÉSÉNEK ALAPELVEI

A műszeres analitikai módszerekkel gyűjtött mérési adatok ábrázolására igen gyakran szükség van: az adatok értelmezését egy-egy grafikon nagyon megkönnyíti. Régebben a mért adatok kiértékelése is grafikusan történt milliméterpapíron – ma ez inkább numerikus/matematikai módszerekkel történik, számítógép segítségével. Ezzel együtt is érdemes azonban a grafikonkészítés praktikus alapelveit megismerni és alkalmazni, hiszen pl. grafikus kiértékelés esetén a meghatározás pontossága nagymértékben függ grafikonunk pontosságától. Az alábbi felsorolás röviden összefoglalja a legfontosabb tudnivalókat a milliméterpapíron való grafikonkészítésről.

- A tengelyek beosztása legyen olyan finom, hogy az lehetővé tegye köztes értékek (pl. ekvivalenciapontok, töréspontok helyeinek) 1%-nál pontosabb közvetlen leolvasását.
- A tengelyek beosztása legyen hasonló léptékű (a görbe látszólagos meredeksége közel egységnyi), különben a finom részletek, tendenciák elsímulnak.
- Ne feledjük, hogy a logaritmikus beosztású tengelyek osztásvonalai nem egyenletes távolságban követik egymást.
- Mérési adatsorokat általában nem átlagolunk össze egymással, – azokat mindig külön-külön ábrázoljuk, és csak a leolvasott adatokat (ekvivalenciapont, töréspont, stb.) átlagoljuk.
- A mért adatpontok helyét jól láthatóan, lehetőleg + vagy × jellel jelöljük.
- A grafikonokat vékony, de jól észrevehető vonalakkal húzzuk ki.
- A kihúzás során a görbét vagy egyenest mindig a mért pontok közé illesztjük, határozott vonallal húzzuk meg (a kihúzott vonal alá és fölé közel azonos számban kell esnie mérési pontnak).
- A trendből szemmel láthatóan kiszóró pontokat (amelyek pl. előkészítési, mérési hibának tudhatók be) szintén ábrázoljuk, azonban a jelet karikázzuk be, és az illesztésnél/kihúzásnál ne vegyük figyelembe.
- Egy milliméterpapíron több görbe is ábrázolható – az egyes görbékhez ilyenkor használjunk eltérő, pl. színes jelöléseket, és a görbéket felirattal azonosítsuk.

-
- A tengelyeken szereplő mennyiségek neve és mértékegysége legyen feltüntetve.
 - A milliméterpapírra készített grafikonok a jegyzőkönyvben folyékony ragasztóval vagy átlátszó ragasztószalaggal rögzítendők oly módon, hogy azok ne nyúljanak túl a füzet szélén.

Fontos megjegyezni, hogy a számítógéppel nyomtatott grafikonok, titrálási görbék pontatlan arányaik és ritkás beosztásaik miatt általában *nem alkalmasak arra*, hogy azokon a fent leírt grafikus kiértékelést pontosan el lehessen végezni (ilyen szempontból tehát nem helyettesítik a milliméterpapíron való munkát). A számítógéppel nyomtatott grafikonok, görbék illusztrációként használhatók; a kiértékelést ilyen esetben numerikus úton (pl. az illesztett egyenesek egyenleteit felhasználva) kell végezni.

A MÉRÉSI ADATOK GRAFIKUS KIÉRTÉKELÉSÉRŐL

A mért pontsorok grafikus kiértékelése legtöbbször egyenes szakaszok illesztésén és azok metszéspontjainak keresésén alapul. Ne feledjük, hogy mivel a mérési görbék linearitása mindig csak korlátozott tartományban érvényes, és ez a tartomány is viszonylagos (pl. a grafikon arányaitól nagyban függ), ezért ez a megközelítésmód pusztán egyszerű közelítés. Fontoljuk meg ezért, hogy:

- Az egyenesekkel közelített adatszakasz mindig legalább 4-5 pontból álljon, hogy az illesztett egyenes helyzete megbízható legyen.
- Ne erőltessük a linearitást olyan adatpontokra, amelyek szemmel láthatóan már nem illeszkednek egy egyenesre.
- Kalibrációs egyenesek kihúzása esetén a nulla koncentrációnál mért jelet – még akkor is, ha annak értéke pontosan nulla – ugyanolyan adatpontként vegyük figyelembe az illesztésnél, mint az összes többi (ne az origóban rögzített egyenest illesszünk).

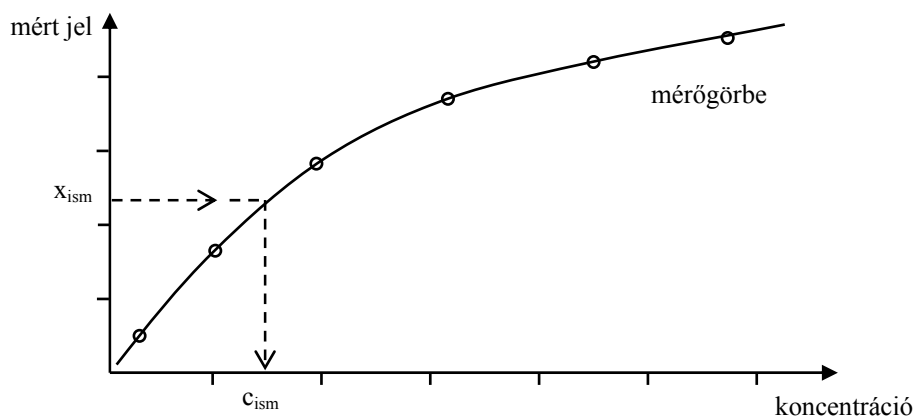
Minden műszeres mérési módszer más és más alakú grafikont eredményez. Az egyes módszerek esetén a következőképpen végezhető közelítő pontosságú grafikus kiértékelés:

- Direkt (klasszikus) kalibráció során (pl. lángfotometria, spektrofotometria, folyadékkromatográfia, direkt potenciometria) általában az analitikai mérőgörbe kezdeti szakaszára egyenest illesztünk, majd az ismeretlen minta koncentrációját erről az egyenesről olvassuk vissza (lásd később).
- Konduktometriás titrálások során a meghatározás alapjául szolgáló kémiai reakció jellegének megfelelően szomszédos egyenes szakaszokat keresünk a grafikonon és azok metszéspontjához tartozó mérőoldat-fogyással közelítjük az ekvivalenciapont helyét.

- A biamperometriás (dead-stop) titrálási görbék a legtöbbször nem rendelkeznek szomszédos lineáris szakaszokkal az ekvivalenciapont mindkét oldalán, ezért itt a végpont egy görbe és egy egyenes metszéspontjával közelítendő.
- Potenciometrikus titrálási görbék (pl. pH-metria, redoxi titrálás) lépcsős (szigmoid) alakúak. A titrálás végpontját a lépcső egyes szakaszaira illesztett három egyenes két metszéspontjához tartozó mérőoldat-fogyás értékek átlagaként közelítjük.

KALIBRÁCIÓS GÖRBÉK ÉS HASZNÁLATUK

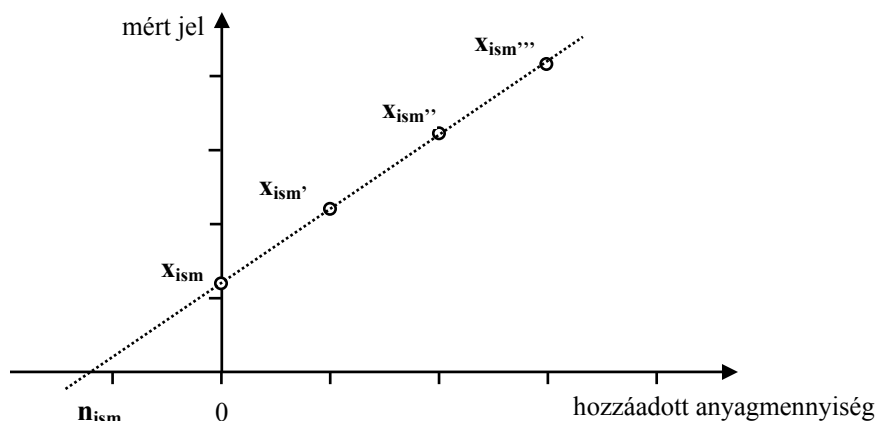
Kalibrációs görbék a műszeres analízisben igen gyakran előfordulnak. A kalibráció során ismert koncentrációjú minták segítségével *analitikai mérőgörbét* (kalibrációs görbét) veszünk fel, ami a műszer által mért jelet ábrázolja a mérendő mintakomponens koncentrációja/anyagmennyisége függvényében. E mérőgörbének és az ismeretlen minta mérésekor kapott jel birtokában megállapítható, hogy a mérendő komponens milyen koncentrációban van jelen a mintában. Többféle kalibrációs eljárás ismeretes, ezek közül a *közvetlen (direkt, klasszikus) kalibrációt* alkalmazzuk a leggyakrabban. Ennek használatát az alábbi ábra szemlélteti.



1. ábra. Klasszikus kalibrációs görbe és használata

A másik gyakran alkalmazott kalibrációs módszer a *standard addíciós* eljárás. Ezt a módszert akkor alkalmazzuk, ha a minta mátrixa (a mérendőn kívüli összes egyéb mintakomponens) valamilyen módon befolyásolja a mérendő komponensre kapott jel nagyságát, vagyis zavarja a mérést. Ilyen esetben a műszer közvetlen kalibrációja olyan oldatsorozattal, amely csak a mérendő komponenst tartalmazza nyilván nem megfelelő, hiszen a mintaoldatban eltérő viszonyok uralkodnak. A standard addíciós eljárás alkalmazhatóságának fontos feltétele, hogy a mért jel lineárisan változzék a mérendő komponens koncentrációjával, anyagmennyiségével. A módszer kivitelezése során, azt követően, hogy megmértük az ismeretlen oldatra kapott jelet (x_{ism}), az oldathoz a mérendő

komponenst tartalmazó, ismert koncentrációjú törzsoldatból (standardból) adunk egy keveset, majd az így kapott oldatot ismét megmérjük ($x_{ism'}$). Az addíciót és a mérést ezután újból és újból elvégezhetjük, az adatokból pedig az alábbihoz hasonló addíciós kalibrációs grafikon szerkeszthető:



2. ábra. Standard addíciós kalibrációs grafikon és használata

ahol az egyenesnek a vízszintes tengellyel való metszéspontja megadja az ismeretlen mennyiségét a mintaoldatban (n_{ism}), amelyet a térfogat ismeretében koncentrációra számíthatunk át. A kivitelezés során természetesen ügyelni kell a mért oldat hígulására is, amelyet például úgy küszöbölhetünk ki, hogy igen tömény standardoldatot használunk az addícióhoz, amelyből így csak igen kis (pl. μL nagyságrendű) térfogatok hozzáadása szükséges.

Itt jegyezzük meg, hogy a fent leírt eljárás egyetlen mintaoldat sorozatos addicionálásával természetesen csak akkor kivitelezhető, ha a mérés folyamata nem változtatja meg az oldat térfogatát vagy koncentrációját. Ez a kényelmes szituáció sajnos csak kevés analitikai eljárás során áll elő (ilyen pl. a direkt potenciometria vagy esetleg az UV-Vis spektrofotometria), ezért a standard addíciós kalibrációs eljárás alkalmazásakor a legtöbbször minden mérési pont felvételéhez az ismeretlen oldat egy újabb részlete felhasználásával egy újabb mintát kell előkészítenünk. Mivel ez idő- és mintaigényes, ezért a legtöbbször csak a minimálisan szükséges három pontból szerkesztett mérőgörbét használják. Az újabb minták előkészítésének előnye ugyanakkor, hogy ebben az esetben a hígítás hatását úgy is kiküszöbölhetjük, hogy a mérendő oldatokat az addíció után mindig azonos térfogatra egészítjük ki; nem kell feltétlenül igen tömény standardet használnunk.

A NYOMANALITIKAI CÉLÚ MINTAVÉTEL, MINTAELŐKÉSZÍTÉS ALAPELVEI

A műszeres analitikai kémiai technikákat, amelyek általában a klasszikus analitikai kémiai módszereknél nagyságrendekkel kisebb kimutatási határral rendelkeznek, majdnem mindig nyomanalitikai feladatokra — ppm és az alatti koncentrációk mérése — alkalmazzuk. Ebből következően az analitikai feladat fontos részét képező mintavétel, -tárolás és -előkészítés műveleteit is körültekintőbben, kissé más szemlélettel kell végeznünk, mint a klasszikus analitikában. Az alábbiakban röviden összefoglaljuk az ezzel kapcsolatos alapelveket.

MINTAVÉTEL ÉS MINTATARTÓSÍTÁS

A „valódi” mintákat legtöbbször nem analízisre készen kapjuk (pl. ampullába zárva), hanem azokat előbb be kell gyűjteni. Akár gáz, folyadék vagy szilárd mintát veszünk, azt úgy kell begyűjteni, hogy a kivett részlet a vizsgálandó területre/tárgyra nézve reprezentatív legyen (átlagminta). Természetesen célunk lehet lokális jellegű (pont-) minták begyűjtése is, de ez a ritkább feladat. A mintavétel jelentőségét nem lehet eléggé hangsúlyozni: a mérendő minta azon hányadát, amelyet a hibásan kivitelezett mintavétel miatt nem gyűjtöttünk be (elveszítettünk) már soha nem fogjuk tudni megmérni.

A mintavétel és -tárolás edényét is körültekintően kell megválasztani. Manapság ehhez leginkább kémiai ellenálló, megfelelő tisztaságú, könnyű, jól zárható és olcsó műanyag edényeket használunk folyadék és szilárd minták esetében. Megemlítendő, hogy a nyomanalitika igényeit (pl. szennyezésmentesség) leggyakrabban csak egyszer használatos edények elégítik ki. Gázmintavételhez általában fém- és üvegedényeket használunk. Műanyag edények itt azért nem váltak be, mert a gázok kisebb-nagyobb mértékben képesek beoldódni a műanyagokba — ez a beoldódott gáz idővel kidiffundálhat, így „elszökhet” a mintákból vagy keresztiszennyezést is okozhat. A kémialag nem teljesen inert anyagú edények használatával általában azt kockáztatjuk, hogy a minta és tároló edény között korrózió vagy adszorpció, stb. játszódik le (pl. üvegedények nem alkalmazhatóak olyan oldatok tárolására, amelyekben ppm alatti koncentrációban szeretnénk alkálifémeket mérni). Semmiképpen ne mulasszunk el a mintával alaposan átöblíteni a mintavételi eszközt/tároló edényt.

Tároláshoz a mintákat leggyakrabban kezelni kell, így pl. szilárd mintákat szárítani szükséges. A víztartalmat 105 °C-on tömegállandóságig történő melegítéssel (pl. szárítószekrényben 5-10 órai szárítással) távolíthatjuk el. A száraz minta a továbbiakban összetétel megváltozás nélkül (pl. penészedés nélkül) tárolható, amennyiben a jól záró (üveg vagy műanyag) edénnyel a külső nedvesség hozzájutását meggátoljuk. Gázok tárolásánál leginkább az edény falába bejutó és azon átjutó, esetleg a lezáró csapok (szelepek) zsírzó anyagába oldódó gázzészlet okozhat problémát. A folyadék minták esetében a probléma összetett, a tartósítás módját és lehetőségeit igencsak behatárolja az analitikai feladat és a mérendő komponens jellege, illetve a mérendő koncentrációk nagysága.

Vízminták esetében gyakori gond azok bakteriális szennyezettsége, amely az oldott gázok, szerves vegyületek, szerves ionok átalakítása révén hamisíthatja meg az analitikai eredményt. A vízmintához adott fertőtlenítő anyagok vagy savak (5 mL tömény, nagytisztaságú salétromsav vagy sósav 1 L vízmintához adagolva) meggátolják a minta összetételének bakteriális eredetű megváltozását. A savval történő tartósítás további előnye, hogy a pH eltolásával megelőzi a fémek hidroxid-formájú csapadékjainak képződését. Természetes vizekben pl. a Fe-ionok gyakoriak; ennek hidroxidja kicsapódva és kiülepedve az edény aljára nemcsak csökkenti a minta vastartalmát, de mint jó adszorbens, magával „rántja” felületéhez kötve a többi, nyomnyi mérendő komponens is. A tárolást segíti az is, ha a vízmintát a levegő kizárásával vesszük meg, az edényt színültig töltjük. Természetesen vannak analitikai feladatok, amikor a savanyítás nem megengedhető, mert a tömény sav a mérendő szerves vegyületeket elroncsolhatja, egyes mérendő szerves vegyületeket (pl. hidrogén-karbonátokat) elbonthat, oxidálhatja a mérendő komponens vagy oldhatatlan vegyület képződésével annak kiválását okozhatja.

MINTAELŐKÉSZÍTÉS

A mintaelőkészítés módját döntően az adott analitikai feladat elvégzéséhez rendelkezésre álló technika, mérési módszer szabja meg. Általános, logikus alapelv, hogy ha hasonló képességű, alternatív mérési módszerek is rendelkezésünkre állnak, mindig válasszuk azt, amelyik a lehető legkisebb mértékű előzetes mintakezelést igényli. Érdemes meggondolni azt is, hogy nyomanalitikai méréseknél az alkalmazott reagenseknek, segédanyagoknak a tisztasága különlegesen nagy kell hogy legyen, ezért az analitikai tisztaság sokszor nem kielégítő. Gondoljunk csak a mintasavanyítás fent is leírt esetére: egy legfeljebb 0,01 m/m% szennyezést tartalmazó analitikai tisztaságú savból 5 mL hozzáadása 1 L mintához még mindig 0,1 ppm nagyságrendű szennyezéseket vihet be. Különösen gondos, körültekintő mintaelőkészítésre van szükség pl. az atomi tömegspektrometriás módszer alkalmazásakor, ahol az izotóposztétel megőrzése is fontos.

Folyadék (pl. vízminták) vagy többfázisú minták esetében gyakran szükséges szűrni. Ilyen eset például, ha egy folyadékmintában egy komponens oldott koncentrációját akarjuk meghatározni. Ezt 0,45 µm pórusméretű műanyag (pl. polikarbonát, teflon, stb.) szűrővel,

vákuumszűréssel végezzük; a szűrletben mérhető koncentrációt szokás oldott koncentrációnak nevezni. Máskor a szűrés az analitikai eljárás kényessége miatt szükséges (pl. HPLC). Kis térfogatú mintákat fecskendőre szerelhető a kis pórusméretű (0,2 vagy 0,45 esetleg 2 μm) szűrőbetéteken szűrjük meg. Fontos megjegyezni, hogy a klasszikus (nagy mennyiségű mintákkal és nem nyomnyi komponenseket meghatározó) analitikai szűréskor tanult eljárást, miszerint üvegbottal segítjük a szűrőtölcséren lévő csapadék mosását, a nyomanalitikában nem szabad alkalmazni! Az üvegbot és a rajta sokszor használt gumigyűrű ugyanis rengeteg szennyezést visznek be, amely nyomanalitikai méréseknél megengedhetetlen. Hasonló okokból kifolyólag üveg vagy porcelán tölcséreket, szűrőtámasztó betéteket, papír szűrőlapokat sem szokás általában használni. Helyette nagy tisztaságú, ellenálló műanyagból (pl. poli-tetrafluoroetilén, PTFE) készült szűrőkészletek terjedtek el.

A szilárd mintákat gyakran aprítani, porítani szükséges, pl. hogy a későbbi savas roncsolás gyorsabban játszódjon le. A megszáritott minta ilyenkor achát mozsárban vagy zirkon golyósmalomban lisztfinomságúra porítható. Érdeemes emlékezni azonban, hogy mind az achát, mind a zirkon nagy keménységű, természetes eredetű (tehát szennyezéseket is tartalmazó) anyagok, így kimondottan kemény minták, közetek hosszú idejű őrlésekor hozzájárulhatnak maguk is a minta elszennyezéséhez. Sajnos jobb megoldás nem létezik, mint hogy ilyenkor vakmintákkal ellenőrizzük a golyókból/mozsárból bejutó szennyezések mennyiségét. Az aprítás alapszabálya, hogy a lassabban aprítódó részeket — amelyek a keményebb mintakomponenseket tartalmazzák — nem szabad eldobni, hanem az aprítást addig kell folytatni, amíg a teljes mintamennyiség át nem jut a kívánt lyukméretű (100 esetleg 60 μm -es) szitán. A szitálást a fémszennyezés bevitelének elkerülésére műanyag szálakból készült szitán célszerű végezni; ezek korrózióra sem hajlamosak, így tisztításuk is egyszerűbb.

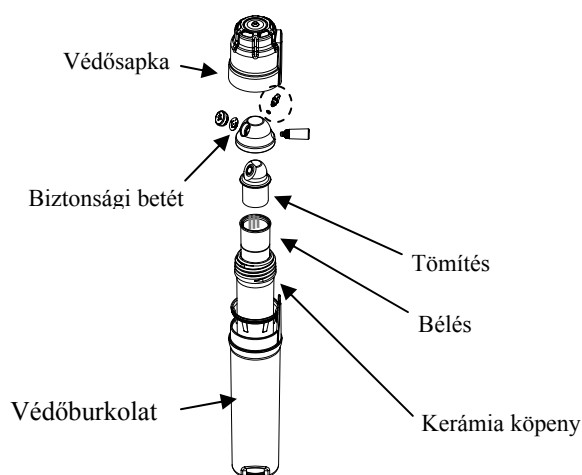
MIKROHULLÁM ALKALMAZÁSA A MINTAELOKÉSZÍTÉSI MŰVELETEK ELŐSEGÍTÉSÉRE

A zárt rendszerben, mikrohullámú energia besugárzással kivitelezett mintaelőkészítés a ma ismert egyik leghatékonyabb és legkorszerűbb eljárás. Az ellenálló anyagból készült speciális reakcióedényekben a mikrohullámú sugárzás felgyorsítja a kémiai reakciókat, ami lehetővé teszi, hogy néhány tíz perc alatt makacs anyagokat is oldatba vigyünk savas roncsolással vagy ugyanilyen gyorsan pároljunk be folyadékmintákat, oldószeres extrakciót végezzünk, stb.

A mikrohullámú (kb. 2500 MHz) besugárzással csak a polarizálható, vagy permanens dipólusmomentummal rendelkező molekulákat, vagy ionokat tartalmazó anyagok melegíthetők. A besugárzás hatására ezek a molekulák a gyorsan változó irányú elektromágneses teret követve gyors (forgó/rezgő) mozgásba kezdenek, amihez ionos konvekció is társul; ezek a folyamatok pl. oldatok esetében a belső súrlódás révén gyorsan felmelegítik a minta teljes térfogatát. Ez lényegesen hatékonyabb, gyorsabb a hagyományos melegítési módszereknél, ahol a gázláng, elektromos fűtőszál, stb. mindig kívülről az

edényzet közvetítésével melegíti a mintát. Mintaelőkészítés szempontjából nem elhanyagolható előny az sem, hogy nempoláris, ellenálló anyagokból (pl. PTFE, kvarc) a mikrohullám számára átlátszó zárt reakcióedények készíthetők, amelyek megóvják a mintát a szennyezésektől, párolgási veszteségtől, ugyanakkor maguk igen kevésbé melegsznek fel. Ne gondolja azonban, hogy egy mikrohullámú feltáró rendszer ugyanolyan, mint a háztartási mikrohullámú sütők! A mikroprocesszor-kontrollálta laboratóriumi mikrohullámú feltáró rendszerek ugyanis hőmérséklet és/vagy nyomás ellenőrző rendszerrel vannak ellátva, speciális edényzetet használnak, számos biztonsági elemet tartalmaznak, beépített hűtő és elszívó egységgel rendelkeznek, fokozatmentesen szabályozható energiájú mikrohullámú generátort tartalmaznak, stb. Az alábbiakban példaként az Anton Paar cég (Ausztria) Multiwave 3000 típusú modern mintaelőkészítő berendezésén keresztül illusztráljuk a mikrohullámú mintaelőkészítés lehetséges alkalmazásait. Ilyen berendezéssel fog a nyomanalitikai mintaelőkészítéssel foglalkozó laboratóriumi gyakorlaton is találkozni.

A legelterjedtebb mikrohullámú eljárás a zárt edényben történő feltárás, vagyis a minták saveleggyel történő roncsolása, oldatbavitele elemanalízist megelőzően (erre nemcsak szilárd minták, hanem pl. iszapok, nagy szervesanyagtartalmú folyadékminták esetén is szükség van). A bemutatott rendszer savas feltáráshoz készült rotorja 8 (vagy akár 16) nyomásálló edényt képes egyszerre befogadni. Az igen jól záró, csavaros fedéllel ellátott vastagfalú PTFE edények bélése is fluoropolimerből készül. Az edények mechanikai szilárdságát egy külső kerámia köpeny is növeli. Kvarcból is készíthető edényzet, amely nagy mechanikai szilárdsága miatt nem igényel kerámia köpenyt – így is 80 bar nyomást képes szabályozottan elviselni, szemben a műanyag edények maximálisan 60 bar üzemi nyomásával. A műanyag bélésű edényzet ugyanakkor HF-ot tartalmazó savelegyek használatára is alkalmas.



1. ábra. Zárt edényű savas feltáráshoz tervezett nyolcpozíciós mikrohullámú rotor és egy mintaedény

A speciális kialakítású forgó rendszerű rotor felső részében egy hidraulikus úton érzékelő elektronikus szenzor található, amely a feltárás során folyamatosan méri az edényben

kialakult nyomást és továbbítja azt vezetékek nélküli kommunikáció révén a vezérlő egységbe. A hőmérséklet mérését infravörös sugárzás vagy gázbuborék-hőmérő elv révén méri az edényekben egy szenzor. A központi vezérlő egység figyeli a nyomás és hőmérséklet adatokat és a feltárási program, valamint az edényzetre jellemző üzemi határértékek figyelembevételével szabályozza a mikrohullámú sugárzás energiáját. A biztonság növelése érdekében az edényzet egy biztonsági (nyomáshatároló) betétet is tartalmaz; ez az edényzet mechanikai szilárdságát megközelítő 120 bar nyomáson kinyit. Ha ez bekövetkezik, a savas mintagőzök eltávoznak, így a mintát elveszítjük ugyan, de az edényzet nem robban fel. Az elszívó rendszer nemcsak ezeket az esetleg elszabadult savgőzöket távolítja el, hanem a forró reakcióedényeket is gyorsan (kb. 20 perc alatt) lehűti szobahőmérsékletre.

Egy másik alkalmazási lehetőséget a minták bepárlása jelenti, amire a feltárások savmaradékainak eltávolítása miatt, vagy bepárlás útján történő dúsítás (töményítés) miatt lehet szükség. Ennél az alkalmazásnál is jól alkalmazható a mikrohullámú melegítés gyorsasága, a hatékony elszívás megléte és hogy a mintákat zárt rendszerben, szennyeződéstől védve melegítjük. A bemutatott rendszer gyártója arra is gondolt, hogy a mintákat ne kelljen a feltárást követően más edénybe áttölteni, amivel a mintavesztés kerülhetne el; a savas feltárást követően alkalmazott műanyag edények egyszerűen áthelyezhetők a bepárló rotorba, csak csavaros fedelüket kell lecserélni olyanra, amely a bepárlást (pl. a savgőzök folyamatos elszívását) lehetővé teszi.



2. ábra. Zárt rendszerű bepárláshoz tervezett nyolcpozíciós korszerű mikrohullámú rotor

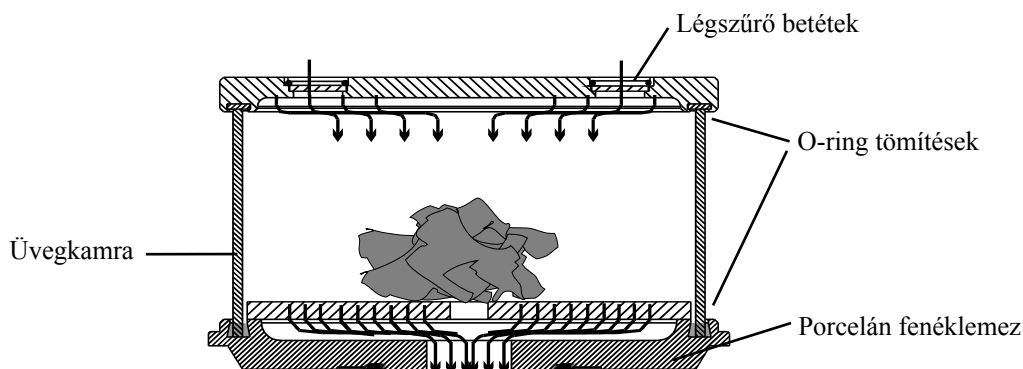
Egy további mikrohullámú alkalmazási lehetőség a szerves oldószeres extrakció. Fontos megjegyezni, hogy az extrakcióval sokszor együttjáró robbanásveszélyes oldószer-gőzök kezelése az elszívórendszer módosítását és különleges biztonsági elemekkel való felszerelését igényli, ezért csak kevés mikrohullámú feltárási rendszer képes a feladatot biztonságosan megoldani. A többi rotorhoz képest további különbség, hogy itt a rotor belsejében négy alumínium tartály is megtalálható, amelyek vízzel vannak megtöltve. Minden tartály két-két extrakciós edénnyel van összekötve flexibilis csövek révén, így ha egy biztonsági tárcsa az extrakciós mintaedényekben az üzemi érték feletti nyomás kialakulása miatt működésbe lép, az oldószer ezen a csövön keresztül kifúj és biztonságosan

kondenzálódik/elnyeletődik a tartályokban levő vízben. A műanyag edények nyomásálló csavaros fedele speciális kialakítású, amely lehetővé teszi azt is, hogy fecskendővel szükség esetén újabb adag oldószert adjunk a mintához az edény kinyitása nélkül.



3. ábra. Az extrakciós rotor alulnézeti képe a mintaedényekkel és a kondenzációs tartályokkal

A zárt rendszerű mikrohullámú melegítés újabb alkalmazási lehetősége a szárítás. A szilárd minták egy jelentős része (pl. növényi, biológiai vagy környezeti eredetűek) valamint pl. az iszapminták jelentős, változó mértékű nedvességtartalommal bírnak, amelyek eltávolítására már csak azért is szükség van, hogy azokból pontos bemérés készülhessen illetve hogy az analitikai eredményt (koncentrációkat) összemérhető mennyiségű mintára vonatkozóan adhassuk meg. Ez a művelet, amelynek elvégzése a klasszikus módon vegyi fűlkét, szárítószekrényt és sok időt igényelt, a zárt rendszerű mikrohullámú berendezésben gyorsan és a minta elszennyezésének veszélye (pl. por a laboratórium levegőjében) nélkül végrehajtható. Nem elhanyagolható előny az sem, hogy a folyamatos és hatékony elszívás megkíméli a felhasználót az egyes minták (pl. szennyvíziszap) szárításával együttjáró kellemetlen szagoktól és minimális a minta túlhevülésének esélye is. Nagy méretű minták közvetlenül a porcelán alaplemezre helyezhetők, míg a porított mintákat óraüveggel lazán lefedett üvegedényben célszerű behelyezni.



4. ábra. Mikrohullámú szárító rotor metszeti rajza (a nyilak az átszívott levegő haladási útját jelzik)

pH-MÉRÉS ÜVEGELEKTRÓDDAL, SAV-BÁZIS TITRÁLÁS pH-METRIÁS VÉGPONTJELZÉSSSEL

A GYAKORLAT CÉLJA: Oldatok pH-jának mérése kombinált üvegelektroddal. A potenciometrikus titrálás alkalmazása ortofoszforsav koncentrációjának meghatározására.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

Potenciometria. A potenciometria az elektrolitoldatba merülő elektród felületén kialakuló potenciál mérésén alapuló elektroanalitikai módszer. Például ha egy ezüstionokat (Ag^+) tartalmazó oldatba ezüstdrótot helyezünk, a dróton kialakul egy sztatikus (vagy egyensúlyi) elektromos potenciál. Az így kapott, az oldatba merülő elemi állapotú fémről és a fém sójából álló oldat együttesét *elsőfajú elektródnak* nevezzük. Az elsőfajú elektródok potenciálja pontosan ellenőrzött körülmények között jól definiált módon változik az elektródfém ionjainak oldatbeli koncentrációjával, ezért alkalmas annak mennyiségi meghatározására. Az elsőfajú elektródok mellett számos olyan elektródot is kifejlesztettek már, amelyek potenciálját egy adott (nem feltétlenül fém-) ion vagy esetleg molekula oldatbeli koncentrációja szabja meg. Ilyenek például a pH-érzékeny-, ionszelektív-, enzim-, gáz-, redoxi- és amalgámelektrodok. Mivel ezek potenciálváltozása alapján pl. a titrálások során az oldatokban bekövetkező koncentrációváltozások nyomonkövethetők, az ilyen elektródokat az analitikai kémiában együttesen *indikátorelektrodoknak* is nevezik.

A Nernst-egyenlet. Az az ion- vagy molekulafajta, amelyik az elektród potenciálját meghatározza (ez a fentebbi példa esetében az Ag^+ ion), az ún. *elektródaktív komponens*. Az elektródaktív komponens *kémiai aktivitása* és az *elektród potenciálja* (E) közötti kapcsolatot a Nernst-egyenlet írja le. Ha az elektródpotenciál mérése során biztosítjuk (pl. jelentős mennyiségű indifferens vezető, ún. *háttélektrolit* hozzáadásával), hogy az oldat ionerőssége és ezzel az elektrolit aktivitási koefficiense állandó maradjon, akkor utóbbi összevonható a standard potenciállal (E°), és így az egyenlet a következő egyszerű formában írható fel (298 K-en):

$$E = E^\circ + \frac{0,0591}{n} \cdot \lg c$$

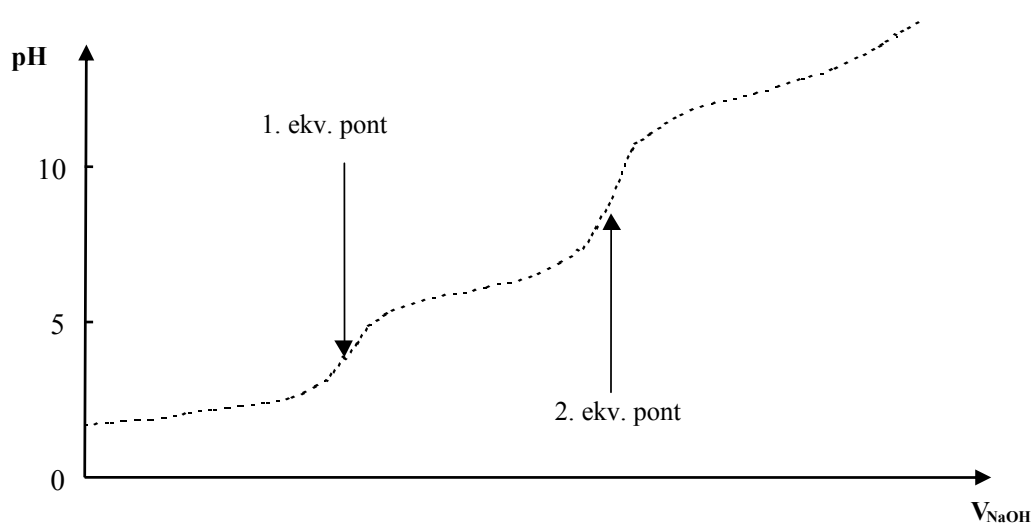
ahol n az elektródreakció során bekövetkező elektronszámváltozás. Az elektródpotenciál értékének pontos megmérése révén, E° ismeretében (vagy kalibráció révén) a koncentráció kiszámítható — ezt az eljárást *direkt potenciometriának* nevezzük. A laboratóriumi gyakorlatban E° általában nem ismert pontosan, mivel meghatározása gyakran hosszadalmas és körülményes művelet. Szerencsére *titrálások potenciometriás végpontjelzésekor* (indirekt potenciometria) ennek pontos ismeretére nincs is szükség, hiszen ilyenkor a potenciál változását követjük, és a potenciálnak a végpontban bekövetkező ugrásából határozzuk meg a titrálás ekvivalenciapontjának helyét.

Viszonyítási elektródok. Közismert, hogy egy elektród potenciálját mindig csak egy másik elektródhoz képest, ahhoz viszonyítva lehet meghatározni, az elektródpotenciálok különbségének (feszültség) mérésével. Technikailag ez azt jelenti, hogy az indikátorelektrodot egy ún. *viszonyítási* (vagy referencia) *elektroddal* kapcsolják össze. Ha a viszonyítási elektród potenciálja mérés során jó közelítéssel állandó, akkor bekövetkező potenciálváltozás egyedül az elektródaktív komponens koncentrációjának (aktivitásának) változását fogja tükrözni. Viszonyítási elektródként szolgálnak az ún. *másodfajú elektródok*, a gyakorlatban a Ag/AgCl vagy a Hg/Hg₂Cl₂ (kalomel) elektródok a legelterjedtebbek. A másodfajú elektródok egy fémből, annak rosszul oldódó sójából, valamint a só anionját tartalmazó, jól oldódó só elegendően nagy koncentrációjú (esetenként telített) vagy oldatából álló rendszer. Ebben az elrendezésben az elektródaktív ion koncentrációja bizonyíthatóan állandó, ami egyúttal garantálja az állandó elektródpotenciált.

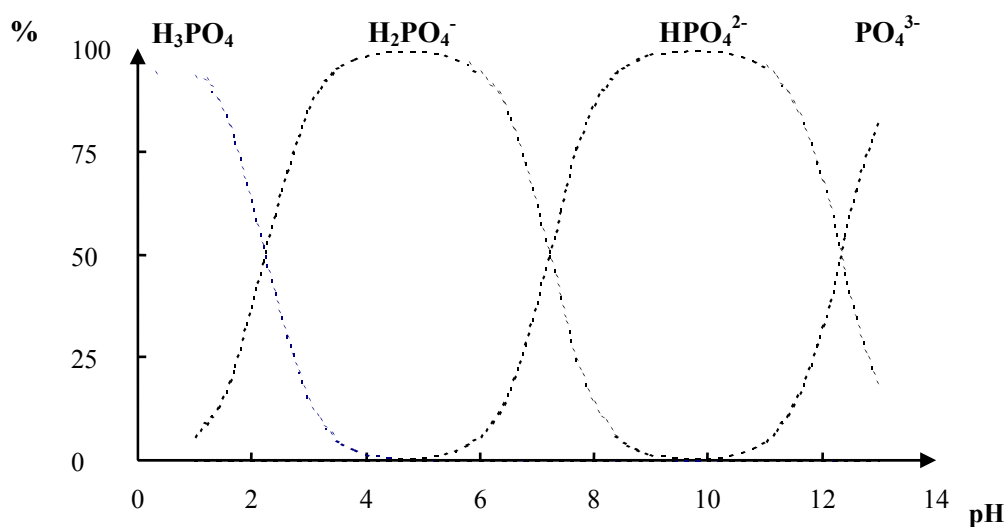
A pH-érzékeny üvegelektrod. A pH-érzékeny üvegelektrod a napi gyakorlatban leggyakrabban alkalmazott elektródfajta, amely az oldatok pH-jának meghatározására szolgál. A kereskedelmi forgalomban beszerezhető üvegelektrodok általában az $1 < \text{pH} < 13$ tartományban használhatók megbízhatóan. Az üvegelektrod lényegében egy vékony falú üveggömb (membrán), amely az oldat H^+ ionjaival ioncsereegyensúlyt alakít ki. A membránon kialakuló potenciált a két oldalán levő H^+ ionkoncentrációk aránya határozza meg. Ha az üveggömb belsejében állandó H^+ ionkoncentrációt biztosítunk (pl. megfelelő pufferoldattal való feltöltés révén), az elektródpotenciál változása egyedül a külső H^+ ionkoncentrációtól, azaz az oldat pH-jától fog függeni. Az egyik legközismertebb üvegelektrod az ún. kombinált üvegelektrod, ennek belsejében még egy viszonyítási elektród (általában Ag/AgCl) is be van építve. A kombinált üvegelektroddal és egy voltmérővel igen egyszerű az oldatok pH-jának közvetlen meghatározása (direkt pH-metria) illetve a pH-ban bekövetkező változások követése (pH-metriás titrálás). Természetesen direkt pH-metriás mérések előtt a pH-mérőt kalibrálni kell, ezt ismert pH-jú standard pufferekkel végezzük el.

A foszforsav meghatározásának alapelvei. A foszforsav hárombázisú sav, ezért pH-metriás titrálási görbéjén több lépcső és inflexiós pont is megfigyelhető (**1. ábra**). Az egyes lépcsők olyan savak esetében válnak el jól egymástól, amelyek egymást követő disszociációs állandóinak aránya 10^3 vagy annál nagyobb. Ez a feltétel a foszforsav esetében teljesül (a lépcsőzetes disszociációs állandók negatív logaritmusai: $\text{pK}_1 = 2,23$, $\text{pK}_2 = 7,21$, $\text{pK}_3 = 12,32$). A különféleképpen protonált foszfátion-féleségek százalékos megoszlása (populációja) az oldatban a pH-val változik (**2. ábra**). $\text{pH} = 1$ körül a domináns részecske a teljesen protonált

H_3PO_4 molekula, ez az első protonját $\text{pH} = 2-4$ között veszíti el teljesen. Vegyük észre, hogy a H_3PO_4 és a H_2PO_4^- populációja éppen $\text{pH} = 2,23$ ($= \text{pK}_1$!) esetén 50-50 %, azaz a két eloszlásfüggvény ennél a pH -nál metszi egymást. $\text{pH} = 4-5$ körül a H_2PO_4^- ion van túlnyomóan jelen az oldatban, ebben a pH -tartományban jelentkezik a titrálási görbén az első nagyobb potenciálugrás is. Ez a titrálás első ekvivalenciapontja. A pH további emelésével ($\text{pH} = 6-8$ tartományban) a foszforsav HPO_4^{2-} ion képződése közben második protonját is elveszíti. Utóbbi $\text{pH} = 9-11$ körüli oldatokban válik dominánssá, ezért itt jelentkezik a titrálási görbén a második ekvivalenciapont. $\text{pH} = 11$ -től kezdve az utolsó proton titrálása kezdődik el. Az ezzel járó folyamat azonban $\text{pH} = 13$ -ig nem válik teljessé, mert ehhez a foszforsav harmadik protonja már túlságosan gyenge sav. Emiatt a titrálási görbén harmadik ekvivalenciapont nem figyelhető meg.



1. ábra. Foszforsav pH-metriás titrálási görbéjének sematikus rajza



2. ábra. A foszforsav részecskeeloszlása a pH függvényében

Az első és második potenciálugráshoz tartozó V_1 ill. V_2 mérőoldatfogyások között ideális esetben fennáll a $V_2 = 2 \cdot V_1$ összefüggés. A mérőoldatfogyásokból a foszforsav oldatbeli koncentrációja könnyen kiszámítható. Esetenként a V_2 térfogat a vártnál nagyobb, aminek legvalószínűbb oka a mérőoldat ill. a titrálandó oldat karbonáttartalma, valamint az, hogy a karbonácion protonálódási folyamatai a foszforsav második protonja disszociációs pH-tartományában játszódhatnak le, azzal „átfednek”. Emiatt a második ekvivalenciapont kevésbé megbízható, így általában az első potenciálugrásból nyert ekvivalens térfogat pontosabb eredményt szolgáltat a koncentrációsámítás során.

SZÜKSÉGES ANYAGOK ÉS ESZKÖZÖK

kb. 0,1 M NaOH (pontos koncentrációja feljegyzendő!)
Standard pufferoldatok (2 és 7 vagy 2 és 10 körüli pH-val)
3 M koncentrációjú KCl oldat (a Sentix 82 üvegelektrod feltöltéséhez)
desztillált víz

1 db 10 cm³-es hasas pipetta
1 db 100 cm³-es mérőlombik (az ismeretlen oldathoz)
3 db 25 cm³-es főzőpohár (a pufferoldatok kezeléséhez és pipettázáshoz)
4 db 150 cm³-es főzőpohár (a titrálás elvégzéséhez)
1 db üvegedény (elektrod-öblítéshez)
1 db 25 cm³-es buretta (ha manuális titrálást kell végeznie)
1 db üvegtölcsér
1 db pipettázó labda
papírtörölő

WTW inoLab 720 típusú pH-mérő vagy
Radelkis OP-208/1 típusú pH-mérő
Sentix 82 típusú, hőmérséklet érzékelővel egybeépített kombinált üvegelektrod vagy
Radelkis OP-0808P típusú kombinált üvegelektrod
Schott Titronic Basic automata buretta (ha automatikus titrálást kell végeznie)
Radelkis OP951/1 típusú mágneses keverő keverőbottal

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZER LEÍRÁSA

A WTW típusú pH-mérő hitelesítése. Ez a pH-mérő folyadékkristályos kijelzővel rendelkezik, amelyen egyszerre jeleníti meg a mért pH és - az elektrodba épített érzékelő segítségével - a hőmérséklet értékét. A műszer hitelesítését két standard pufferoldat

segítségével végezzük (a két oldat pH-ja 2 és 7, vagy 2 és 10 attól függően, hogy milyen oldatok vannak a gyakorlaton előkészítve). A hitelesítés elvi alapját az képezi, hogy az elektródpotenciál pH-tól való lineáris függése miatt az egyenes meredekségét és tengelymetszetét úgy kell szabályozni, hogy a mérőműszer a helyes pH értéket tudja kijelezni. A hitelesítéshez öntsünk pár cm^3 -t a két pufferoldatból egy-egy száraz (egyszer használatos) kisméretű műanyag edénybe, amelybe az üvegelektrod vége bele tud merülni. Mossuk le az üvegelektrodot desztillált vízzel és egy szűrőpapírral óvatosan itassuk le a folyadékot az elektród membránjáról (kúpos végéről). Figyelem, a dörzsölés rendkívüli módon árt az elektród membránjának, ezért ezt mindig kerüljük el!

Ellenőrizze, hogy az üvegelektrod BNC csatlakozója a műszer „**pH/U probe**” feliratú aljzatához, míg az elektród hőmérséklet érzékelőjének banándugós csatlakozója a „**TP**” feliratú aljzathoz van csatlakoztatva, és a műszer be van kapcsolva. Ha szükséges, az „**M**” gombot annyiszor nyomja meg, hogy a műszer pH-mérő üzemmódba kerüljön, amit a kijelzőn a számok felett a „**pH**” jelzés megjelenése mutat. Nyomja most meg a „**CAL**” feliratú gombot, aminek hatására az „**Autocal TEC**” jelzés és a „**Ct 1**” felirat jelenik meg a kijelzőn. Ezek után merítsük az elektródot a pH= 2,00 pufferoldatba úgy, hogy az oldat ellepje az elektród kúpos membránját és annak nyakrésze közelében található kb. 1 mm átmérőjű pórusos üveg- vagy kerámia szűrőt is (ez teremt elektromos kontaktust a beépített referens elektród és a membrán külső része között). Ezután nyomjuk meg a „**RUN/ENTER**” gombot. A műszer ekkor elkezd mérni az elektródpotenciált (ezt jelzi a villogó „**AR**” jelzés), majd ha azt kellően stabilnak találja, akkor a mért értéket rögzíti és megjeleníti a „**Ct 2**” feliratot. Ezt követően az elektródot leöblíti és azt a nagyobb pH-jú pufferoldatba meríti, majd a „**RUN/ENTER**” gombot megnyomja. Amikor a műszer végzett az elektródpotenciál ismételt mérésével, a kijelzőn megjelenik az elektród érzékenysége (meredeksége) mV/pH egységekben. Ezt az értéket az „**M**” gomb megnyomásával nyugtázza. Ha kell, a gombot többször nyomja meg, hogy visszatérjen a műszer a pH-mérő üzemmódba, amit a „**pH**” jelzés megjelenése mutat. Ezzel befejezte a hitelesítést, a műszer mérőkész.

A Radelkis pH-mérő hitelesítése. A Radelkis digitális pH-mérő hitelesítését két standard pufferoldat (pH= 2 illetve 9 vagy 10 körüli, a pontos pH-érték a tárolóedényen fel van tüntetve) segítségével végezzük. A hitelesítés elvi alapját az képezi, hogy az elektródpotenciál pH-tól való lineáris függése miatt az egyenes meredekségét és tengelymetszetét úgy kell szabályoznunk, hogy a mérőműszer a helyes pH értéket tudja kijelezni. Öntsünk kb. 25 cm^3 -t a két pufferoldatból egy-egy száraz és tiszta 50 cm^3 -es főzőpohárba. Mossuk le az üvegelektrodot desztillált vízzel és egy szűrőpapírral óvatosan itassuk le a folyadékot az elektród membránjáról. Figyelem, a dörzsölés rendkívüli módon árt az elektród membránjának, ezért ezt mindig kerüljük el! Merítsük az elektródot a pH ~ 2-es pufferba úgy, hogy az oldat ellepje az elektród üveggömbjét, és hogy a gömb fölött levő kb. 1 mm átmérőjű pórusos üveg- vagy kerámia szűrő (ami elektromos kontaktust teremt a beépített referens elektród és a membrán külső része között) is a folyadék szintje alatt legyen. A digitális pH-mérőn eresszük ki a „**STDBY/MEAS**” és nyomjuk be a „**pH**” nyomógombokat (előbbivel a műszert mérőállásba, utóbbival pH-mérő üzemmódba helyezzük). Ezután a „**SET**

STD.1” beállítószerwen állítsuk be az első pufferoldat *tényleges* pH-értékét , majd a „**STD.1. fine**” gombbal szabályozzuk addig a digitális kijelzőn látható pH-t, amíg az pontosan meg nem egyezik a puffer *tényleges* pH-jával. A beállítást akkor fejezzük be, amikor a digitális kijelzőn mutatott pH-érték gyakorlatilag már nem változik. Emeljük ki az elektródot, mossuk le desztillált vízzel, itassuk le és mérítsük a második pufferoldatba (pH ~ 9). Az „**STD.2.**” forgatógomb segítségével állítsuk be a digitális kijelzőn a második pufferoldat *tényleges* pH értékét. Ugyanúgy mint az előbb, a beállítást az elektród oldatba merítése után 0,5 – 1 perccel végezzük el, általában ennyi idő szükséges ez elektródon az egyensúly beállításához. Ha a pH-mérő által mutatott érték még egy perc után is változik („mászik”), akkor kérjük a gyakorlatvezető segítségét, ugyanis feltehetően cserére szorul az elektród. A kalibrálás végén nyomjuk be a „**STDBY/MEAS.**” gombot és az elektródot helyezzük vissza a tároló oldatba (ami általában desztillált víz).

Vizes oldatok pH-jának meghatározása. Hozzunk magunkkal a laboratóriumba 4-6 vizes oldatot, amelynek a pH-ját meg kívánjuk mérni (ez lehet pl. csapvíz, ásványvíz, üdítő, vegyszeroldat, stb.). Vegyünk egy megfelelő mennyiségű mintát a mérendő oldatból, és mérítsük a desztillált vízzel lemosott és megszáritott kombinált üvegelektrodot a mérendő oldatba. Szükség esetén kérjük a gyakorlatvezető segítségét a minták mérésre való előkészítésében. Radelkis típusú pH-mérő esetén a méréshez kiengedjük a műszer „**STDBY/MEAS.**” gombját; a WTW műszer automatikusan elkezd mérni az elektród oldatba merítése után. Megvárjuk, míg a kijelzőn mutatott pH-érték állandósul (ez általában nem több, mint 0,5-1 perc), majd feljegyezzük az adatot. Két mérés között az elektródot mindig alaposan mossuk le desztillált vízzel.

Foszforsavoldat koncentrációjának meghatározása. Az ismeretlen koncentrációjú foszforsavoldatot maradék nélkül átvisszük egy 100,00 cm³-es mérőlombikba, és desztillált vízzel jelig töltjük. Az így kapott oldat 10,00 cm³-es részletét tiszta 100 cm³-es főzőpohárba pipettázzuk és elegendő mennyiségű desztillált vizet (ld. fentebb) adunk hozzá. Ügyeljünk arra, hogy a főzőpohárban levő mágneses keverő ne érhesen hozzá az elektród érzékeny és törékeny membránjához. Mielőtt a mérendő oldatba helyeznénk, alaposan mossuk le az elektródot desztillált vízzel.

Ha a gyakorlat elvégzéséhez nem manuális (üveg) buretta áll rendelkezésére, akkor ismerje meg az automata buretta működését (Schott Titronic Basic típus). Ennek a burettának a működése is egy precíziós elektromos léptetőmotorral hajtott fecskendőn alapul. A buretta a felső részén látható 20 cm³ teljes térfogatú műanyag fecskendőben tárolja a mérőoldatot; ha a léptetőmotorral hajtott dugattyú utasításra felfelé mozdul, akkor az oldat kiadagolásra kerül, míg lefelé mozdítva a dugattyút, a fecskendő felszívja az oldatot. A felszívó csőnek mindig a mérőoldatot tároló edény folyadékszintje alá, a kiadagoló csőnek pedig a titrálandó oldatba kell érnie. Használat előtt mindig gondoskodjunk arról, hogy az oldatvezető csövek buborékmentesek legyenek – ezt úgy érhetjük el, hogy több fecskendőtérfogatnyi oldatot kiadagolunk a burettából; a folyadék ilyenkor legtöbbször magával viszi a buborékokat is. Ha szükséges kocogtatással segíthetjük a buborékok távozását. A buretta működését két nyomógombbal tudja irányítani, ami egy számítógépes egérhez hasonló eszközön található. A

baloldali, világosabb szürke nyomógomb megnyomásával a buretta feltölti magát mérőoldattal és a folyadékkristályos kijelző, ami mindig a kiadagolt térfogatot mutatja mL egységekben, lenullázódik. A jobboldali gomb a kiadagolás vezérlését szolgálja. Ennek a gombnak minden finom kattintására egy $0,01\text{ cm}^3$ -es mérőoldatrészlet kerül kiadagolásra. Ha ezt a gombot lenyomva tartjuk, akkor a kiadagolás mindaddig folytatódik, amíg a gombot fel nem engedjük. Az adagoláskor vegyük figyelembe, hogy grafikus (milliméter papíros) kiértékelésnél csak $0,05\text{ cm}^3$ egységekben tudjuk a fogyást jól ábrázolni.

A próbatitrálás során intenzív keverés mellett kb. $0,5\text{ cm}^3$ -es részletekben adagoljunk az oldathoz NaOH mérőoldatot, max. 15 cm^3 -es fogyásig. A pH értéket akkor jegyezzük fel, amikor a műszer legalább 10 másodpercig a második tizedesjegyig stabil értéket jelez (az ekvivalenciapontok közvetlen környezetében ennek a feltételnek a teljesülése nehezebb, így attól szükség eltekinthetünk). Jegyezzük fel az összetartozó fogyás-pH értékeket. Kettő, de ha az idő engedi, inkább három további titrálást végezzünk és az ismételt méréseknél a nagyobb pH-változások környékén kisebb ($0,1\text{ cm}^3$) részletekben adagoljuk a mérőoldatot.

Az ekvivalenciapont grafikus meghatározása. Milliméterpapíron ábrázoljuk a mérőoldat fogyásának függvényében a mért pH értékeket. A fogyás tengelyen 1 cm^3 -nek legalább 2 cm feleljen meg (ha ennél kevesebb, akkor az ábrázolás pontossága kisebb mint a bürettával való térfogatmérés pontossága.). Vonalzóval illesszünk három egyenest a görbe három közel vízszintes lépcsőjére (ezek pH tartományai kb.: 1-3, 6-8 és 11-13). Ezután illesszünk egyeneseket a görbe két közel függőleges „átcsapási” tartományára is. Az egyenesek metszéspontjaihoz tartozó fogyásértékek páronkénti átlagolásával határozzuk meg a titrálás ekvivalenciapontjainak helyét (V_1 és V_2). Az átlagszámításba a tájékozódó mérésből számolható eredményeket ne vegyük bele.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Legalább négy, szabadon megválasztott vizes oldat mért pH értékei, és a megfigyelések értelmezése
- A foszforsav titrálási görbéi, az ekvivalenciapontok helye bejelölve (grafikus meghatározás)
- Az ismeretlen foszforsavoldat koncentrációja (mol/dm^3 -ben) mind az első, mind a második ekvivalenciapont alapján külön-külön kiszámítva

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Hogyan változik az elektródpotenciál az elektródaktív anyag koncentrációjával?
2. Definiálja az első- és másodfajú elektród fogalmát!
3. Mi az üvegelektrod működési elve?
4. Mit nevezünk indikátorelektrodnak? Milyen típusait ismeri?

-
5. Definiálja a direkt potenciometria és a potenciometriás titrálás fogalmát, értelmezze a kettő közti különbséget!
 6. Definiálja a titrálási görbe fogalmát! Vázolja fel a foszforsav NaOH-dal történő titrálása során nyert titrálási görbét, jelölje az egyes görbeszakaszokhoz tartozó kémiai folyamatokat és ekvivalenciapontokat!
 7. Sorolja fel a potenciometriás titrálási görbék ekvivalenciapontjának meghatározására szolgáló grafikus és numerikus eljárásokat!
 8. Vas-só részlegesen oxidált oldatába Pt elektródot merítettünk. Ennek az elektródnak a potenciálját egy telített kalomel elektródhoz képest mérjük (a Pt a pozitív pólus) és az elektromotoros erőt 0,447 V-nak találjuk. Az összes vasion koncentrációnak hány százaléka található Fe^{3+} formában a sóoldatban?
($E^\circ_{\text{Fe(II)/Fe(III)}} = 0,772 \text{ V}$; $E^\circ_{\text{kalomel}} = 0,242 \text{ V}$; a helyes megoldás: 96,2%)
 9. Egy egyprotonos gyenge sav 0,0500 M-os vizes oldatában a pH-t 25 °C-on 3,03-nak mértük. Mennyi ennek a gyenge savnak a savi disszociációs egyensúlyi állandója ?
Valószínűleg melyik savról van szó?
(a helyes megoldás: $1,8 \cdot 10^{-5}$, ecetsav)
 10. Feltételezve, hogy a Nernst egyenlet tökéletesen érvényesül, számítsa ki a kloridionok koncentrációját egy olyan oldatban, amelyben egy kloridion-szelektív elektród potenciálja 0,191 V!
($E^\circ = 0,268 \text{ V}$; a helyes megoldás: 0,0497 M)

REDOXI TITRÁLÁS POTENCIOMETRIKUS VÉGPONTJELZÉSEL

A GYAKORLAT CÉLJA: A redoxi elektródok működésének tanulmányozása, Fe^{2+} ionok Ce^{4+} ionokkal való redoxi titrálásának végrehajtása potenciometrikus végpontjelzéssel.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

Potenciometria. A potenciometria az elektrolitoldatba merülő elektród felületén kialakuló potenciál mérésén alapuló elektroanalitikai módszer. Például ha egy ezüstionokat (Ag^+) tartalmazó oldatba ezüstdrótot helyezünk, a dróton kialakul egy sztatikus (vagy egyensúlyi) elektromos potenciál. Az így kapott, az oldatba merülő elemi állapotú fémből és a fém sójából álló oldat együttesét *elsőfajú elektródnak* nevezzük. Az elsőfajú elektródok potenciálja pontosan ellenőrzött körülmények között jól definiált módon változik az elektródfém ionjainak oldatbeli koncentrációjával, ezért alkalmas annak mennyiségi meghatározására. Az elsőfajú elektródok mellett számos olyan elektródot is kifejlesztettek már, amelyek potenciálját egy adott (nem feltétlenül fém-) ion vagy esetleg molekula oldatbeli koncentrációja szabja meg. Ilyenek például a pH-érzékeny-, ionszelektív-, enzim-, gáz-, redoxi- és amalgámelektródok. Mivel ezek potenciálváltozása alapján pl. a titrálások során az oldatokban bekövetkező koncentrációváltozások nyomonkövethetők, a felsorolt elektródokat az analitikai kémiában együttesen *indikátorelektródoknak* is nevezik.

A Nernst-egyenlet. Az az ion- vagy molekulafajta, amelyik az elektród potenciálját meghatározza (ez a fentebbi példa esetében az Ag^+ ion), az ún. *elektródaktív komponens*. Az elektródaktív komponens *kémiai aktivitása* és az *elektród potenciálja* (E) közötti kapcsolatot a Nernst-egyenlet írja le. Ha az elektródpotenciál mérése során biztosítjuk (pl. jelentős mennyiségű indifferens vezetősó, ún. *háttélektrolit* hozzáadásával), hogy az oldat ionerőssége és ezzel az elektrolit aktivitási koefficiense állandó maradjon, akkor utóbbi összevonható a standard potenciállal (E°), és így az egyenlet a következő egyszerű formában írható fel (298 K-en):

$$E = E^\circ + \frac{0,0591}{n} \cdot \lg c$$

ahol n az elektródreakció során bekövetkező elektronszámváltozás. Az elektródpotenciál értékének pontos megmérése révén, E° ismeretében (vagy kalibráció révén) a koncentráció kiszámítható — ezt az eljárást *direkt potenciometriának* nevezzük. A laboratóriumi gyakorlatban E° általában nem ismert pontosan, mivel meghatározása gyakran hosszadalmas és körülményes művelet. Szerencsére *titrálások potenciometriás végpontjelzésekor* (indirekt potenciometria) ennek pontos ismeretére nincs is szükség, hiszen ilyenkor a potenciál változását követjük, és a potenciálnak a végpontban bekövetkező ugrásából határozzuk meg a titrálás ekvivalenciapontjának helyét.

Viszonyítási elektródok. Közismert, hogy egy elektród potenciálját mindig csak egy másik elektródhoz képest, ahhoz viszonyítva lehet meghatározni, az elektródpotenciálok különbségének (feszültség) mérésével. Technikailag ez azt jelenti, hogy az indikátorelektrodot egy ún. *viszonyítási* (vagy referencia) *elektroddal* kapcsolják össze. Ha a viszonyítási elektród potenciálja mérés során jó közelítéssel állandó, akkor a bekövetkező potenciálváltozás egyedül az elektródaktív komponens koncentrációjának (aktivitásának) változását fogja tükrözni. Viszonyítási elektródként szolgálnak az ún. *másodfajú elektródok*, a gyakorlatban a Ag/AgCl vagy a Hg/Hg₂Cl₂ (kalomel) elektródok a legelterjedtebbek. A másodfajú elektródok egy fémből, annak rosszul oldódó sójából, valamint a só anionját tartalmazó, jól oldódó só elegendően nagy koncentrációjú (esetenként telített) oldatából álló rendszer. Ebben az elrendezésben az elektródaktív ion koncentrációja bizonyíthatóan állandó, ami egyúttal garantálja az állandó elektródpotenciált.

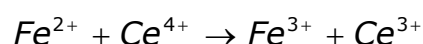
Redoxielektrodok. A redoxi elektródok elektródpotenciálját a felületükön lejátszódó elektroncsere egyensúlyok alakítják ki. Ezek az elektródok olyan inert anyagokból (pl. platinafémek, arany, grafit) készülnek, amelyek nem vesznek részt az elektródfolyamatban (nem oxidálódnak vagy redukálódnak), nem passzíválódnak (tehát felületükön még nagyon hosszú idő alatt sem alakul ki oxidréteg), ugyanakkor a felületükön egy redoxirendszer oxidált és redukált formája közötti elektronátmenet reverzibilisen lejátszódhat. Az egyik legismertebb redoxielektrod a standard hidrogénelektrod, amely a definíció szerint egy *egységnyi* (1 mol·dm⁻³) koncentrációjú HCl oldatba merülő, platinakorommal bevont (másszóval platinázott) platinalemezből és az oldaton keresztül buborékoltatott *egységnyi* (1 atm) nyomású H₂ gázból álló félcella. Az elektrokémiában ennek az elektródnak a potenciálját választották 0,00 V-nak, és az összes többi elektród ill. elektródfolyamat potenciálját ehhez a rögzített potenciálértékhez képest adják meg.

Fe²⁺ ionok titrálása Ce⁴⁺ ionokkal. Tekintsünk egy olyan vizes oldatot amelyben egy reverzibilis redoxirendszer mindkét tagja (pl. Fe²⁺ és Fe³⁺ ionok) egyidejűleg jelen van. Ha az oldatba egy inert elektródot merítünk, akkor az elektródon elektroncsere egyensúly alakul ki, az ehhez tartozó *egyensúlyi elektródpotenciált* (E) a Nernst-Peters egyenlet írja le, amely standard körülmények között

$$E = E^\circ + \frac{0,0591}{n} \cdot \lg \frac{[ox]}{[red]}$$

alakú, ahol E^0 a redoxi rendszer standard potenciálja, n a folyamat során végbemenő elektronszámváltozás, ox a redox pár oxidált, red a redukált formáját (esetünkben a Fe^{3+} és Fe^{2+} ionokat) jelöli, a szögletes zárójellel jelölt mennyiségek pedig az egyes ionfélések aktivitásai. Látható, hogy az elektródpotenciál az oxidált és redukált forma aktivitásainak *aránya* határozza meg. Minden olyan fizikai vagy kémiai változás, amely ezt az arányt megváltoztatja (pl. rosszul disszociáló komplex vagy csapadék képződése, a Fe^{2+} oxidálása vagy a Fe^{3+} redukálása, stb.) E értékét is megváltoztatja. Így módon az elektródpotenciál közvetlen információval szolgál az oldatban levő redoxrendszer komponenseinek koncentrációjára vonatkozóan, és emiatt alkalmas különböző, ezzel kapcsolatban álló analitikai feladatok megoldására.

A redoxipotenciál mérése könnyen alkalmazható pl. redoxi titrálások végpontjelzésére, a végpontban ugyanis az oxidált vagy a redukált forma koncentrációja több nagyságrendet változik, ami az elektródpotenciálban igen jelentős ugrást eredményez. A gyakorlat során éppen ennek az elvnek alapján fogunk Fe^{2+} ionokat Ce^{4+} ionokkal oxidimetriásan meghatározni. Mivel a Ce^{4+}/Ce^{3+} rendszer redoxi standardpotenciálja (1,44 V) pozitívabb mint a Fe^{3+}/Fe^{2+} rendszeré (0,772 V), a két rendszer az alábbi reakcióegyenletnek megfelelően reagál.



A titrálás kezdetén a meghatározandó oldat gyakorlatilag csak Fe^{2+} ionokat tartalmaz, az oldat elektródpotenciálja rosszul definiált, a nyomnyi mennyiségben mindig jelenlevő Fe^{3+} koncentrációjától függ. Az Ce^{4+} oxidálószer hozzáadása során az egyenértékpont előtt olyan oldat képződik, amelyben Fe^{2+} és Fe^{3+} ionok összemérhető mennyiségben vannak jelen, és amelyben az addig adagolt összes Ce^{4+} ion Ce^{3+} ionná redukálódik. Emiatt a rendszer redoxipotenciálját az

$$E = 0,772 \text{ V} + 0,059 \cdot \lg \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]}$$

egyenlet alapján számíthatjuk ki. Vegyük észre, hogy az oldat redoxipotenciálját a *feleslegben levő* redoxi pár határozza meg, ez az egyenértékpont előtt a Fe^{3+}/Fe^{2+} rendszer. Ha 50%-ban oxidáltuk a Fe^{2+} ionokat, akkor $[Fe^{3+}] = [Fe^{2+}]$, tehát ebben a pontban a redoxipotenciál a normálpotenciállal lesz egyenlő. Tovább folytatva a titrálást, egyre több Fe^{3+} és egyre kevesebb Fe^{2+} lesz jelen a rendszerben, emiatt az oldatban mért redoxipotenciál fokozatosan növekszik. Ha kémiailag egyenértékű mennyiségben adtunk a rendszerhez oxidálószer, akkor a beálló potenciál (az ún. egyenértékpont potenciál, E_{ep}) E^0_1 és E^0_2 redoxi standardpotenciálú rendszerek esetén

$$E_{ep} = \frac{n_1 E^0_1 + n_2 E^0_2}{n_1 + n_2}$$

ahol n_1 és n_2 ez egyes rendszerek elektronszámváltozása. Könnyen látható, hogy az egyenértékponthoz mérhető redoxpotenciál a mi esetünkben 1,106 V. Az egyenértékpont után az oldat teljes vastartalma Fe^{3+} formában van jelen, a *feleslegben levő* redoxi pár a titrálásnak ebben a szakaszában a $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$ rendszer, emiatt a rendszer potenciálját a

$$E = 1,44 \text{ V} + 0,059 \cdot \lg \frac{[\text{Ce}^{4+}]}{[\text{Ce}^{3+}]}$$

képlet alapján számíthatjuk ki. Ennek megfelelően az egyenértékpont után az elektródpotenciál a $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$ rendszerre jellemző 1,3 – 1,5 V körüli értékeket vesz fel, és további Ce^{4+} mérőoldat részletek hozzáadásának hatására már alig változik.

SZÜKSÉGES ANYAGOK ÉS ESZKÖZÖK

kb. 0,1 M $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ oldat
alt. minőségű szilárd $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$
20 %-os H_2SO_4 oldat
1 M koncentrációjú KCl oldat (a referencia elektród külső köpenyének feltöltéséhez)
desztillált víz

1 db 10 cm³-es hasas pipetta
1 db pumpás adagoló vagy 10 cm³-es mérőhenger (a sav kiméréséhez)
1 db 100 cm³-es mérőlombik (az ismeretlen törzsoldatnak)
2 db 25 cm³-es száraz főzőpohár (a vassó beméréséhez és pipettázáshoz)
4 db 250 cm³-es főzőpohár (a titráláshoz)
1 db üvegedény (elektród-öblítéshez)
1 db 10 cm³-es buretta (ha manuális titrálást kell végeznie)
1 db üvegtölcsér
1 db pipettázó labda
papírtörölő

WTW inoLAB 720 pH/mV mérő vagy
Radelkis OP-208/1 típusú pH/mV mérő
Pt elektród, BNC csatlakozóval
Ag/AgCl vagy kalomel referenciaelektród
Radelkis OP951/1 típusú mágneses keverő keverőbetéttel
Schott Titronic Basic automata buretta vagy
OP-930/1 típusú automata buretta (ha automata titrálást végez)

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

A Radelkis automata buretta használata. A Radelkis OP-930/1 típusú automata buretta működésével ismerkedjen meg, mielőtt használni kezdi. Ennek a burettának a működése egy szabályozható sebességű, precíziós elektromos léptetőmotorral hajtott fecskendőn alapul. A buretta a felső részén látható üvegfecskendőben tárolja a mérőoldatot; ha a léptetőmotorral hajtott dugattyú utasításra felfelé mozdul, akkor az oldat kiadagolásra kerül, míg lefelé mozdítva a dugattyút, a fecskendő felszívja az oldatot. A fecskendő kivezető nyílása egy elektromos érzékelővel ellátott üvegcsap révén kétfelé ágazik – a csap egyik állása a felszíváshoz, a másik az adagoláshoz tartozik. Az üvegcsap kimeneteihez töltött műanyag csövek szolgálnak az oldat el- és hozzávezetésére. Az üvegcsap kétállású: a pillanatnyi pozíció megállapítását a csap fedőlapján elhelyezett, a folyadékaramlást fekete vonallal szimbolizáló ábra segíti (figyeljük meg a csőkapcsolatok követésével, hogy melyik állás felel meg felszívásnak és az adagolásnak!). A buretta nyugalmi állapotában a csapot felszívó állásba hozva a fecskendő automatikusan teleszívja magát oldattal – ha ez megtörtént, akkor a csapot fordítsuk vissza kiadagoló állásba. A buretta egyszerre két dugattyút/fecskendőt is képes lenne működtetni, azonban most csak egyet fogunk használni; ügyeljünk arra, hogy mindkét csapnak azonos állásban kell lennie! A csapot mindig végállástól végállásig fordítsuk el. Használat előtt mindig gondoskodjunk arról, hogy az oldatvezető csövek buborékmentesek legyenek – ha szükséges, a buborékokat kocogtatással (azokat felfelé „kivezetve”) vagy oldatmozgatással távolítsuk el. Az utóbbi esetben mindig **vigyázzunk, hogy az esetleg gyorsan kiáramló mérőoldat ne kerüljön szembe, bőrre!** A felszívó csőnek mindig a mérőoldat tároló edény folyadékszintje alá kell érnie, a kiadagoló cső pedig a titrálandó oldatba ér.

Az előlapon található kezelőszervek funkciója a következő. A „**Mains**” kapcsoló a hálózati főkapcsoló (ezt értelemszerűen be kell kapcsolni). A „**Speed**” feliratú választókapcsoló a kiadagolás sebességét szabályozza (ezt állítsuk 2-es állásba). A négydigites kijelző a már kiadagolt mérőoldat-térfogatot jelzi ki $0,001\text{ cm}^3$ felbontással. A „**Reset**” pillanatkapcsolót megnyomva bármikor nullázható a kijelzőn látható érték, a „**Start**” nyomógomb megnyomásakor indul az adagolás (az indítás előtt mindig nullázzuk a kijelzőt továbbá ellenőrizzük, hogy az üvegcsap adagolás állásban van, és a fecskendőben is van elegendő oldat), a „**Stop**” nyomógommbal bármikor megszakítható a kiadagolás, a „**100 μL** ” nyomógomb a lépésenként való adagoláshoz szükséges (ha ez a gomb be van nyomva, a „**Start**” megnyomására a buretta $100\text{ }\mu\text{L}$ oldatot adagol ki és megáll). Az „**Aut./Manual.**” kapcsoló mindig legyen „**Manual**” állásban.

A Schott Titronic Basic automata buretta használata. Ennek a burettának a működése is egy precíziós elektromos léptetőmotorral hajtott fecskendőn alapul. A buretta a felső részén látható 20 cm^3 teljes térfogatú műanyag fecskendőben tárolja a mérőoldatot; ha a léptetőmotorral hajtott dugattyú utasításra felfelé mozdul, akkor az oldat kiadagolásra kerül, míg lefelé mozdítva a dugattyút, a fecskendő felszívja az oldatot. A felszívó csőnek mindig a

mérőoldatot tároló edény folyadékszintje alá, a kiadagoló csőnek pedig a titrálandó oldatba kell érnie. Használat előtt mindig gondoskodjunk arról, hogy az oldatvezető csövek buborékmentesek legyenek – ezt úgy érhetjük el, hogy több fecskendőterfogatnyi oldatot kiadagolunk a bűrettából; a folyadék ilyenkor legtöbbször magával viszi a buborékokat is. Ha szükséges kocogtatással segíthetjük a buborékok távozását. A bűretta működését két nyomógommbal tudja irányítani, ami egy számítógépes egérhez hasonló eszközön található. A baloldali, világosabb szürke nyomógomb megnyomásával a bűretta feltölti magát mérőoldattal és a folyadékkristályos kijelző, ami mindig a kiadagolt térfogatot mutatja mL egységekben, lenullázódik. A jobboldali gomb a kiadagolás vezérlését szolgálja. Ennek a gombnak minden finom kattintására egy $0,01\text{ cm}^3$ -es mérőoldatrészlet kerül kiadagolásra. Ha ezt a gombot lenyomva tartjuk, akkor a kiadagolás mindaddig folytatódik, amíg a gombot fel nem engedjük. Az adagoláskor vegyük figyelembe, hogy grafikus (milliméter papíros) kiértékelésnél csak $0,05\text{ cm}^3$ egységekben tudjuk a fogyást jól ábrázolni.

A $0,1\text{ M Ce(SO}_4)_2$ oldat pontos koncentrációjának meghatározása. A kb. $0,1\text{ M Ce(SO}_4)_2$ oldat pontos koncentrációjának meghatározásához elsődleges standardként alt. minőségű $\text{Fe(NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -t ($M_r = 392,14\text{ g/mol}$) használunk. Analitikai mérlegen egy tiszta és száraz 25 cm^3 -es főzőpohárba mérjük be pontosan ismert mennyiségű $2\text{ g} (\pm 5\%) \text{ Fe(NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -t. Adjunk hozzá $10\text{--}15\text{ cm}^3$ desztillált vizet majd rögtön ezután $10\text{ cm}^3\ 20\text{ \%}$ -os H_2SO_4 oldatot mérőhengerrel. Az oldatot kvantitatíven vigyük át egy $100,00\text{ cm}^3$ -es mérőlombikba, amit desztillált vízzel jelre töltünk és homogenizálunk. Az így kapott oldat $10,00\text{ cm}^3$ -es részletét egy 250 cm^3 -es főzőpohárba pipettázzuk, hozzáadunk kb. 100 cm^3 desztillált vizet és belehelyezzük a mágneses keverőrudat.

Mielőtt a mérendő oldatba helyeznénk, alaposan mossuk le a Pt indikátor elektródot desztillált vízzel és ellenőrizzük a referencia elektród elektrolittal való feltöltöttségét. Helyezzük az elektródokat a titrálandó oldatba. Ezek után a mV-mérő műszert kell megfelelően üzembe helyeznie.

A WTW inoLAB 720 típusú mV-mérő használata esetén ellenőrizze, hogy az indikátor elektród BNC csatlakozója a műszer „pH/U probe” feliratú aljzatához, míg a referencia elektród banándugós csatlakozója a „ref” feliratú aljzathoz van csatlakoztatva, és a műszer be van kapcsolva. Ha szükséges, az „M” gombot annyiszor nyomja meg, hogy a műszer mV-mérő üzemmódba kerüljön, amit a kijelzőn a számok felett a „mV” jelzés megjelenése mutat; ekkor a műszer mérőkész. *A Radelkis OP-208/1 típusú mV-mérő használata esetén* a referencia elektród az „R” jelű, az indikátorelektrod a „G” jelű BNC aljzathoz csatlakoztatandó. A műszer „mV” reteszelt gombját benyomott, a „STDBY/MEAS” gombot valamint az „ABS/REL” gombot kiengedett állapotba hozzuk; ezután a műszer mérőkész.

A bűretta fecskendőjét töltsük fel a $\text{Ce(SO}_4)_2$ mérőoldattal, a számlálót nullázzuk le, és a bevezető csövet töröljük szárazra, majd helyezzük az automata bűretta kivezető csövét a titrálandó oldatba. Intenzív keverés mellett adagoljunk az oldathoz $\text{Ce(SO}_4)_2$ mérőoldatot a bűrettából. Az adagolást a végponttól távol (amely könnyen kiszámítható módon 5 mL fogyás környékén várható) nagyobb lépésekben végezzük; a végpont közelében azonban $100\text{ }\mu\text{L}$ -es lépésekben. A feszültségértékeket mindig akkor jegyezzük fel, amikor a műszer legalább 10

másodpercig második tizedesjegyben stabil értéket jelez (az ekvivalenciapont közvetlen környékében ettől a feltételtől tekintünk el). Jegyezzük fel az összetartozó fogyás és mV értékeket. A titrálást folytassuk 10,00 cm³-es fogyásig és legalább három párhuzamos titrálást végezzünk el.

Ismeretlen oldat Fe²⁺ tartalmának meghatározása. A kiadott ismeretlen oldatból mérőlombikban 100,00 cm³-es törzsoldatot készítünk, és az oldat 10,00 cm³-es részleteit az előző bekezdésben leírt módon titráljuk meg Ce(SO₄)₂ mérőoldattal.

Az ekvivalenciapont kiszámítása. Táblázatosan adjuk meg és milliméterpapíron ábrázoljuk az összetartozó fogyás (V_i) – elektródpotenciál (mV) értékeket és a titrálási görbékre történő grafikus egyenesillesztéssel határozzuk meg az egyes titrálások ekvivalenciapontjait.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Az összesen hat titrálás során kapott összetartozó fogyás (V_i) – elektródpotenciál (mV) értékek táblázatosan megadva és milliméterpapíron ábrázolva
- A Ce(SO₄)₂ mérőoldat pontos koncentrációja és precizitása
- Az ismeretlen oldat vastartalma Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ · 6 H₂O mg-ban kifejezve
- A mérések során kapott ekvivalenciapontbeli potenciálok átlaga

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Ismertesse a Nernst-egyenlet egy redoxi reakcióra érvényes általános alakját, és adja meg a benne szereplő mennyiségek definícióját!
2. Mit nevezünk indikátorelektroddnak? Sorolja fel a legfontosabb indikátorelektrod típusokat!
3. Írja le az első- és másodfajú elektrod fogalmát!
4. Írja le a potenciometriás cella fogalmát és annak alkotórészeit!
5. Definiálja a redoxielektrod fogalmát!
6. Milyen fémekből készülhet redoxielektrod?
7. Mit nevezünk standard hidrogénelektroddnak?
8. Miért használható a Ce(SO₄)₂ oldat Fe²⁺ ionok oxidimetriás meghatározására?
9. 0,105 M-os Fe³⁺ ionokat tartalmazó oldatot titrálunk azonos koncentrációjú, Sn²⁺ ionokat tartalmazó oldattal. A titrálást potenciometrikusan követjük. Számítsuk ki, hogy mekkora lesz 50%-os titráltsági foknál és a végpontban a mérhető feszültség egy Pt és egy telített kalomel elektrod között?
($E^\circ_{\text{Fe(II)/Fe(III)}} = 0,772 \text{ V}$; $E^\circ_{\text{Sn(II)/Sn(IV)}} = 0,15 \text{ V}$; $E^\circ_{\text{kalomel}} = 0,242 \text{ V}$;
a helyes megoldások: 0,53 V és 0,118 V)

-
10. Összekeverünk 14 cm^3 $1,78\text{ m/v\%-os Ce}^{3+}$ oldatot 107 cm^3 $0,21\text{ M Ce}^{4+}$ oldattal.
Mekkora lesz ennek a redoxi rendszernek a potenciálja, amelyet egy bemerített Pt elektróddal mérünk?
($E^\circ_{\text{Ce(III)/Ce(IV)}} = 1,44\text{ V}$; a Ce relatív móltömege: $140,12\text{ gramm/mol}$;
a helyes megoldás: $1,505\text{ V}$)

A DIREKT POTENCIOMETRIA ALKALMAZÁSA

A GYAKORLAT CÉLJA: Az ionszelektív elektróddal kivitelezett direkt, kalibrált potenciometria módszerének megismerése és alkalmazása.

A MEGHATÁROZÁS ELVE

Potenciometria. A potenciometria az elektrolitoldatba merülő elektród felületén kialakuló potenciál mérésén alapuló elektroanalitikai módszer. Például ha egy ezüstionokat (Ag^+) tartalmazó oldatba ezüstdrótot helyezünk, a dróton kialakul egy sztatikus (vagy egyensúlyi) elektromos potenciál. Az így kapott, az oldatba merülő elemi állapotú fémről és a fém sójából álló oldat együttesét *elsőfajú elektródnak* nevezzük. Az elsőfajú elektródok potenciálja pontosan ellenőrzött körülmények között jól definiált módon változik az elektródfém ionjainak oldatbeli koncentrációjával, ezért alkalmas annak mennyiségi meghatározására. Az elsőfajú elektródok mellett számos olyan elektródot is kifejlesztettek már, amelyek potenciálját egy adott (nem feltétlenül fém-) ion vagy esetleg molekula oldatbeli koncentrációja szabja meg. Ilyenek például a pH-érzékeny-, ionszelektív-, enzim-, gáz-, redoxi- és amalgámelektrodok. Mivel ezek potenciálváltozása alapján pl. a titrálások során az oldatokban bekövetkező koncentrációváltozások nyomkövethetők, a felsorolt elektródokat az analitikai kémiában együttesen *indikátorelektrodoknak* is nevezik.

A Nernst-egyenlet. Az az ion- vagy molekulafajta, amelyik az elektród potenciálját meghatározza (ez a fentebbi példa esetében az Ag^+ ion), az ún. *elektródaktív komponens*. Az elektródaktív komponens *kémiai aktivitása* és az *elektród potenciálja* (E) közötti kapcsolatot a Nernst-egyenlet írja le. Ha az elektródpotenciál mérése során biztosítjuk (pl. jelentős mennyiségű indifferens vezetősó, ún. *háttélektrolit* hozzáadásával), hogy az oldat ionerőssége és ezzel az elektrolit aktivitási koefficiense állandó maradjon, akkor utóbbi összevonható a standard potenciállal (E°), és így az egyenlet a következő egyszerű formában írható fel (298 K-en):

$$E = E^\circ + \frac{0,0591}{n} \cdot \lg c$$

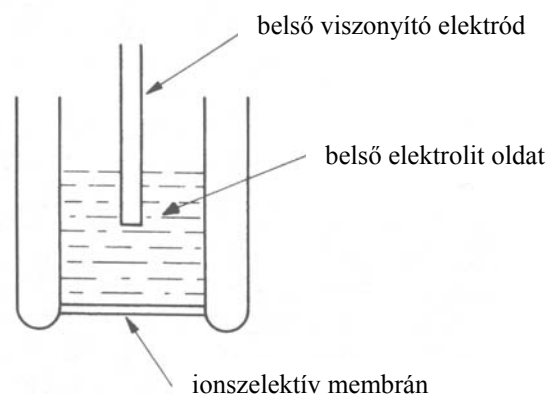
ahol n az elektródreakció során bekövetkező elektronszámváltozás. Az elektródpotenciál értékének pontos megmérése révén, E° ismeretében (vagy kalibráció révén) a koncentráció kiszámítható — ezt az eljárást *direkt potenciometriának* nevezzük.

Viszonyítási elektródok. Közismert, hogy egy elektród potenciálját mindig csak egy másik elektródhoz képest, ahhoz viszonyítva lehet meghatározni, az elektródpotenciálok különbségének (feszültség) mérésével. Technikailag ez azt jelenti, hogy az indikátorelektrodot egy ún. *viszonyítási* (vagy referencia) *elektroddal* kapcsolják össze. Ha a viszonyítási elektród potenciálja mérés során jó közelítéssel állandó, akkor a bekövetkező potenciálváltozás egyedül az elektródaktív komponens koncentrációjának (aktivitásának) változását fogja tükrözni. Viszonyítási elektródként szolgálnak az ún. *másodfajú elektródok*, a gyakorlatban a Ag/AgCl vagy a Hg/Hg₂Cl₂ (kalomel) elektródok a legelterjedtebbek. A másodfajú elektródok egy fémből, annak rosszul oldódó sójából, valamint a só anionját tartalmazó, jól oldódó só elegendően nagy koncentrációjú (esetenként telített) oldatából álló rendszer. Ebben az elrendezésben az elektródaktív ion koncentrációja bizonyíthatóan állandó, ami egyúttal garantálja az állandó elektródpotenciált.

Direkt potenciometria használatakor gyakran alkalmazunk ún. *kettős diffúziós határrétegű referencia elektród*ot. Ez a szokásos referencia elektródokhoz képest egy további külső, üvegcsiszolattal záródó teret is tartalmaz, amelyet leggyakrabban 1 M-os KNO₃ oldattal töltünk fel. Emiatt a külső tér miatt a referencia elektród belső teréből kидiffundáló elektrolit a második diffúziós határréteg (csiszolat) miatt nem szennyezi el a mérendő oldatot. Így lehet például a KCl töltetű Ag/AgCl referencia elektródot alkalmazni olyan oldatban is, amelyből kloridionokat akarunk meghatározni.

Ionszelektív elektródok. Az ionszelektív alapelektrodoknak mind a konstrukció, mind a működési elv szerint számos fajtáját különböztetjük meg. Számos típus potenciálja nem követi a Nernst-egyenletet sem, azonban mindig igaz, hogy az elektródaktív ion koncentrációjának megváltozása eltolja az elektród potenciálját, ami a gyakorlati alkalmazáshoz elegendő. Az ionszelektív elektródok leggyakoribb típusa a membránelektrod. Ezen elektródok felépítése hasonló az üvegelektrodéhoz azzal a különbséggel, hogy itt a membrán egy szervesen csapadékból préselt lapos pasztilla (lemez) vagy vezetővé tett műanyag membrán, amelybe alkalmas szerves vegyület (pl. enzim) van beágyazva. Ehhez a „membránhoz” legtöbbször közvetlenül csatlakozik a potenciál kivezető fémérintkező, ritkábban megtalálható itt is a belső referencia elektród. Az elektródtest többnyire egy műanyag cső, alján a membránnal (**1. ábra**).

A működés elve a csapadékból készült membrán esetében röviden az, hogy minden csapadék képes a saját ionjait adszorbeálni a vele érintkező elektrolitoldatból, miáltal is a csapadékon felületi töltés, következésképpen felületi potenciál jön létre. Ezt az elvet követve például LaF₃ egykristállyal La³⁺ és F⁻ szelektív, Ag₂S polikristállyal Ag⁺ és S²⁻ érzékeny elektród készíthető. Az ionszelektív elektródokat használat előtt tömény (pl. 0,1 M) oldatban kell áztatni; például CuSO₄, KCl, KBr, KI, NaF vagy AgNO₃ oldatban.



1. ábra. Egy ionszelektív membránelektród vázlatos keresztmetszeti képe

A direkt potenciometria. A direkt potenciometria fő elvi előnye, hogy igen gyors koncentráció meghatározást tesz lehetővé. Kivitelezése azonban nehézkes, különösen amiatt, hogy a potenciál mérése során esetleg fellépő kis mérési bizonytalanság is jelentős pontatlanságot okozhat a koncentráció Nernst-egyenletből való közvetlen meghatározásában. Emiatt a diffúziós potenciál kiküszöbölése itt különösen fontos (kettős diffúziós határrétegű referencia elektródot célszerű alkalmazni) és a hőmérséklet pontos ismerete, illetve az oldat és az elektródok hőmérsékletének, valamint az ionerősség állandó értéken tartása szintén elengedhetetlen. A száraz üvegeszközök (elektród, mérő főzőpohár, stb.) használatára is oda kell figyelni, mivel egy kevés hátramaradt oldat vagy desztillált víz a következő mérendő oldatot meghígíthatná, ami ismét mérési hibát okozna. Mindezen nehézségek miatt a direkt potenciometriát ebben a közvetlen formájában ritkán használják. Gyakorlati mérések céljaira úgy alkalmazzuk, hogy az indikátorelektród potenciálját kalibráljuk, vagyis mérőgörbét veszünk fel ismert koncentrációjú oldatsorozat mérésével és az ismeretlen oldat koncentrációját erről a mérőgörbéről olvassuk vissza. A mérőgörbe alakja közelítőleg egyenes lesz, ha a vízszintes tengelyen a koncentráció logaritmusát ábrázoljuk. Érdekes a mérési adatok ábrázolását és az egyenes illesztését számítógéppel végezni a lehető legnagyobb leolvasási pontosság elérése érdekében. A direkt potenciometria ezen formájában már kielégítő pontosságot és reprodukálhatóságot képes nyújtani a gyakorlati mérések számára. Hordozható feszültségmérő és ionszelektív elektródok felhasználásával a gyakorlatban igen elterjedt egyes ionkoncentrációk (pl. Na^+ , K^+ , F^- , Cu^{2+} , stb.) gyors, rutinszerű mérése (pl. egyes vízminőségi paraméterek ellenőrzése vagy monitorozása a terepen, egyes klinikai mérések).

Direkt potenciometria kivitelezése standard addíciós kalibráció alkalmazásával.

A mai gyakorlat során az ionerősség hatásának kiküszöbölésére standard addíciós kalibrációt fogunk alkalmazni. A feladat elméleti háttére a következő. Először is írjuk fel a Nernst egyenletet standard körülmények között, egy általános alakban, amelyben a meghatározandó komponens aktivitása (a) szerepel:

$$E = A \cdot \lg a + B$$

Ezután az aktivitást a koncentráció (c) és az aktivitási koefficiens (f) szorzatával helyettesítve, majd a logaritmus függvény azonosságait felhasználva

$$E = A \cdot \lg(c \cdot f) + B = A \cdot \lg c + A \cdot \lg f + B = A \cdot \lg c + B'$$

adódik, ami az eredetivel analóg kifejezés. Ezek után a koncentráció kifejezhető a

$$c = 10^{\frac{E-B'}{A}} = \frac{10^{\frac{E}{A}}}{10^{\frac{B'}{A}}}$$

képlettel. Tekintsük most a standard addíciós kalibráció esetét, mégpedig oly módon, hogy egy V_i térfogatú, ismeretlen c_i koncentrációjú és ionerősségű mintához V_s térfogatú lépésekben addicionáljunk egy c_s koncentrációjú, tömény standard oldatot. Bármely addíciós lépésben a pillanatnyi koncentráció kiszámítható a

$$c' = \frac{V_i \cdot c_i + V_s \cdot c_s}{V_i + V_s}$$

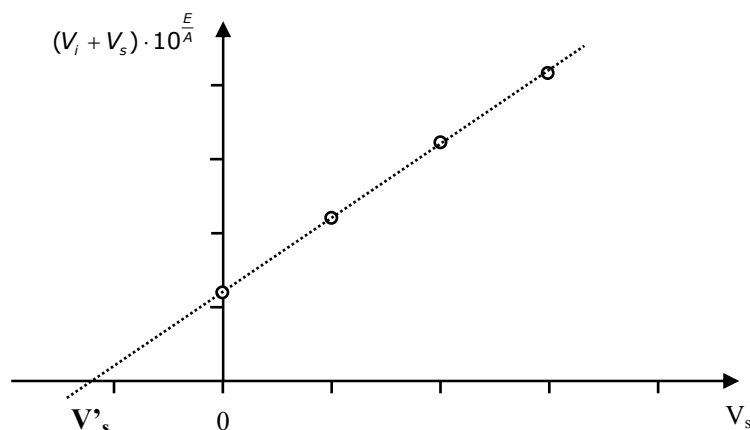
képlettel. Ha ezt behelyettesítjük az előző képletbe, akkor azt kapjuk, hogy

$$\frac{V_i \cdot c_i + V_s \cdot c_s}{V_i + V_s} = \frac{10^{\frac{E}{A}}}{10^{\frac{B'}{A}}}$$

Az egyenlet matematikai rendezéssel a következő alakra hozható:

$$\underbrace{(V_i + V_s) \cdot 10^{\frac{E}{A}}}_{V_s \text{ lineáris függvénye}} = \underbrace{V_i \cdot c_i \cdot 10^{\frac{B'}{A}}}_{\text{konstans}} + \underbrace{V_s \cdot c_s \cdot 10^{\frac{B'}{A}}}_{V_s \text{ lineáris függvénye}}$$

mivel az egyenletben a kalibráció során csak V_s változik. Ha az egyenlet bal oldalát V_s függvényében ábrázoljuk, akkor egy egyenest kell kapnunk, amelynek tengelymetszete a fenti konstans, meredeksége pedig a jobboldali kifejezésben V_s szorzója. A 2. ábra illusztrálja az így kapható grafikont. A grafikonról könnyen meghatározható V'_s értéke, ami nem más, mint az illesztett egyenes és az x-tengely metszéspontjának megfelelő V_s érték.



2. ábra. A standard addíciós kalibrációs egyenes

Az ismeretlen c_i koncentráció meghatározása ezek után egyszerű, ugyanis ha az ábrázolt függvény (egyenletünk bal oldalának) értéke V'_s helyen éppen nulla, akkor az egyenlet átrendezéssel a

$$0 = V_i \cdot c_i + V'_s \cdot c_s$$

alakra hozható, amiből c_i könnyen kifejezhető.

$$c_i = \frac{-V'_s \cdot c_s}{V_i}$$

A megoldás tehát nem függ az ionerősségtől, és nem igényli a B (illetve B') konstansok ismeretét sem. Vegyük észre ugyanakkor, hogy a kivitelezéshez mindenképpen ismernünk kell az elektród (logaritmikus) érzékenységet, vagyis A értékét. Ezt az értéket kétféle módon közelíthetjük: vagy az elvi $0,0591/n$ Nernst-i értéket használjuk, vagy egy hagyományos kalibrációs egyenes (E ábrázolása $\lg c$ függvényében) felvételével, kísérletileg határozzuk meg. Általában a második közelítés ad jobb eredményt, így a jelen gyakorlat során is ezt fogjuk alkalmazni.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

1 mol/dm³ CuSO₄, KCl, KBr, KI, NaF vagy AgNO₃ oldat az elektródtól függően
 2 mol/dm³ KNO₃ oldat (mérendő oldat ionerősségének beállításához)
 desztillált víz

1 db 10 cm³-es hasas pipetta (a kalibráló oldatok elkészítéséhez)
 1 db 20 cm³-es hasas pipetta (a KNO₃ oldat beméréséhez)

1 db 20 cm³-es hasas pipetta (az ismeretlen minta kiméréséhez)
1 db digitális mikropipetta (a mikroliter tartományú addíciók elvégzéséhez)
10 db 100 cm³-es főzőpohár (a kalibráló és mintaoldatok készítéséhez és méréséhez)
2 db 250 cm³-es főzőpohár (az elektródok öblítéséhez és a KNO₃ kiméréséhez)
6 db 100 cm³-es mérőlombik (a kalibráló sorozat elkészítéséhez és az ismeretlenhez)
1 db pipettázó labda
papírtörő

WTW inoLAB 720 mV-mérő vagy

Radelkis OP-208 precíziós pH/mV mérő

Radelkis OP-082OP Ag/AgCl kettős diffúziós határrétegű vonatkoztatási elektród

Radelkis ionszelektív indikátor elektród

Radelkis OP951/1 típusú mágneses keverő keverőrúddal

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZER LEÍRÁSA

Az elektródok kezelése és a mérőműszer előkészítése. Mindenekelőtt ellenőrizzük a referens elektród feltöltöttségét. A belső térben annyi KCl oldatnak kell lenni, hogy a benyúló ezüstsál legalább egy centiméterrel nyúljon bele az oldatba. Ha ennél kevesebb van, töltünk be elektrolitot. A gyakorlatvezetőtől kérhetünk ezüst-kloriddal telített 1 M KCl oldatot. Ezt az elektród töltőnyílásán keresztül egyszer használatos műanyag pipettával tölthetjük be. Nagyon fontos, hogy az elektród belső terébe ne kerüljön más anyag! Amennyiben az Ag/AgCl/KCl típusú elektródunk kettős diffúziós határrétegű, akkor a külső térbe is oldatot kell juttatnunk. A külső térbe nem KCl-ot töltünk, hanem 1 M KNO₃ oldatot! A feltöltéshez egy másik pipettát használunk. Annyi elektrolitot töltünk a külső térbe, amennyi abban elfér. A feltöltés után — és később minden mérés, mintaváltás után — 1-2 csepp KNO₃ oldatot engedünk ki, hogy a második diffúziós határréteget megújítsuk, megtisztítsuk. Ehhez a külső csiszolatos üvegrészt a gumigyűrű ellenében óvatosan lefelé mozgatjuk. Ha a csiszolat nehezen mozdulna meg, akkor próbálkozzunk a lefelé mozgatás közben elfordítani is a csiszolatos csatlakozású üvegharangot. A csiszolatos felület megújításánál kicsöppentett oldatot külön pohárba (hulladékgyűjtőbe) engedjük. Természetesen nem kell minden mérés után újra színültig feltölteni a külső teret. Addig nem kell KNO₃ oldatot betölteni, amíg a külső térben a folyadékszint meg nem közelíti a belső térből kivezető szinteres nyílást (ez rendszerint egy kb. 1 mm átmérőjű, az üvegtől eltérő színű foltként vehető észre az elektród oldalfalán). Az elektródokat az állványon úgy rögzítjük, hogy alsó végeik azonos magasságban végződjenek, mert így lesz szükség a legkevesebb mintatérfogatra a mérések során.

A WTW inoLAB 720 típusú mV-mérő használata esetén ellenőrizze, hogy az indikátor elektród BNC csatlakozója a műszer „pH/U probe” feliratú aljzatához, míg a referencia elektród banándugós csatlakozója a „ref” feliratú aljzathoz van csatlakoztatva, és a műszer be van kapcsolva. Ha szükséges, az „M” gombot annyiszor nyomja meg, hogy a műszer mV-

mérő üzemmódba kerüljön, amit a kijelzőn a számok felett a „mV” jelzés megjelenése mutat; ekkor a műszer mérőkész. A *Radelkis OP-208/1* típusú mV-mérő használata esetén a referencia elektród az „R” jelű, az indikátorelektrod a „G” jelű BNC aljzathoz csatlakoztatandó. A műszer „mV” reteszelt gombját benyomott, a „STDBY/MEAS” gombot valamint az „ABS/REL” gombot kiengedett állapotba hozzuk; ezután a műszer mérőkész.

A leolvasással addig várunk, amíg a mV-mérőn megjelenő potenciál már nem változik egyirányban, hanem a kijelző utolsó helyiértékén csupán ingadozik, vagy azon állandó érték látható. Ezen állapot eléréséhez szükséges idő a hígabb oldatokban hosszabb, mint a töményebb oldatokban. A várakozási idő nem több 3 percnél. Ha három perc alatt sem áll be a potenciál, akkor valamilyen technikai hibára gyanakodhatunk (például az elektród „előregedett”, az elektród kábele kontakthibás, a referens elektródból kifolyt az elektrolit, stb.). A rézionszelektív elektródnál, amennyiben azt tapasztaljuk, hogy a mért jel még több percnyi várakozás után is igen erősen ingadozik (több mV), akkor adjunk minden mérendő főzőpohár tartalmához egy cseppnyi kénsavoldatot.

Az elektród érzékenységeinek meghatározása. A mérőgörbe felvételéhez készítsünk a mérendő ion 1 M-os törzsoldatából desztillált vizes hígítással 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} végül 10^{-1} mol/dm³ koncentrációkat tartalmazó oldatsorozatot. Ezekből az oldatokból 20-20 cm³-t száraz és tiszta 100 cm³-es főzőpoharakba mérünk és mindegyikhez 20 cm³-t adunk a 2 mol/dm³-es kálium-nitrát oldatból az ionerősség beállítása céljából. Az oldatsorozatot minden mérés előtt leöblített és szűrőpapírral óvatosan leitatott elektródok bemeztetésével, állandó enyhe keverés mellett és minden mérés előtt elegendő stabilizálódási időt hagyva lemérjük a mV-mérő használatával, a kisebb felől a nagyobb koncentrációk felé haladva. A mérések során három ismétlést végzünk és a párhuzamos mérési adatok átlagait feljegyezzük.

Az ismeretlen minta koncentrációjának meghatározása standard addícióval. Az elméleti részben leírt standard addíciós kalibráció alkalmazásához három tiszta és száraz főzőpohárba készítsünk elő 40-40 cm³-es oldatrészleteket az ismeretlen oldatot tartalmazó 100 cm³-es mérőlombikból való kipipettázással. Ezen oldatok mindegyikén hajtsa végre a kalibrációt, vagyis rendre mérje meg az elektródok között mérhető feszültséget a mV mérővel állandó keverés mellett az oldatban először addíció nélkül, majd 20 és 40 µL térfogatú addicionálás után is. Az addíció térfogatának megválasztásakor általában úgy járunk el, hogy az addicionált anyagmennyiség lehetőleg a mintában jelenlevő várható koncentráció 50-200%-a környékére essen. A fenti adatok mellett ez azt jelenti, hogy itt kb. 0,001 M nagyságrendű koncentrációt várunk az ismeretlen mintában. Ha azt tapasztalja, hogy a mért jel nem változik érdemben az addíció hatására, akkor növelje meg az addíciós térfogatot maximum 100-200 µL értékre.

A mérési adatok kiértékelése. Az elektród érzékenységeinek meghatározása céljából felvett feszültség adatokat ábrázolja a koncentráció logaritmusában függvényében (ezt a feladatot célszerű logaritmus skálájú milliméter papíron, vagy inkább számológép segítségével végezni). A grafikon lineáris szakaszán a pontokhoz illesszen egyenest, majd határozza meg annak meredekségét 1/mV egységben. Ez az adat lesz a későbbi kiértékelés során az *A* együttható értéke. Ezek után az elméleti részben leírt képletek segítségével külön-külön

grafikonon ábrázolja a három ismeretlen minta esetében kapott standard addíciós adatokat is, majd számítsa ki az ismeretlen minta átlagkoncentrációját.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- A mért adatok táblázata és az azokból készített grafikonok
- Az ismeretlen oldat átlagos ionkoncentrációja mol/dm^3 egységekben.

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mit nevezünk másodfajú elektródnak?
2. Milyen elektród alkalmas vonatkoztatási elektródnak?
3. Direkt potenciometriás mérések kivitelezésénél milyen körülményekre kell ügyelnie?
4. Miért kell a diffúziós potenciált kiküszöbölni a direkt potenciometria esetében?
5. Ismertesse a kettős diffúziós határretegű Ag/AgCl/KCl elektród felépítését!
6. Hogyan működnek a szilárd (csapadékos) ionszelektív elektródok?
7. Ismertesse a direkt potenciometria során alkalmazható standard addíciós kalibráció elméleti megfontolásait!
8. Milyen technikai hibára következtet abból, ha a mV mérő kijelzőjén a feszültségérték rendre nem állapodik meg hosszabb várakozás után sem?
9. Egy cianid-ion szelektív elektród potenciálja az $E = \text{konstans} - 0,05916 \lg [\text{CN}^-]$ függvényt követi. Az elektródpotenciál értéke $-0,230 \text{ V}$, ha az elektródot $0,001 \text{ M}$ NaCN oldatba merítjük. Számítsa ki a $[\text{CN}^-]$ értékét egy oldatban, amelyben az elektródpotenciál $-0,300 \text{ V}$!
(a helyes megoldás: $1,17 \cdot 10^{-3} \text{ M}$)
10. Egy ionszelektív elektród potenciálja lineárisan változik $\lg[\text{Cl}^-]$ függvényében. $0,01 \text{ M}$ NaCl oldatban -325 mV , 10^{-4} M oldatban pedig -207 mV potenciált mérünk. Mekkora a kloridion koncentráció abban az oldatban, amelyben a potenciál -275 mV ?
(a helyes megoldás: $7,04 \cdot 10^{-4} \text{ M}$)

KONDUKTOMETRIÁS MÉRÉSEK

A GYAKORLAT CÉLJA: A konduktometria alapjainak megismerése. Elektrolitoldatok vezetőképességének vizsgálata. Oxálsav titrálása N-metil-glükamin mérőoldattal, modern konduktometriás műszerrel való végpontjelzés mellett.

A MÉRÉSI MÓDSZER ALAPELVEI

Az analitikai kémiában a *konduktometriás módszerrel* elektrolitoldatok elektromos *vezetőképességét* mérjük, és ebből illetve ennek kémiai reakciók hatására bekövetkező változásaiból származtatunk analitikai információkat. Az anyagok vezetőképességén (jele G , mértékegysége a siemens, S) az elektromos (ohmikus) ellenállásuk (jele R , mértékegysége az ohm, Ω) reciprokát értjük. Az elektromos vezetéshez olyan töltéshordozók (pl. elektronok, ill. anionok és kationok) jelenléte szükséges, amelyek képesek arra, hogy az elektromos tér hatására elmozduljanak. Ennek alapján különböztetünk meg elektromos *vezetőket* és *szigetelőket*.

A tiszta víz, mivel benne töltéshordozók csak igen kis, az autoprotolízisnek megfelelő $[H^+] = [OH^-] \approx 10^{-7}$ mol/L koncentrációban vannak jelen, csak nagyon kis mértékben vezeti az elektromos áramot, szigetelőnek tekinthető. Elektrolitok vizes oldataiban azonban a kationok és anionok koncentrációja jelentős lehet, emiatt azok az elektrolitikus disszociáció mértékétől függően többnyire vezetők.

Ha egy elektrolit oldatba két azonos méretű, sík felületű, párhuzamos elektródlap (pl. Pt-lap) merül, amelyek felületének nagysága A , a köztük levő távolság pedig l , akkor az így kapott *vezetőképességi cellára* igaz, hogy

$$G = \frac{1}{R} = \kappa \cdot \frac{A}{l} = \frac{\kappa}{K}$$

tehát a vezetőképessége egyenesen arányos A -val és fordítottan arányos l -l. Az A/l hányados reciprokát (K), ami a vezetőképességi cella alakjától (geometriai kiképzésétől) függő mennyiség, cellaállandónak is nevezzük. A fenti kifejezés magában foglal egy, az adott elektrolitoldatra jellemző κ arányossági tényezőt is, az ún. *fajlagos* (egyes könyvekben *specifikus*) *vezetőképességet*, ami megadja a két, egységnyi (1 cm^2) felületű, egymástól

egységnyi távolságra (1 cm-re) levő elektród között levő elektrolitoldat vezetőképességét (vegyük észre a fenti és a fémes vezetők ohmikus ellenállását definiáló, a középiskolában tanult egyenletek közötti analógiát!).

Egy kétkomponensű (tehát egy oldószerből és egy elektrolitból álló) oldat vezetőképessége az oldatban levő kationok és anionok vezetőképességeinek összegeként számítható, a többkomponensű (kettő vagy több elektrolitot tartalmazó) oldatoké pedig az egyes elektrolitok vezetőképességeinek összegeként adható meg. Az oldatok vezetőképessége tehát *additív tulajdonság*. A vezetőképesség nyilvánvalóan függ az oldat térfogategységében levő ionok számától (tehát a koncentrációtól), valamint az ionok *mozgékonyosságától* (vagyis attól a sebességtől, amellyel egy adott ion az elektromos tér hatására mozogni képes). A koncentráció hatásának figyelembevételére vezették be az *ekvivalens* (egyek könyvekben *moláris fajlagos*) *vezetőképesség* (Λ) fogalmát, amely

$$\Lambda = 1000 \cdot \frac{\kappa}{C}$$

Az elektrolitoldatok ekvivalens vezetőképessége a tapasztalatok szerint egy kissé függ a koncentrációtól. Ennek az az oka, hogy a töltéshordozók véges koncentrációjú oldatokban egymás elektrosztatikus (vonzó ill. taszító) terében kénytelenek mozogni. Az ionok egymástól teljesen függetlenül csak *végtelen híg oldatokban* vándorolnak. Az ilyen oldatokra (nulla koncentrációra történő extrapolációval) megadott vezetőképességi adat (Λ_0) már csak az elektrolit ionjaira jellemző állandó, amely értéke csak a hőmérséklettől és az oldószertől függ.

Az elektromos vezetőképesség additivitása miatt a konduktometria *nem szelektív* módszer. Emiatt analitikai alkalmazása olyan rendszerek vizsgálatára korlátozódik, amelyek *i)* csak egyetlen elektrolitot tartalmaznak (tehát a “háttér” hozzájárulása elhanyagolható), vagy *ii)* olyan kémiai reakciók játszódnak le bennük, amelyek során a rendszert alkotó ionok mozgékonyága a (nem nulla “háttérhez” képest) jelentősen megváltozik. Emiatt pl. konduktometriás módszerrel komplexometriás ill. redoxi titrálásokat általában nem lehet követni, mert az oldat pH-jának ill. redoxipotenciáljának állandóságáért felelős puffer, ami maga is egy elektrolit, nagy mennyiségben van jelen a rendszerben, így az határozza meg az oldat vezetőképességét, és “elfedi” a komplexképződéssel ill. redoxi reakcióval járó vezetőképesség változást.

A konduktometria gyakorlata. Konduktometriás módszerrel homogén (tiszt) elektrolitoldatok koncentrációja közvetlenül is meghatározható (*direkt konduktometria*), bár az ekvivalens vezetőképesség koncentrációfüggése és viszonylag nagy hőmérsékleti koefficiense miatt erre csak speciális esetekben alkalmazzák. Egy oldat vezetőképességének ismerete azonban már önmagában is értékes analitikai adat lehet, pl. a természetes vizek vezetőképessége azok összes sótartalmát jellemzi. Desztillált ill. ioncserélt víz minőségellenőrzésére, illetve vezető szennyezéseinek kimutatására szintén alkalmazható a vezetőképesség mérés (megjegyzendő azonban, hogy így csak ionos szennyeződések mutathatók ki, nyomnyi szerves szennyeződések azonban nem). Sokkal elterjedtebb a

konduktometria alkalmazása titrálások végpontjelzésére (*konduktometriás titrálás*). Erre akkor van lehetőség, ha a titrálás során az ionkoncentráció jelentősen változik, vagy állandó ionkoncentráció mellett különböző mozgékonyaságú ionok cseréje játszódik le.

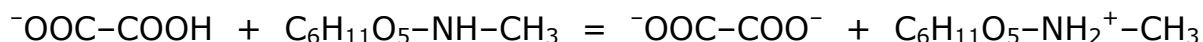
Mindkét effektus jelentkezhet pl. a sav-bázis titrálások során. Közismert, hogy a szervesetlen ionok között különleges szerepet töltenek be a hidrogén- és a hidroxidionok, ugyanis ezek mozgékonyasága (különösen a H^+ -é) jóval nagyobb, mint a többi szervesetlen ioné. Ezért, ha pl. erős savat titrálunk erős bázissal (pl. sósav és NaOH), és figyelemmel kísérjük a vezetőképesség változását, megfigyelhetjük, hogy az ekvivalenciapont előtt az oldat vezetőképessége csökken, ugyanis a reakció során a mozgékony H^+ ionokat lecseréljük "lomhább" (nagyobb méretű) Na^+ ionokra. Az ekvivalenciapont után viszont a feleslegben adagolt NaOH egyrészt az összionkoncentrációt növeli, másrészt nagy mozgékonyaságú OH^- ionokat juttat az oldatba — emiatt a vezetőképesség az ekvivalenciapont után növekedni kezd.

Bonyolultabb a helyzet, ha egy gyenge savat (pl. ecetsavat) titrálunk NaOH-dal (erős bázissal). Kezdetben az oldat vezetőképességét az ecetsav disszociációjából származó, mozgékony protonok koncentrációja határozza meg. A lúg adagolásának hatására hidrogénionok helyett nátrium kationok jutnak az oldatba (mint az erős sav/erős lúg esetben), továbbá az ecetsav disszociációja is visszaszorul a reakció során növekvő acetátion koncentráció miatt. Mindezek miatt a vezetőképesség kezdetben csökken. Ez a csökkenés azonban a mérőoldat további adagolása hatására egyszer megáll, ugyanis egy idő után már a *semleges* ecetsavmolekulákat fogjuk lecserélni *töltéshordozó* acetát és nátrium ionokra — ez pedig a vezetőképesség növekedését okozza. A vezetőképességi titrálási görbe ezért minimumon áthaladva nőni kezd. Ez a növekedés az ekvivalenciapont után az előbbi bekezdésben említett okok miatt még gyorsabb lesz. A titrálási görbe utóbbi két eltérő meredekségű, közel lineáris szakaszának metszéspontjából megállapítható az ekvivalenciapont helye. A kiértékelést bizonytalanná teszi, hogy az ekvivalenciapont előtti és utáni szakaszok meredeksége közötti eltérés sokszor kicsi, vagyis a töréspont nem elég "éles".

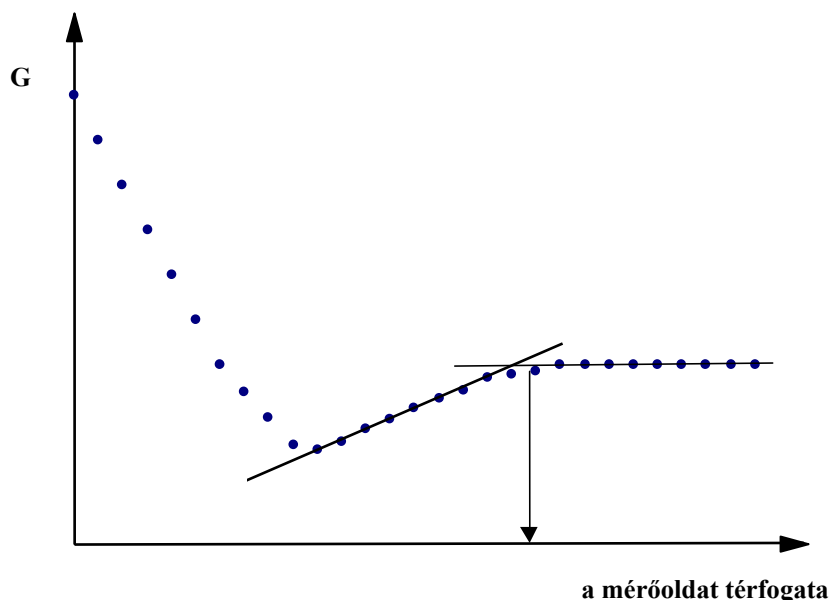
Gyenge sav gyenge bázissal történő titrálása esetén a töréspont bizonytalanságából adódó hiba csökkenthető. Ezt most a gyakorlaton is végrehajtandó mérés (oxálsav N-metil-glükamin bázissal történő titrálása) példáján mutatjuk be. Az oxálsav ($HOOC-COOH$) kétbázisú sav, első protonja ($pK_{a1} = 1,05$) közepesen erős savként, míg a második ($pK_{a2} = 3,55$) gyenge savként titrálható. A titrálószerként használt N-metil-glükamin ($C_6H_{11}O_5-NH-CH_3$) egy hexózamin, amely bázikus szekunder aminocsoportja révén képes protonokat megkötni ($pK_a = 9,20$). A metil-glükamin törzsoldatának vezetőképessége elhanyagolható, mivel abban vezetésre képes részecskék csak nagyon kis koncentrációban vannak jelen.

A titrálás elején az oldat vezetőképességét az oxálsav erősebben savas protonjának koncentrációja határozza meg, hiszen ekkor ez a legnagyobb mozgékonyaságú ionos komponens az oldatban. A mozgékony protonok N-metil-glükamminnal reagálva kevésbé mozgékony metil-glükammónium-ionná alakulnak át, ez okozza az oldat vezetőképességének kezdeti csökkenését.

Az első proton “megtitrálását” követően, az oxálsav második, gyengébben savas protonja a következő reakció szerint reagál:



Látható, hogy a reakció során növekszik a töltéshordozó részecskék száma, ez pedig a vezetőképesség növekedésével jár együtt. Emiatt a titrálási görbe a kezdeti csökkenés után egy minimumon áthaladva növekedni kezd. Az ekvivalenciapontot követően, amikor a N-metil-glükamin feleslegbe kerül, az általában jelentéktelen hígulástól eltekintve már semmi olyan reakció nem játszódik le a rendszerben, ami a vezetőképesség változását okozhatná. Emiatt a vezetőképesség egy közel állandó értékre áll be. Így az ekvivalenciapont a titrálási görbén egy töréspontban jelentkezik, ami az emelkedő és a közel vízszintes szakaszra illesztett egyenesek metszéspontjából könnyen meghatározható. Az oxálsav N-metil-glükamin bázissal történő konduktometriás titrálási görbáját az alábbi ábra mutatja be.



1.ábra. Oxálsav N-metil-glükaminnal történő titrálása során kapott vezetőképességi titrálási görbe és kiértékelése

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

kb. 0,1 M koncentrációjú NaCl, HCl és NaOH oldat

kb. 0,1 M koncentrációjú, pontosan ismert hatóértékű N-metil-glükamin oldat

Desztillált víz, csapvíz

1 db 25 cm³-es hagyományos buretta

1 db 100 cm³-es hiteles mérőlombik (az ismeretlen számára)

1 db 10 cm³-es hiteles pipetta

4 db 250 cm³-es főzőpohár (a titráláshoz és az elektród öblítéséhez)
5 db 100 cm³-es főzőpohár (az elektrolit oldatok vezetőképességének vizsgálatához)
1 db pipettázó labda
1 db üvegtölcsér
papírtörölő

WPA CMD510 típusú konduktométer mérőelektróddal ($K = 1,0 \text{ cm}^{-1}$)
Radelkis OP951/1 típusú mágneses keverő keverőrúddal

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

A konduktometriás mérőműszer. A vezetőképesség méréséhez egy WPA CMD510 típusú digitális konduktométert használunk. Maga az elektród rozsdamentes acélgyűrűkkel szerelt, cellaállandója $K=1,0$, és beépített hőmérsékletszennzorral van ellátva. A mérés során lényegében az oldat elektromos ellenállását mérjük meg. Az egész cella geometriai elrendezése (tehát a cellaállandó) a mérés során nem változhat, emiatt a vezetőképesség változását a mérés során csak az oldatösszetételben bekövetkezett változások okozhatják. Fontos megjegyezni, hogy a konduktometriás méréseket általában kisfrekvenciás váltóárammal hajtjuk végre, egyenáram alkalmazása ugyanis nemkívánatos elektródfolyamatokat (pl. elektrolízist) indíthatna meg a vizsgálandó rendszerben.

A műszert bekapcsoljuk az „ON/OFF” gombbal, ekkor a kijelzőn a következőket kell látnunk: **"MEAS"**. A műszer ilyenkor mérőállásban van. A műszer automatikusan váltja a méréshatárt, a mért értékek $0 \mu\text{S}$ és 200 mS közé eshetnek.

Direkt konduktometria. Öblítsük le alaposan az elektródot, és engedjük desztillált vízbe úgy, hogy a folyadék teljesen (légbuborékoktól mentesen) lepje el az elektródon található mindkét acélgyűrűt. Jegyezzük fel a mért értéket. Ismételjük meg a mérést csapvíz alkalmazásával. Számítsuk ki a desztillált víz és a csapvíz specifikus vezetőképességét, ha tudjuk, hogy a méréshez használt elektród cellaállandója $K = 1,0 \text{ cm}^{-1}$. Helyezzük az elektródot rövid időre kb. $0,1 \text{ mol/L}$ NaCl, HCl és NaOH oldatba, és határozzuk meg mindegyik oldat vezetőképességét. Ügyeljünk arra, hogy az elektródot a mérések között, majd az utolsó mérés után is alaposan öblítsük le desztillált vízzel.

Oxálsav meghatározása konduktometriás titrálással. A meghatározandó oxálsavból $100,00 \text{ cm}^3$ -es mérőlombikban törzsoldatot készítünk. A törzsoldat $10,00 \text{ cm}^3$ -es részletét 250 cm^3 -es főzőpohárba pipettázzuk, és desztillált vízzel annyira hígítjuk, hogy az oldatba merített elektród mindkét gyűrűjét elfedje a folyadék. Az oldatot mágneses keverővel kevertetjük. Kézi bürettából $0,5 \text{ cm}^3$ -es részletekben a $0,1 \text{ mol/L}$ -es koncentrációjú (pontosan ismert hatóértékű) N-metil-glükamin oldatot adagolunk a rendszerhez. Minden adagolás után kb. 15-20 s-ot várunk, hogy az oldat homogenizálódjon, majd feljegyezzük a műszer állását. A titrálást mindaddig folytatjuk, amíg legalább hat egymást követő mérési pontban ugyanazt a vezetőképesség értéket kapjuk. A leolvasott vezetőképesség értékeket a fogyott mérőoldat

térfogatának függvényében grafikonon ábrázoljuk, és a töréspont grafikus meghatározása alapján kiszámítjuk a törzsoldat koncentrációját. A meghatározás pontosságának növelése érdekében csak a töréspont körüli értékeket (pl. előtte és utána 4-5 cm³-rel) ábrázoljuk kinagyítva (1 cm³ mérőoldat = 2 cm a grafikonon). A számításoknál vegyük figyelembe, hogy az oxálsav kétértékű sav! A titrálást legalább háromszor végezzük el.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- A desztillált- és csapvíz, valamint NaCl, NaOH, HCl oldatok mért vezetőképessége és számított specifikus vezetőképessége, valamint azok különbségének értelmezése az ionmozgékonyságok alapján
- Oxálsav N-metil-glükaminnal történő titrálásának konduktometriás titrálási görbéi
- Az ismeretlen oxálsav törzsoldat koncentrációja mol/L-ben és ennek precizitása

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Adja meg a vezetőképesség definícióját és az összefüggést a vezetőképesség és az ohmikus ellenállás között!
2. Definiálja a specifikus és az ekvivalens vezetőképesség fogalmát!
3. Milyen tényezőktől függ egy elektrolitoldat vezetőképessége?
4. Miért tér el egymástól a véges koncentrációjú és “végtelen híg” oldat ekvivalens vezetőképessége?
5. Mit értünk direkt konduktometria alatt, és melyek annak felhasználási területei?
6. Milyen feltételek mellett alkalmazható a konduktometria titrálások végpontjelzésére?
7. Miért nem alkalmazható a konduktometria komplexometriás és redoxi titrálások végpontjelzésére?
8. Váolja fel és röviden értelmezze egy erős sav-erős bázis, gyenge sav-erős bázis és egy gyenge sav-gyenge bázis titrálás konduktometriás titrálási görbéit!
9. Váolja fel az oxálsav N-metil-glükaminnal történő, konduktometriás végpontjelzéssel végrehajtott titrálásának a titrálási görbéjét, és röviden értelmezze annak egyes szakaszait!
10. Egy 0,001 M koncentrációjú hangyasav oldat fajlagos vezetőképessége $1,25 \cdot 10^{-4} \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A végtelen hígítású hangyasavoldat ekvivalens vezetőképessége $364,5 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. Számítsa ki, hogy mekkora a hangyasav disszociációs állandója!
(a helyes megoldás: $1,79 \cdot 10^{-4}$)

BIAMPEROMETRIÁS (DEAD-STOP) TITRÁLÁS

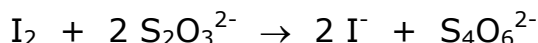
A GYAKORLAT CÉLJA: A biamperometriás titrálási módszer tanulmányozása és alkalmazása jodátkoncentráció meghatározására vizes oldatban.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

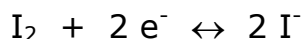
A biamperometriás meghatározások az elektroanalitikai eljárások közé, közelebbről pedig a voltammetriás módszerek csoportjába tartoznak. Emlékeztetőképpen: a *voltammetriás mérések* alapelve az, hogy a mintaelektrolitba két inert anyagból (pl. platina, arany) készült elektródot merítünk, amelyekre szabályzott nagyságú feszültséget kapcsolunk, és a feszültség hatására az oldaton átfolyó áramerősséget vizsgáljuk. A mérési körülmények, illetve az alkalmazott elektródok szerint megkülönböztetünk pl. polarográfiát, stripping voltammetriát és amperometriát/biamperometriát.

A *biamperometriás titrálások* során az áramerősség-mérést a titrálás végpontjának jelzésére használjuk. A méréseket általában két Pt elektród használatával végezzük, alkalmas állandó értéken tartva az elektródok közötti feszültséget. A meghatározás kémiai alapja leggyakrabban egy redoxi reakció. A feszültséget olyan kicsinek választjuk, hogy a cellában a titrálás alapjául szolgáló redoxi reakcióban résztvevő egyik félrendszer reverzibilis legyen (a redukció és oxidáció irányában egyaránt lejátszódhasson), míg a másikra nem (gondoljunk arra, hogy kellően „nagy” elektródpotenciál mellett majdnem minden elektródreakció kikényszeríthető lenne). Amíg az oldat a reverzibilis rendszer oxidált és redukált formáját egyaránt tartalmazza, addig a katódon az oxidált formából éppen annyi fog redukálódni, amennyi a redukált formából az anódon oxidálódik – ennek következtében áram folyik a cellán keresztül. Ha azonban egy alkalmas titrálószer adagolásával a mérendő redoxi rendszer egyik komponensét valamilyen kémiai reakció (oxidáció/redukció, csapadékképzés, komplexképzés, stb.) révén tartósan elvonjuk, akkor az egyik elektródreakció megszűnése miatt az áram is megszakad. Így a titrálás végpontját az áram megszűnése jelzi; innen származik a „*dead-stop titrálás*” elnevezés (értsd: kb. „hirtelen megszakadó” titrálás).

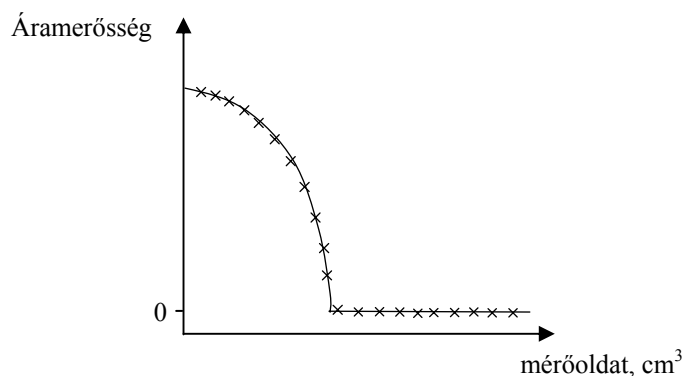
A fenti működési elv részletes illusztrálására kiválóan alkalmas a jodometriás redoxi rendszer alkalmazásának esete. Mint ismeretes, a jodometria alapegyenlete:



Ez a bruttó egyenlet két félreakcióra bontható:

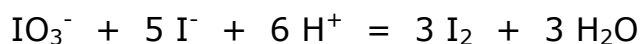


amelyek közül a jód/jodid rendszer reverzibilis, a tetracionát/tioszulfát rendszer azonban irreverzibilis (ez a redoxi folyamat gyakorlatilag ténylegesen csak egyirányban tud lejátszódni, de azzal, hogy pl. igen kicsiny, mindössze pár tíz millivoltos feszültséget alkalmazunk, ezt teljesen biztossá tehetjük). A biamperometriás titrálás kezdetekor a titrálópohárba jodidionokat jelentős koncentrációban tartalmazó oldatot adunk (amit pl. KI-ből készítünk), és hozzáadjuk az ismeretlen koncentrációjú mérendő kémiai komponenst – a mérendő ebben az esetben olyan oxidálószer lehet, amely a jodidionokat jóddá képes oxidálni (pl. jodátion). Az elektrolitoldatban ez utóbbi reakció hatására megjelenik a jód, ami miatt a két elektród között az elektrolitoldaton keresztül áram fog folyni, hiszen kialakul egy „körforgás” amely során az alacsonyabb potenciálú katódon a jód jodidionokká redukálódhat, ezek a jodidionok aztán a magasabb potenciálú (pozitív polaritású) anód felé vándorolnak és ott visszaalakulnak jóddá. Az oldat összes jód- és jodidkoncentrációja eközben tehát nem változik. Az áramerősség nagyságát a feszültség állandó értéken tartása és rögzített elektródelrendezés mellett nyilvánvalóan a jód és a jodidionok közül a kisebb koncentrációjú korlátozza. Ha tehát ekkor elkezdjük az oldathoz hozzáadni a titrálószeret — jelen esetben a $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mérőoldatot — akkor az áramerősség csökkenni fog, ugyanis a mérőoldat az alapegyenlet szerint elreagál a jóddal (csökken a jódkoncentráció és nő a jodidionkoncentráció). A mérőoldat adagolását folytatva a jód végül teljesen elfogy, és megszűnik az áram. A korábban elmondottak szerint ugyanis a tetracionát/tioszulfát rendszer nem reverzibilis (egyirányú), így nem képes a jód/jodid rendszerhez hasonlóan részt venni az áramerősség kialakításában. Az áram megszűnése éppen a titrálás végpontjában következik majd be, hiszen eddigre a mérőoldat éppen annyi jódot fogyasztott el, amennyi az ismeretlen koncentrációjú oxidálószerrel ekvivalens, hiszen a jód csak annak hatására képződött a rendszerben. További mérőoldatrészletek hozzáadása már nem változtat az áramerősségen, az praktikusán nulla marad, vagyis a biamperometrikus titrálási görbe az **1. ábrán** látható módon alakul.



1. ábra. Jellegzetes biamperometriás titrálási görbe

A jelen gyakorlat tárgyát képező jodátion-meghatározás kémiai alapja a jodát- és jodidionok között erősen savanyú közegben lejátszódó alábbi reakció:



Ez a reakció jódot állít elő a fentiekben leírt jodometria-alapú biamperometriás titráláshoz a jodidion-tartalmú kiinduló oldatból.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

kb. 0,01 mol/L koncentrációjú $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mérőoldat
 kristályos, analitikai tisztaságú KI ($M_r = 166,0$ g/mol)
 kristályos, analitikai tisztaságú KIO_3 ($M_r = 214,0$ g/mol)
 2 mol/L koncentrációjú sósavoldat (pumpás adagolóedényben)
 desztillált víz

1 db 5 cm³-es pipetta (a mérendő oldatrészletek adagolásához)
 1 db 100 cm³-es főzőpohár (a pipettázás segítésére)
 5 db 250 cm³-es főzőpohár (a titráláshoz)
 1 db 100 cm³-es mérőlombik (a mérendő törzsoldat készítéséhez)
 1 db 200 cm³-es mérőlombik (a kálium-jodát törzsoldat készítéséhez)
 1 db bemérőcsónak (KI beméréséhez)
 1 db pipettázó labda
 1 db széles szájú hulladéktároló/öblítő üvegedény
 1 db üvegtölcsér
 papírkendő

Radelkis OP-508 típusú Dead-stop titráló adapter
 Radelkis OP-930/1 típusú automata büretta

Radelkis OP-951 mágneses keverő keverőbottal

Platina elektródok (1 db kettősgyűrűs elektród vagy 2 db lemez alakú elektród)

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

A biamperometriás műszer használata. A mérendő oldatba merülő két Pt elektród (ez lehet egyetlen üvegtestben is elhelyezve ún. kettősgyűrűs kivitel esetén) a Radelkis OP-508 típusú dead-stop titráló adapterhez kapcsolódik. Ennek a műszernek feladata egyfelől biztosítani a beállítható nagyságú állandó feszültséget az elektródok között, másrésről érzékeny árammérőként működve mutató skáláján kijelzi az oldaton átfolyó pillanatnyi áramerősséget. Az elektródokat egy BNC csatlakozós kábellel a műszer hátoldalán a „Cell” feliratú aljzathoz kell kapcsolnunk, a „Burette” feliratú DIN szabványú aljzatba pedig azt a kábelt kell bekötni, amely az automata burettával köti össze az egységet. Az előlapon a következő kezelőszerveket találjuk: „U pol.” polarizálófeszültség-beállító forgatógomb (ezzel szabályozható az elektródok közötti feszültség), egy „End-point scale div.” választókapcsoló (az automatikus titrálás esetén itt állítható be a végpont érzékelésének érzékenysége: állítsuk ezt most nullára), valamint négy darab kapcsoló, amelyek benyomott és kiengedett állásához más-más funkció kapcsolódik (a gombok melletti feliratok jelzik a funkciókat: a felső felirat a benyomott, az alsó a kiengedett állapothoz tartozik).

A gombok közül a legfelsőhöz az „U pol. / Titr.” funkciók tartoznak: ha ezt benyomjuk („U pol.” funkció), akkor a műszer skáláján követhetjük, amint a szomszédos „U pol.” forgatógombbal beállítjuk a kívánt polarizáló feszültséget: állítsuk ezt most kb. 20 mV értékre (a feszültségméréshez tartozó skálabeosztást figyeljük!). Titrálás kivitelezése során ez a gomb mindig legyen kiengedve („Titr.”), ilyenkor a kijelző az áramértéket jelzi mikroamperben. A következő kapcsoló az árammérő két méréshatára között vált (5 μ A/50 μ A): most kapcsoljunk a nagyobb méréshatárra. A harmadik kapcsolót helyezzük „Decr.” (Decreasing) állásba; ezzel arról tájékoztatjuk a műszert, hogy az automatikus titrálás során csökkenő áramértékek mérésére lesz szükség. A legalsó kapcsoló értelemszerűen a manuális és az automatikus titrálási üzemmód között vált. Manuális üzemmódban a végpontjelzés érzékelése a kezelő személy feladata: ilyenkor a műszer csak mint egy érzékeny árammérő működik, a titrálószer adagolását nem vezérli. Ezt az üzemmódot fogja használni a titrálási görbe felvételekor. Automata üzemmódban a mérőoldat adagolását mindig az automata buretta végzi, a végpontban pedig a titrálás automatikusan leáll.

A fentiek alapján a műszer beállítása és használata egyszerű. Ügyeljünk azonban a Pt elektródok megfelelő használatára. Mintaoldatok váltásakor az elektródokat mindig alaposan öblítsük le desztillált vízzel, de ne töröljük le (főleg a lemez alakú elektródokat, amelyek különösen sérülékenyek) és azokat úgy rögzítsük az állványon, hogy a két fémfelület ne érintkezessen egymással.

Az automata buretta használata. Az OP-930/1 típusú automata buretta működése egy szabályozható sebességű, precíziós elektromos léptetőmotorral hajtott fecskendőn alapul.

A buretta a felső részén látható üvegfecskendőben tárolja a mérőoldatot; ha a léptetőmotorral hajtott dugattyú utasításra felfelé mozdul, akkor az oldat kiadagolásra kerül, míg lefelé mozdítva a dugattyút, a fecskendő felszívja az oldatot. A fecskendő kivezető nyílása egy elektromos érzékelővel ellátott üvegcsap révén kétfelé ágazik – a csap egyik állása a felszíváshoz, a másik az adagoláshoz tartozik. Az üvegcsap kimeneteihez toldott műanyag csövek szolgálnak az oldat el- és hozzávezetésére. Az üvegcsap kétállású: a pillanatnyi pozíció megállapítását a csap fedőlapján elhelyezett, a folyadékáramlást fekete vonallal szimbolizáló ábra segíti (figyeljük meg a csőkapcsolatok követésével, hogy melyik állás felel meg felszívásnak és az adagolásnak!). A buretta nyugalmi állapotában a csapot felszívó állásba hozva a fecskendő automatikusan teleszívja magát oldattal – ha ez megtörtént, akkor a csapot fordítsuk vissza kiadagoló állásba. A buretta egyszerre két dugattyút/fecskendőt is képes lenne működtetni, azonban most csak egyet fogunk használni; ügyeljünk arra, hogy mindkét csapnak azonos állásban kell lennie! A csapot mindig végállástól végállásig fordítsuk el. Használat előtt mindig gondoskodjunk arról, hogy az oldatvezető csövek buborékmentesek legyenek – ha szükséges, a buborékokat kocogtatással (azokat felfelé „kivezelve”) vagy oldatmozgatással távolítsuk el. Mindig **vigyázzunk, hogy az esetleg gyorsan kiáramló mérőoldat ne kerüljön szembe, bőrre!** A felszívó csőnek mindig a mérőoldat tároló edény folyadékszintje alá kell érnie, a kiadagoló cső pedig a titrálandó oldatba ér. Buborék vagy csöpögés akkor is keletkezhet, ha a műanyag csöveket az üvegcsaphoz rögzítő rugalmas toldóelem már nem eléggé szoros; ekkor azt ki kell cserélni.

A bürettát össze kell kapcsolni a biamperometriás műszerrel: az összekötő kábelt a buretta hátoldalán a „**BCD-out**” feliratú aljzathoz kell csatlakoztatni. Az előlapon található kezelőszervek funkciója a következő: a „**Mains**” kapcsoló a hálózati főkapcsoló (ezt értelemszerűen be kell kapcsolni), a „**Speed**” feliratú választókapcsoló a kiadagolás sebességét szabályozza (állítsuk 3-as állásba), a négydigites kijelző a már kiadagolt mérőoldat-térfogatot jelzi ki 0,001 cm³ felbontással, a „**Reset**” pillanatkapcsolót megnyomva bármikor nullázható a kijelzőn látható érték, a „**Start**” nyomógomb megnyomásakor indul az adagolás (az indítás előtt mindig nullázzuk a kijelzőt továbbá ellenőrizzük, hogy az üvegcsap adagolás állásban van és a fecskendőben is van elegendő oldat), a „**Stop**” nyomógommbal bármikor megszakítható a kiadagolás, a „**100 µl**” nyomógomb a lépésenként való adagoláshoz szükséges (most engedje azt ki), végül az „**Aut./Manual.**” kapcsoló mindig legyen „**Manual**” állásban — ez szükséges a dead-stop adapterrel való megfelelő kommunikációhoz.

A nátrium-tioszulfát mérőoldat hatóértékének meghatározása. A nátrium-tioszulfát mérőoldat pontos hatóértékét használat előtt meg kell állapítania. Ehhez szintén a biamperometriás mérőberendezést fogja alkalmazni olyan mintaoldattal, amely pontos bemérés útján bevitt kálium-jodát mennyiséget tartalmaz. Mielőtt azonban bármilyen analitikai munkához hozzáfog, fordítson időt arra, hogy a felhasználásra kerülő üvegeszközöket és az elektródokat igen alaposan átöblítí desztillált vízzel. Analitikai mérlegen (mérlegszoba), visszamérési módszerrel pontosan mérjünk be kb. 0,10 g KIO₃-ot egy 250 cm³-es főzőpohárba, azt kevés desztillált vízzel oldjuk fel, és kvantitatíve mossuk át egy 200 cm³ mérőlombikba. Jelretöltés és alapos összerázás után ebből a törzsoldatból

pipettával (a pipettázáshoz használt segéd-főzőpoharat és pipettát ne felejtjük el átöblíteni a törzsoldattal!) kiveszünk egy 5 cm³-es részletet, amelyet egy 250 cm³-es főzőpohárba juttatunk, amelybe előzőleg a megtisztított mágneses keverőrudat is belehelyeztük, majd hozzáadunk kb. 1 g KI-ot (elegendő a laborban lévő digitális táramérlegen lemérni), és azt kb. 100 cm³ desztillált víz hozzáadása után a feloldódásig kevertetjük mágneses keverővel. A kevertetést folytatva az oldatot ezután 5 cm³ 2 mol/L-es sósavoldattal megsavanyítjuk. Az oldatba belemerítjük a Pt elektródokat, a dead-stop adaptert a fentiekben leírt módon automatikus méréshez állítjuk be, és annyi desztillált vizet töltünk még a pohárban lévő oldathoz, hogy az oldat az elektródokat biztonságosan elfedje úgy, hogy az elektródok alatt maradjon hely a forgó mágneses keverőbotnak is.

A buretta kijelzőjének lenullázása után a titrálás a „**Start**” gomb megnyomásával indítható. Titráljunk meg ily módon legalább három, de célszerűen legalább öt jodát-oldatot, amelyet a fentiek szerint készítettünk elő. Az egyes oldatokra fogyott nátrium-tioszulfát oldat térfogata alapján és az egyes jodát-bemérések ismeretében számítsuk ki a párhuzamos titrálások eredményét, végül ezek átlagaként a mérőoldat pontos koncentrációját mol/L egységben.

A titrálási görbe felvétele. A dead-stop mérőműszer manuális üzemmódba kapcsolása után és az automata bürettából 0,50 cm³-es részletekben adagolva a nátrium-tioszulfát mérőoldatot, végezzen el egy titrálást úgy is, hogy feljegyezi a mérőműszer által kijelzett áramerősség-értékeket lépcsőről lépésre. Bürettaként akár a hagyományos, akár az automatikus változatot használhatja — az utóbbi esetében azonban a kiadagolást a „**100 µl**” gomb működésbe helyezésével kell végeznie (a „**Start**” gombot ötször megnyomva adagolhat ki 0,500 cm³-t). A titrálást azt követően is folytassa még 4-5 pontban, hogy az áramerősség nullára csökkent. Ne feledje azonban, hogy a biamperometriás mérőműszer az automata bürettából kapja a tápfeszültséget, ezért a buretta akkor is legyen bekapcsolva (és összekötve a mérőműszerrel), amikor a hagyományos bürettát használja. Az adatokat táblázatos formában jegyezze le, majd ábrázolja milliméterpapíron is. Az ábrázolásra csak a görbe alakjának megismerése céljából van szükség, hiszen a hatóértéket automatikus titrálás révén fogja meghatározni.

A kiadott oldat jodátion-tartalmának meghatározása. A kiadott ampulla tartalmát egy üvegtölcsér segítségével kvantitatíve átmossuk egy 100 cm³-es mérőlombikba, majd jelretöltés, alapos összerázás valamint az eszközök oldattal való átöblítése után ennek a törzsoldatnak 5-5 cm³-es részleteit KI, desztillált víz és sósav hozzáadásával ugyanúgy készítjük elő mérésre, mint korábban a hatóérték meghatározásnál (kálium-jodát hozzáadására természetesen most nincs szükség). A titrálást ismét automatikus adagolás és végpontjelzés mellett végezzük, legalább öt ismétlést végrehajtva. A végponthoz tartozó mérőoldatfogyásokat jegyezzük fel, majd számítsuk ki az ismeretlen törzsoldat jodátkoncentrációját mol/L-ban. Számítsuk ki a végpontokhoz tartozó fogyások szórását és a meghatározott koncentráció precizitását is.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Az összes mért adatot tartalmazó részletes táblázat, valamint egy titrálási görbe milliméterpapíron
- Az automatikus titrálással meghatározott fogyásadatok szórása
- A $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mérőoldat meghatározott pontos koncentrációja mol/L egységben
- Az ismeretlen törzsoldat jodátion-tartalma mol/L egységben és annak precizitása

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mi a voltammetriás módszerek alapelve?
2. Ismertesse a biamperometriás titrálások működésének lényegét!
3. Írja fel a Nernst-egyenlet általános alakját, és magyarázza el az abban szereplő egyes mennyiségek jelentését, dimenzióját!
4. Adja meg képlettel, hogyan számítható ki egy redoxi titrálás végpontjában várható elektródpotenciál értéke a két félreakció standard potenciáljának (E°) ismeretében!
5. Magyarázza el a gyakorlaton végrehajtandó biamperometriás jodátmeghatározás elvi menetét, és írja fel a lejátszódó kémiai reakciók egyenleteit!
6. Véleménye szerint a biamperometriás mérési eljárás mennyire szelektív? Más szavakkal, mennyire alkalmas ismeretlen összetételű minták mérésére?
7. Gondolkozzon el azon, hogy vajon a műszeres végpontjelzéssel kísért titrálások során víz hozzáadása a mérendő oldathoz megváltoztatja-e az analitikai végeredményt!
8. Biamperometriás végpontjelzés mellett bromátionok titrálása is kivitelezhető arzénessav mérőoldattal (Br^-/Br_2 és $\text{AsO}_3^{3-}/\text{AsO}_4^{3-}$ rendszerek). Írjuk fel az erre az alkalmazásra vonatkozó reakcióegyenleteket!
9. Hány mV potenciál alakul ki egy telített ezüst-szulfát oldatba merülő (elsőfajú) Ag elektródon?
($E^\circ_{\text{Ag}/\text{Ag(I)}} = 0,799 \text{ V}$; $L_{\text{Ag}_2\text{SO}_4} = 1,5 \cdot 10^{-5}$; a helyes megoldás: 709,9 mV)
10. Milyen redoxpotenciál értéknél várható szobahőmérsékleten az Sn^{2+} ionok Fe^{3+} ionokkal való titrálásakor az ekvivalenciapont ?
($E^\circ_{\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}} = 0,772 \text{ V}$; $E^\circ_{\text{Sn(II)}/\text{Sn(IV)}} = 0,15 \text{ V}$; a helyes megoldás: 0,357 V)

INDIREKT COULOMBMETRIA

A GYAKORLAT CÉLJA: A coulombmetriás titrálás módszerének tanulmányozása és alkalmazása arzenitionok meghatározására.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

A *coulombmetria* — amint azt elnevezése is sejteti — az elektroanalitikai eljárások közé tartozó módszer. A meghatározás lényegében egy analitikai célt szolgáló kontrollált elektrolízis, amikor is a mérni kívánt mintakomponenst az elektrolízis által termelt alkalmas vegyülettel reagáltatjuk, vagy a mérendő közvetlenül az elektródreakcióban vesz részt. Egy ilyen elrendezésben az elektrolízis során a cellán áthaladt elektronok számából (elektromos áramerősségből) a Faraday törvény és a reakció sztöchiometriája alapján kiszámítható a mérendő mennyisége. Mint ismeretes, a második Faraday törvény szerint:

$$m = \frac{M \cdot Q}{z \cdot F}$$

ahol m a reakcióban résztvevő mérendő anyag tömege grammban, Q a cellán áthaladt töltésmennyiség Coulomb (C) egységben, z a reakcióegyenletben szereplő elektronok száma, M a mérendő moláris tömege gramm/mol egységben, F pedig a Faraday állandó. A Faraday állandó értéke közelítőleg 96500 C/mol. Analitikai szempontból a fentieket tehát úgy is megfogalmazhatjuk, hogy ha tudjuk, hogy a mérendő komponens elektrokémiai reakcióban való átalakulása a reakcióegyenlet szerint egy elektront igényel, akkor 96500 C elektromos töltés cellán való áthaladása azt az információt hordozza, hogy éppen egy mól mérendő komponens alakult át. Megfelelő végpontjelzést alkalmazva, pl. a reakcióelegy színváltozása (vizuális végpontjelzés) vagy egy indikátorelektrod potenciáljának megváltozása (potenciometrikus végpontjelzés) révén, akkor ez a kontrollált elektrolízis analitikai meghatározásra használható. A cellán áthaladó töltésmennyiség az áramerősség mérésére vezethető vissza, hiszen 1 A áramerősség definíció szerint 1 C töltésmennyiség 1 másodperc alatt való átáramlását jelenti, vagyis

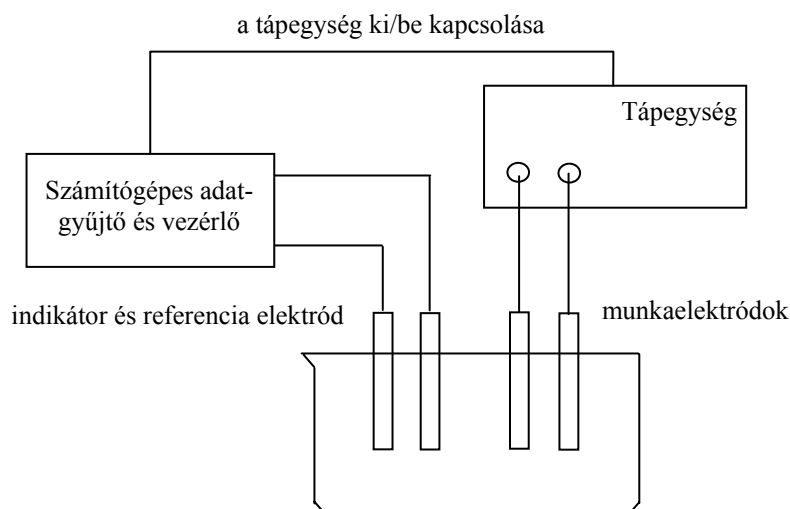
$$Q = I \cdot t$$

ahol Q a töltésmennyiség Coulomb egységben, I az áramerősség Amper egységben, t pedig az eltelt idő másodpercben.

A coulombmetriás módszereket két fő csoportba soroljuk. Primer vagy másképpen *direkt coulombmetriáról* beszélünk, amikor a mérendő komponens közvetlenül az elektródreakcióban vesz részt. Szekunder, *indirekt coulombmetriáról* vagy másképpen coulombmetriás titrálásról akkor beszélünk, amikor az elektródreakció a titrálószer generálja. A coulombmetria kivitelezése során legalább egy elektródpár merül az oldatba (munkaelektrodok), amelyek közé alkalmas feszültséget kapcsolunk. Ha potenciometrikus végpontjelzést alkalmazunk, akkor egy további elektródpárt (egy alkalmas indikátorelektrodot és egy referencia elektrodot) is elhelyezünk a reakcióedényben. A munkaelektrodok működésének szabályzását technikailag kétféleképpen végezhetjük. Az *állandó feszültségen végzett coulombmetria* során a munkaelektrodok közötti feszültséget (vagy elektródpotenciált) végig állandó, a kívánt elektrokémiai reakció lejátszódásához szükséges értéken tartjuk. Ez a módszer kémiai előnyös, hiszen így az elektrokémiai folyamatok jól kézben tartottak, mellékreakciókra kevés esély van, és a végpontjelzés a két munkaelektrod között a cellán átfolyó áramerősség megszűnésével jól indikálható (az áramerősség a mérendő egyre csökkenő koncentrációja miatt az idő függvényében közelítőleg exponenciálisan csökken). A töltésmennyiség mérése/számítása azonban ilyenkor nehézkes, hiszen a pillanatnyi áramerősséget az idő függvényében integrálni kell. Technikailag egyszerűbben kivitelezhető az *állandó áramerősségen végzett coulombmetria*, amikor a két munkaelektrod között a cellán átfolyó áramerősséget tartjuk állandó értéken. Ez valójában azt jelenti, hogy az elektródpotenciált (vagy a két elektrod közötti feszültséget) folyamatosan növelni kell az elektrolízis előrehaladtával, ami esetleg nemkívánatos mellékreakciók lejátszódásához vezethet. Itt feltétlenül gondoskodnunk kell a megfelelő végpontjelzésről is, azonban az összes átfolyt töltésmennyiség számítása igen egyszerű, hiszen az eltelt időt csak meg kell szorozni az állandó áramerősséggel. Példaként az alábbi **1. ábra** bemutatja a kísérleti elrendezés vázlatát egy állandó áramerősség és potenciometrikus végpontjelzés mellett kivitelezett coulombmetriás analízis számára, amikor a számítógép kapcsolja az elektrolízist ki/be, méri az eltelt időt és gyűjti az indikátorelektrod potenciáladatait (ilyen elrendezést fog a mai gyakorlat során is alkalmazni).

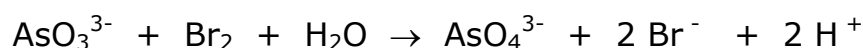
A coulombmetria érzékeny analitikai eljárás, segítségével akár μg anyagmennyiségek is mérhetők. A coulombmetria igen nagy előnye — különösen az indirekt eljárásoké — hogy olyan reagenseket használhatunk analitikai célokra, amelyek egyébként nehezen kezelhetők, tárolhatók bomlékonyságuk vagy reakcióképességük miatt (pl. jód, bróm, Fe(II), hidroxid-ionok, stb.). Igen fontos, nyilvánvaló feltétele azonban a coulombmetriás analízisnek, hogy az áramkihasználásnak közel 100%-osnak kell lennie, vagyis hogy az elektromos töltés teljes mennyiségének a kiszemelt elektrokémiai reakcióra kell fordítódnia. Amennyiben ez nem biztosítható, akkor az áramkihasználás állandó értéken tartása és annak pontos meghatározása szükséges ahhoz, hogy a coulombmetriás analízis elvégezhető legyen. Néhány példa coulombmetriás meghatározásokra: permanganát- vagy kromátionok direkt redukciója, ahol a végpont színváltozás alapján detektálható; tioszulfát-ionok oxidációja KI-ből elektrolitikusan

fejlesztett jóddal, amikor is a feleslegben megjelenő jód pl. keményítő indikátorral detektálható, stb.



1. ábra. Állandó áramerősségen és potenciometrikus végpontjelzéssel működő indirekt coulombméter vázlatos felépítése

Jelen gyakorlat során arzenitionokat fog meghatározni állandó áramerősségen kivitelezett, indirekt coulombmetria módszerének alkalmazásával, potenciometrikus végpontjelzés mellett. A titrálás során az arzenition a coulombmetriás reakcióedényben bromidionból Pt munkaelektrodokon elektrokémiai úton „*in situ*” fejlesztett brómmal fog reagálni. A folyamatot leíró reakcióegyenletek a következők:



A munkaelektrodokon folyamatosan fejlődő bróm azonnal reakcióba lép az arzenitionnal, mindaddig, amíg az utóbbiból van még jelen az edényben. Ha az elektrolízist a titrálás végpontja után sem állítjuk le, akkor a fejlődő bróm redukálószer hiányában megmarad, és gyenge sárga színűre színezi az egyébként színtelen oldatot. A végpontot akkor érjük el, amikor a redox (Pt) indikátorelektrod potenciálja a megfelelő értéket eléri — ekkor le kell állítani az elektrolízist és az időmérést. A megfelelő potenciálérték előzetes kiszámítása az arzenit/arzenát és bromid/bróm rendszerek standard elektródpotenciál adataiból a Nernst-egyenlet alapján lehetséges; emlékezzünk a redox titrálások esetére korábban már megismert képletre. A gyakorlat során most ezt a végpotenciált kísérleti úton, az indikátorelektrod potenciáljának egy próbatitrálás alatt való változásának követése révén fogja meghatározni.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

2 M KBr oldat

1 M és 0,1 M H_2SO_4 oldatok

desztillált víz

1 db 100 cm^3 -es mérőlombik (az ismeretlen mintának)

2 db 10 cm^3 -es hasas méregpipetta (sav pipettázásához)

1 db 10 cm^3 -es hasas pipetta (a KBr oldat pipettázásához)

1 db 5 cm^3 -es hasas pipetta (a minta pipettázásához)

4 db 25 cm^3 -es főzőpohár (a pipettázás segítésére)

1 db üvegtölcsér

1 db pipettázó labda

papírtörölő

OP-951 típusú mágneses keverő teflon keverőrúddal

Coulombmetriás tápegység négy elektróddal (3 db Pt, 1 db kalomel referens)

Számítógépes adatgyűjtő hardver és szoftver

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

A meghatározáshoz egy számítógép-vezérelt félautomatikus kísérleti elrendezést fog használni. A coulombmetriás titrálást állandó áramerősségen végzi majd, potenciometrikus végpontjelzés mellett. A számítógép a maga beállításainak megfelelően fogja a mérési adatokat gyűjteni és az elektrolízist elindítani/megállítani.

A meghatározandó oldatból 100 cm^3 törzsoldatot készítünk egy mérőlombikban. Az elektrolizáló edénybe mérjük be 10 cm^3 2 M KBr, 10 cm^3 1 M H_2SO_4 oldatokat (**a sav pipettázásához feltétlenül pipettázó labdát használjunk!**), majd hígítsuk az egészet kb. 100 cm^3 végtérfogatra desztillált vízzel. Az elektródtartó (az elektrolizáló edény fedele) középső nyílásában található, alulról porózus szinterlemezzel határolt elektródtartó edénybe 10 cm^3 0,1 M H_2SO_4 oldatot teszünk, majd belehelyezzük az oda csiszolattal csatlakozó platina elektródot. Ez lesz az egyik munkaelektrod. A másik Pt munkaelektrodot, valamint a potenciometrikus nyomkövetéshez szükséges Pt indikátor- és kalomel referencia elektródot szintén rögzítjük az elektródtartóban. Ezután az elektrolizáló edényben elhelyezzük a mágneses keverőrudat is, majd az edényt a mágneses keverőre helyezzük. Az elektródtartót leengedjük, hogy az elektródok belemerülhessenek az oldatba és az edényt a fedéllel a bajonett zárral rögzítjük. Ügyelve arra, hogy a keverőrúd semmiképpen ne ütődjön hozzá az elektródokhoz, megindítjuk a mágneses keverést.

Ezután bekapcsoljuk a számítógépet, amely automatikusan elindítja a mérést végző programot. A továbbiakban a teendők (a szükséges elektromos kapcsolatok leírása, a mérés

menete, stb.) a számítógép képernyőjén fognak megjelenni. Az utasítások lépésről lépésre végigvezetik majd a gyakorlaton — ezek lényege a következő. Ellenőrizze, hogy az áramgenerátorhoz (kis méretű fémdoboz csatlakozókkal az előlapján) a számítógép és az elektródok megfelelően vannak-e csatlakoztatva. A „**Probe**” feliratú banánhüvelyes kimenetek a számítógép hátoldali A/D konverter bemenetéhez, az indikátor Pt/kalomel elektródpár a „**Probe**” bemenet BNC csatlakozókhoz (a Pt a pozitív pólus), a munkaelektrod pár a „**Cell**” feliratú banándugós csatlakozókhoz (két egyforma Pt spirál elektród közül a negatív pólusú kerül a szinterezett csiszolatos üvegedénybe), a sokerű szürke kábel pedig a számítógép hátoldali soros portjához kapcsolandó. Ezek után dugaszolja be a hálózatba az áramgenerátort (az előlapon elkezd világítani egy piros LED).

A végrehajtandó kísérlet menete röviden a következő. Az első, a végponton is túltitrált próbamérés az indikátorelektrod potenciáljának (pontosabban az indikátor elektród pár közötti feszültség) követése révén azt a célt fogja szolgálni, hogy megállapítsa a végfeszültség helyes értékét. A számítógép a titrálás során folyamatosan kijelzi majd a mért feszültségértéket, amely alakulása az eltelt idő függvényében a szokásos szigmoid (titrálási) görbe szerint fog alakulni. A „görbe” kezdeti, közel állandó értékű futó szakaszához tartozó feszültséget, valamint a túltitrálás miatt tetőző feszültségértéket leolvassa, majd átlagolva jó becslést kaphat a végfeszültség értékére (itt természetesen feltételezzük, hogy a görbe szimmetrikus). Ezt a feszültségadatot be kell adnia majd a programnak, amely a későbbi titrálások során automatikusan leállítja majd a titrálást ezen feszültség elérésekor. A titrálás mindig pontosan a végpontban való leállítása azzal az előnnyel jár, hogy mivel nem marad vissza oxidálószer felesleg (bróm), a reakcióedényt ezért nem kell minden titrálás után kiüríteni és újra mérésre előkészíteni, hanem egyszerűen beadhatjuk a mérendő minta újabb részletet és kezdődhet az új titrálás. Az első próbatitrálás után azonban mindenképpen bróm felesleg lesz jelen a túltitrálás miatt, ezért azt el kell fogyasztatni — erre a program külön figyelmezteti majd. A titrálások során 5 cm^3 mintaoldatot pipetázzon be (a próbatitrálásnál esetleg kevesebbet), ügyelve arra, hogy az oldat maradéktalanul bekerüljön a reakcióedény belsejébe a fedél furatán keresztül. Az újabb mintarészlet beadagolását követően mindig várjon legalább két percet az elektrolízis elindítása előtt.

Összesen kilencszer végezze el a coulombmetriás meghatározást, amely mérési eredményeinek (a titrálás végpontjának eléréséhez szükséges idő) átlagát képezve kapja majd meg azt az időadatot, amelyből a reakcióegyenlet és a Faraday-törvény segítségével kiszámíthatja az ismeretlen oldat arzenition tartalmát.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- A titrálási eredmények (időadatok) részletes táblázata, az adatok átlaga és szórása
- A lombikban kapott ismeretlen mintaoldat arzenition koncentrációja mol/dm^3 egységben

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mit nevezünk direkt és indirekt coulombmetriának?
2. Mit mond ki az elektrolízis Faraday által megfogalmazott második törvénye?
3. Mekkora a Faraday állandó értéke és az honnan adódik?
4. Hogyan szól az áramerősség definíciója?
5. Jellemezze az állandó feszültségen végzett coulombmetria módszerét!
6. Jellemezze az állandó áramerősségen végzett coulombmetria módszerét!
7. Írja fel a végrehajtandó gyakorlat szerinti coulombmetriás arzenition meghatározásra vonatkozó kémiai reakcióegyenleteket!
8. Kadmium-amalgámot akarunk készíteni, amely 12 m/m% kadmiumot tartalmaz. 20 gramm higanyból kiindulva hány percig kell egy CdCl_2 oldatot állandó 2 A áramerősséggel elektrolizálnunk, hogy előálljon a kívánt amalgám-összetétel? (a kadmium móltömege: 112,4 gramm/mol; a helyes megoldás: 39,02 perc)
9. Egy ezüst coulombmétert sorba kötünk egy elektrolizáló cellával. Az elektrolízis során a leváló ezüst tömege 2,75 g. Hány coulomb haladt át a rendszeren az elektrolízis folyamán? (az ezüst móltömege: 107,87 gramm/mol; a helyes megoldás: $2,46 \cdot 10^3 \text{ C}$)
10. Hány óra alatt lehet 3,50 A áramerősségen folytatott elektrolízissel 129 g aranyat leválasztani a $\text{Au}(\text{CN})_2^- + \text{e}^- \rightarrow \text{Au} + 2 \text{CN}^-$ folyamat szerint? (az arany móltömege: 196,97 gramm/mol; a helyes megoldás: 5,01 óra)

ERŐS SAV-ERŐS BÁZIS TITRÁLÁSOK KIÉRTÉKELÉSE A GRAN-MÓDSZERREL

A GYAKORLAT CÉLJA: Erős sav erős bázissal történő titrálásának követése potenciometriás módszerrel, pH-érzékeny üvegelektroddal. A titrálás ekvivalenciapontjának megállapítása a mérési adatok linearizálásával. A lúgmérőoldat karbonáttartalmának becslése.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

Potenciometria. A potenciometria az elektrolitoldatba merülő elektród felületén kialakuló potenciál mérésén alapuló elektroanalitikai módszer. Például ha egy ezüstionokat (Ag^+) tartalmazó oldatba ezüstdrótot helyezünk, a dróton kialakul egy sztatikus (vagy egyensúlyi) elektromos potenciál. Az így kapott, az oldatba merülő elemi állapotú fémről és a fém sójából álló oldat együttesét *elsőfajú elektródnak* nevezzük. Az elsőfajú elektródok potenciálja pontosan ellenőrzött körülmények között jól definiált módon változik az elektródfém ionjainak oldatbeli koncentrációjával, ezért alkalmas annak mennyiségi meghatározására. Az elsőfajú elektródok mellett számos olyan elektródot is kifejlesztettek már, amelyek potenciálját egy adott (nem feltétlenül fém-) ion vagy esetleg molekula oldatbeli koncentrációja szabja meg. Ilyenek például a pH-érzékeny-, ionszelektív-, enzim-, gáz-, redoxi- és amalgámelektrodok. Mivel ezek potenciálváltozása alapján pl. a titrálások során az oldatokban bekövetkező koncentrációváltozások nyomonkövethetők, a felsorolt elektródokat az analitikai kémiában együttesen *indikátorelektrodoknak* is nevezik.

A Nernst-egyenlet. Az az ion- vagy molekulafajta, amelyik az elektród potenciálját meghatározza (ez a fentebbi példa esetében az Ag^+ ion), az ún. *elektródaktív komponens*. Az elektródaktív komponens *kémiai aktivitása* és az *elektród potenciálja* (E) közötti kapcsolatot a Nernst-egyenlet írja le. Ha az elektródpotenciál mérése során biztosítjuk (pl. jelentős mennyiségű indifferens vezetősó, ún. *háttélektrolit* hozzáadásával), hogy az oldat ionerőssége és ezzel az elektrolit aktivitási koefficiense állandó maradjon, akkor utóbbi összevonható a standard potenciállal (E°), és így az egyenlet a következő egyszerű formában írható fel (298 K-en):

$$E = E^\circ + \frac{0,0591}{n} \cdot \lg c$$

ahol n az elektródreakció során bekövetkező elektronszámváltozás. Az elektródpotenciál értékének pontos megmérése révén, E° ismeretében (vagy kalibráció révén) a koncentráció kiszámítható — ezt az eljárást *direkt potenciometriának* nevezzük. A laboratóriumi gyakorlatban E° általában nem ismert pontosan, mivel meghatározása gyakran hosszadalmas és körülményes művelet. Szerencsére *titrálások potenciometriás végpontjelzésekor* (indirekt potenciometria) ennek pontos ismeretére nincs is szükség, hiszen ilyenkor a potenciál változását követjük, és a potenciálnak a végpontban bekövetkező ugrásából határozzuk meg a titrálás ekvivalenciapontjának helyét.

Viszonyítási elektródok. Közismert, hogy egy elektród potenciálját mindig csak egy másik elektródhoz képest, ahhoz viszonyítva lehet meghatározni, az elektródpotenciálok különbségének (feszültség) mérésével. Technikailag ez azt jelenti, hogy az indikátorlelektrodot egy ún. *viszonyítási* (vagy referencia) *elektroddal* kapcsolják össze. Ha a viszonyítási elektród potenciálja mérés során jó közelítéssel állandó, akkor a bekövetkező potenciálváltozás egyedül az elektródaktív komponens koncentrációjának (aktivitásának) változását fogja tükrözni. Viszonyítási elektródként szolgálnak az ún. *másodfajú elektródok*, a gyakorlatban a Ag/AgCl vagy a Hg/Hg₂Cl₂ (kalomel) elektródok a legelterjedtebbek. A másodfajú elektródok egy fémből, annak rosszul oldódó sójából, valamint a só anionját tartalmazó, jól oldódó só elegendően nagy koncentrációjú (esetenként telített) oldatából álló rendszer. Ebben az elrendezésben az elektródaktív ion koncentrációja bizonyíthatóan állandó, ami egyúttal garantálja az állandó elektródpotenciált.

A pH-érzékeny üvegelektrod. A pH-érzékeny üvegelektrod a napi gyakorlatban leggyakrabban alkalmazott elektródfajta, amely az oldatok pH-jának meghatározására szolgál. A kereskedelmi forgalomban beszerezhető üvegelektrodok általában az $1 < \text{pH} < 13$ tartományban használhatóak megbízhatóan. Az üvegelektrod lényegében egy vékony falú üveggömb (membrán), amely az oldat H^+ ionjaival ioncsereegyensúlyt alakít ki. A membránon kialakuló potenciált a két oldalán levő H^+ ionkoncentrációk aránya határozza meg. Ha az üveggömb belsejében állandó H^+ ionkoncentrációt biztosítunk (pl. megfelelő pufferoldattal való feltöltés révén), az elektródpotenciál változása egyedül a külső H^+ ionkoncentrációtól, azaz az oldat pH-jától fog függeni. Az egyik legközismertebb üvegelektrod az ún. kombinált üvegelektrod, ennek belsejében még egy viszonyítási elektród (általában Ag/AgCl) is be van építve. A kombinált üvegelektroddal és egy voltmérővel igen egyszerű az oldatok pH-jának közvetlen meghatározása (direkt pH-metria) illetve a pH-ban bekövetkező változások követése (pH-metriás titrálás). Természetesen direkt pH-metriás mérések előtt a cellát illeszteni (hitelesíteni) kell, ezt ismert pH-jú standard pufferekkel végezzük el.

Erős sav-erős bázis titrálások. A kémiai laboratóriumokban az egyik leggyakoribb, rutinszerűen végrehajtandó feladat az erős savak erős bázissal való titrálása. Noha az ilyen típusú mérések triviálisnak tűnnek, mégis pontos végrehajtásuk igen nagy körütekintést igényel. Emellett a belőlük származó információk, pl. a sav- vagy lúgoldat pontos koncentrációja és tisztasága is gyakran kulcsfontosságúak, ezért megbízható ismeretük számos alkalmazás során alapvető fontosságú. Az üvegelektrod egyik leggyakoribb

alkalmazása éppen az ilyen típusú pH metriás titrálások végpontjelzése. Az ekvivalenciapont környékén bekövetkező több nagyságrendnyi csökkenés a hidrogénionkoncentrációban ($[H^+]$) jelentős (gyakran több száz mV) elektrópotenciál változást okoz, ennek alapján a végpont könnyen észlelhető, ill. ennek alapján a titrálások automatizálása is viszonylag egyszerűen megoldható.

A Gran függvény. A titrálás végpontjának *pontos* meghatározása nem triviális feladat. Az ekvivalenciaponttól távol az oldat pH-ja általában jól mérhető, így annak pH-ját megbízhatóan tudjuk mérni. Minél közelebb kerülünk azonban az egyenértékponthoz, annál kisebb lesz a rendszer pufferkapacitása, amivel együtt a pH-mérés bizonytalansága is növekszik. Ebben a tartományban kis analitikai hibák (pl. a térfogatmérés kis bizonytalanságai) ill. a pH-val változó kémiai állapotú szennyeződések (pl. karbonátionok, bővebben ld. alább) jelenléte nagy hibákat okoz a mért pH értékekben. Nagyon gyakran még az is előfordul, hogy az egyenértékponthoz az üvegelektrod potenciálja nem is képes stabilizálódni.

Az egyenértékpont meghatározására használt különböző *grafikus* és az első differenciálhányados maximumának megkeresésén alapuló *numerikus* módszerek legnagyobb hibaforrása éppen az, hogy alkalmazásukhoz szükség van az egyenértékpont közelében levő mérési pontok felhasználására. E mérési pontok bizonytalanságai miatt a grafikus és numerikus módszerek még optimális körülmények között is legfeljebb néhány tized százalék pontossággal képesek ekvivalenciapont meghatározására. Ennél nagyobb pontosságigényű (kb. 0,1%) ekvivalenciapont meghatározásra fejlesztették ki az erős sav erős bázis titrálások *analitikus* kezelésén alapuló kiértékelési módszert, amelyet felfedezőjéről Gran eljárásnak is neveznek. A Gran-módszer lényege a pH-metriás titrálási görbék linearizálása. A módszer előnyei, hogy a titrálási görbe jól pufferolt, az ekvivalenciaponttól távol eső pontjait használja fel az ekvivalenciapont meghatározására, és hogy alkalmas arra is, hogy a mérendő rendszer ideálistól való eltéréseinek okára is információval szolgáltasson (pl. a lúgmérőoldat karbonát vagy egyéb pH-aktív szennyeződéseinek kimutatása ill. az üvegelektrod hibás működésének jelzése, stb.). A Gran-módszer nem csak erős sav erős bázis titrálások esetében alkalmazható, hanem gyenge savak ill. gyenge bázisok titrálásának kiértékelésére is, az érdeklődő hallgatók az erre vonatkozó részleteket megtalálhatják például *Burger Kálmán: Az analitikai kémia alapjai. Kémiai és műszeres elemzés.* című tankönyvében.

A Gran módszer alkalmazása erős sav erős lúggal történő titrálásának kiértékelésére. Ha egy V_0 térfogatú, c_x (ismeretlen) koncentrációjú, egyértékű erős savoldatot titrálunk egy c koncentrációjú egyértékű lúgoldattal, akkor az ekvivalenciapont előtt, a titrálószer V_i térfogatrészletének hozzáadása után az oldat $[H^+]$ -ja (ha eltekintünk a víz disszociációjából származó protonoktól)

$$[H^+] = \frac{V_0 \cdot c_x - V_i \cdot c}{V_0 + V_i}$$

Figyelembe véve, hogy az ekvivalenciapontban

$$V_0 \cdot c_x = V_e \cdot c$$

ahol V_e a lúgmérőoldat ekvivalens térfogata (azaz a *lúgfogyás*), a két fenti egyenlet egymásba helyettesítését, majd átrendezését követően adódik

$$\frac{V_0 + V_i}{c} \cdot 10^{-pH} = V_e - V_i$$

ami végül átalakítható a következő egyenletté

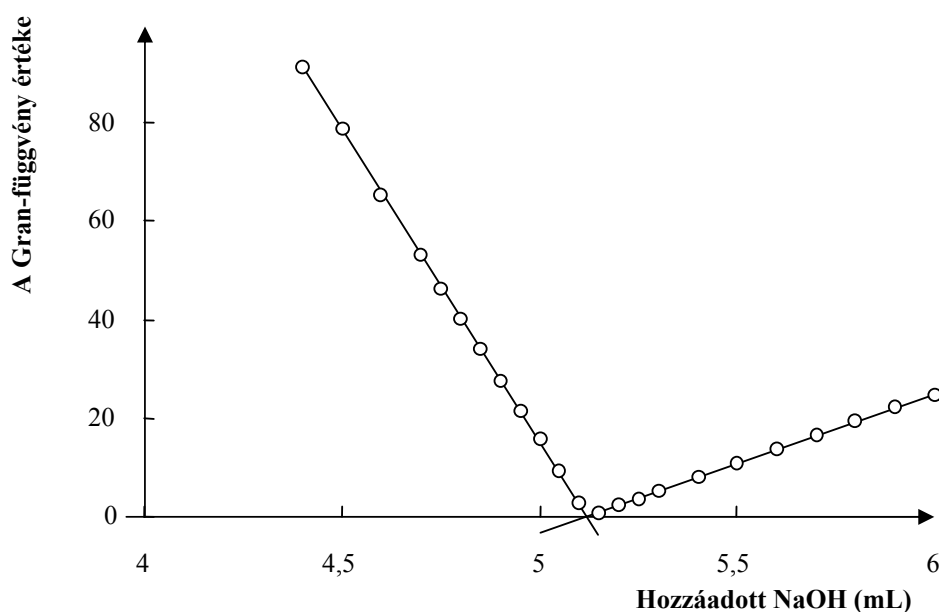
$$\frac{10^{-pH}}{c} \cdot V_i + \frac{V_0 \cdot 10^{-pH}}{c} = V_e - V_i$$

A baloldalon szereplő kifejezés, amelynek értékét *a titrálás minden pontjában ki tudjuk számítani* V_0 és V_i ismeretében (ezért nem szabad meghígitani a reakcióelegyet!), az ún. savas ágra vonatkozó Gran függvény, ami a V_i függvényében egy *negatív meredekségű* egyenest ír le (**1. ábra**). Ez az X-tengelyt épp az ekvivalenciapontnak megfelelő térfogatértéknél metszi (az egyenlet jobboldala ott válik zérussá). Hasonló megfontolások alapján belátható, hogy *a lúgos tartományba* eső mérési pontokban a megelőzőhöz formailag igen hasonló

$$K_v \cdot \frac{V_0 + V_i}{c} \cdot 10^{pH} = V_i - V_e$$

összefüggés érvényes (itt K_v a víz ionszorzata, a számításokhoz esetünkben $10^{-14} \text{ mol}^2\text{dm}^{-6}$ -nak vehető), ennek baloldala az ún. lúgos ágra vonatkozó Gran-függvény (**1. ábra**). Ha az ekvivalenciaponton túli mérési pontokra ábrázoljuk a fenti kifejezés baloldalát a V_i függvényében, akkor egy *pozitív meredekségű* egyenest kapunk, amelynek metszéspontja az X-tengelyt ismét az ekvivalenciapontnak megfelelő térfogatnál fogja elmetszeni. Fontos megjegyezni, hogy a Gran-függvény savas és lúgos ága meredekségeinek hányadosából a víz *adott körülményekre vonatkozó vízionszorzata* meghatározható.

Ideális esetben a Gran-függvény mindkét ága egyenes és ugyanabban a pontban metszik egymást és az X-tengelyt. Az ideális viselkedés eléréséhez szükséges, hogy a mintánk pontos térfogatát minden mérési pontban tudjuk, és hogy a Nernst-egyenletben szereplő mennyiségek közül az elektród standard potenciálja és érzékenysége, valamint a vízionszorzat a mérés során ne változzanak.



1. ábra Erős sav erős bázissal történő titrálásának Gran-függvénye.

Az ideális viselkedéstől való eltérések fontos diagnosztikai jellegű információkat hordoznak a mérő- ill. mérendő rendszerre vonatkozóan. Gyakran előfordul például, hogy a savas ág alacsonyabb fogyásnál (V_s) metszi az X-tengelyt, mint a lúgos (V_l), azaz $V_s < V_l$. Ez többnyire arra utal, hogy a lúgmérőoldat valamelyest „elkarbonátosodott” (pl. CO_2 -t abszorbeált a környezetből). Ha feltesszük, hogy a két ág metszéspontja közötti különbség kizárólag a lúg karbonáttartalmából adódik, akkor a titrálás ekvivalenciapontja a lúgos ág metszéspontjánál lesz megtalálható. Emellett a két ág metszéspontja közötti térfogatkülönbséghez tartozó lúg anyagmennyiség ($n = (V_l - V_s) \times c_{\text{NaOH}}/2$) megadja, hogy az ekvivalenciapont környékén mekkora volt karbonát anyagmennyisége a titrált oldatban (n) illetve koncentrációja a lúgoldatban (n/V_l , utóbbi számításnál hallgatólagosan feltételezzük, hogy a titrált oldatba karbonátionok csak a lúgmérőoldatból jutottak). Hogy a mérés során a levegőből történő CO_2 abszorpciót elkerüljük illetve minimalizáljuk, a nagyobb pontosságigényű titrálások során szükséges a rendszeren valamilyen inert gáz (N_2 vagy Ar) átbuborékoltatni. A Gran függvény egyes ágainak linearitástól való eltérése (görbülése) többféle tényezőtől is származhat, például a mérés során az ionok aktivitási koefficiense vagy a potenciometriás cellában képződő diffúziós potenciálok nem állandóak. Mindkét hatás megfelelő mennyiségű inert vezetősó alkalmazásával elkerülhető illetve minimalizálható. További hibaforrás lehet még ez üvegelektrod membránjának „elfáradása” (öregedése), membránmérgeзések (pl. felületaktív anyagok megtapadása a membránon), egyéb pH-függő kémiai viselkedésű szennyezések jelenléte az oldatban.

A Gran módszer alkalmazása erős lúg erős savval történő titrálásának kiértékelésére. Könnyen belátható, hogy a kiértékelés menete lényegében nem változik, ha felcseréljük a mintát és a titrálószeret. Ilyenkor mindössze a grafikon menete fordul meg, vagyis az ekvivalenciapont előtti szakaszt leíró függvényt most az ekvivalenciapont után kell

alkalmaznunk és fordítva. A karbonáttartalomra vonatkozó megfontolások is könnyedén konvertálhatók erre az esetre.

SZÜKSÉGES ANYAGOK ÉS ESZKÖZÖK

0,1 M NaOH vagy HCl mérőoldat (a pontos koncentráció feljegyzendő!)

Standard pufferoldatok (pH ~ 2 és 9)

5 mol dm⁻³ koncentrációjú NaCl oldat

desztillált víz

1 db 20 cm³-es hasas pipetta (a mérendő mintarészlet kiméréséhez)

5 db 25 cm³-es főzőpohár (a pufferoldatokhoz és a titráláshoz)

1 db üvegedény (elektrod-öblítéshez)

1 db pipettázó labda

papírtörő

Radelkis OP-208/1 típusú pH-mérő

Radelkis OP-0808P típusú kombinált üvegelektrod

Radelkis OP951/1 típusú mágneses keverő keverőrúddal

OP-930/1 típusú automata büretta

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZER LEÍRÁSA

A pH-mérő beállítása. Először a digitális pH-mérőt (Radelkis OP-208-1) kell beállítanunk úgy, hogy az a rendelkezésre álló üvegelektroddal a pontos pH értéket mérje. Ezt a beállítást két standard pufferoldat (pH= 2 ill. 9 körüli, a pontos pH-érték a tárolóedényen fel van tüntetve) segítségével végezzük el. A művelet elvi alapját az képezi, hogy az elektrodpotenciál pH-tól való lineáris függése miatt az egyenes meredekségét és tengelymetszetét úgy kell szabályoznunk, hogy a mérőműszer a helyes pH értéket tudja kijelezni. Öntsünk kb. 25 cm³-t a két pufferoldatból egy-egy száraz és tiszta 50 cm³-es főzőpohárba. Mossuk le az üvegelektrodot desztillált vízzel és egy szűrőpapírral óvatosan, minimális dörzsöléssel itassuk le a folyadékot az elektrod membránjáról. Figyelem, a dörzsölés rendkívüli módon árt az elektrod membránjának, ezért az mindig kerülendő! Merítsük az elektrodot a pH ~ 2-es pufferba úgy, hogy az oldat ellepje az elektrod üveggömbjét, és hogy a gömb fölött levő kb. 1 mm átmérőjű pórusos üveg- vagy kerámia szűrő (ami elektromos kontaktust teremt a beépített referens elektrod és a membrán külső része között) is a folyadék szintje alatt legyen. A digitális pH-mérőn eresszük ki a „STDBY/MEAS” és nyomjuk be a „pH” nyomógombokat (előbbivel a műszert mérőállásba, utóbbival pH-mérő üzemmódba helyezzük). Ezután a „SET STD.1” beállítószerven állítsuk

be az első pufferoldat *tényleges* pH-értékét, majd a „**STD.1. fine**” gombbal szabályozzuk addig a digitális kijelzőn látható pH-t, amíg az pontosan meg nem egyezik a puffer *tényleges* pH-jával. A beállítást akkor fejezzük be, amikor a digitális kijelzőn mutatott pH-érték gyakorlatilag már nem változik. Emeljük ki az elektródot, mossuk le desztillált vízzel, itassuk le és mérítsük a második pufferoldatba (pH ~ 9). Az „**STD.2.**” forgatógomb segítségével állítsuk be a digitális kijelzőn a második pufferoldat *tényleges* pH értékét. Ugyanúgy mint az előbb, a beállítást az elektród oldatba merítése után 0,5 – 1 perccel végezzük el, általában ennyi idő szükséges ez elektródon az egyensúly beállításához. Ha a pH-mérő által mutatott érték még egy perc után is változik, akkor kérjük a gyakorlatvezető segítségét, ugyanis feltehetően cserére szorul az elektród. A kalibrálás végén nyomjuk be a „**STDBY/MEAS.**” gombot és az elektródot helyezzük vissza a tároló oldatba (ami általában desztillált víz). A pufferoldatokat újra fel lehet használni, ezért azokat visszaöntjük a tárolóedényeikbe.

Az automata buretta használata. A Gran-módszer alkalmazhatóságának egyik kulcsfontosságú eleme a pontos térfogatmérés, ill. a titrálendő oldat térfogatának pontos ismerete a titrálás minden pontjában, ezért a méréshez egy nagy pontosságú automata burettát alkalmazunk. Az OP-930/1 típusú automata buretta működése egy szabályozható sebességű, precíziós elektromos léptetőmotorral hajtott fecskendőn alapul. A buretta a felső részén látható üvegfecskendőben tárolja a mérőoldatot; ha a léptetőmotorral hajtott dugattyú utasításra felfelé mozdul, akkor az oldat kiadagolásra kerül, míg lefelé mozdítva a dugattyút, a fecskendő felszívja az oldatot. A fecskendő kivezető nyílása egy elektromos érzékelővel ellátott üvegcsap révén kétfelé ágazik – a csap egyik állása a felszíváshoz, a másik az adagoláshoz tartozik. Az üvegcsap kimeneteihez toldott műanyag csövek szolgálnak az oldat el- és hozzávezetésére. Az üvegcsap kétállású: a pillanatnyi pozíció megállapítását a csap fedőlapján elhelyezett, a folyadékáramlást fekete vonallal szimbolizáló ábra segíti (figyeljük meg a csőkapcsolatok követésével, hogy melyik állás felel meg felszívásnak és az adagolásnak!). A buretta nyugalmi állapotában a csapot felszívó állásba hozva a fecskendő automatikusan teleszívja magát oldattal – ha ez megtörtént, akkor a csapot fordítsuk vissza kiadagoló állásba. A buretta egyszerre két dugattyút/fecskendőt is képes lenne működtetni, azonban most csak egyet fogunk használni; ügyeljünk arra, hogy mindkét csapnak azonos állásban kell lennie! A csapot mindig végállástól végállásig fordítsuk el. Használat előtt mindig gondoskodjunk arról, hogy az oldatvezető csövek buborékmentesek legyenek – ha szükséges, a buborékokat kocogtatással (azokat felfelé „kivezetve”) vagy oldatmozgatással távolítsuk el. Az utóbbi esetben mindig **vigyázzunk, hogy az esetleg gyorsan kiáramló mérőoldat ne kerüljön szembe, bőrre!** A felszívó csőnek mindig a mérőoldat tároló edény folyadékszintje alá kell érnie, a kiadagoló cső pedig a titrálendő oldatba ér.

Az előlapon található kezelőszervek funkciója a következő. A „**Mains**” kapcsoló a hálózati főkapcsoló (ezt értelemszerűen be kell kapcsolni). A „**Speed**” feliratú választókapcsoló a kiadagolás sebességét szabályozza (ezt állítsuk 2-es állásba). A négydigites kijelző a már kiadagolt mérőoldat-térfogatot jelzi ki 0,001 cm³ felbontással. A „**Reset**” pillanatkapcsolót megnyomva bármikor nullázható a kijelzőn látható érték, a „**Start**” nyomógomb megnyomásakor indul az adagolás (az indítás előtt mindig nullázzuk a kijelzőt

továbbá ellenőrizzük, hogy az üvegcsap adagolás állásban van és a fecskendőben is van elegendő oldat), a „**Stop**” nyomógommbal bármikor megszakítható a kiadagolás, a „**100 μL** ” nyomógomb a lépésenként való adagoláshoz szükséges. Az „**Aut./Manual.**” kapcsoló mindig legyen „**Manual**” állásban.

Sósavoldat koncentrációjának meghatározása. Az ismeretlen koncentrációjú sósavoldatot egy $100,00\text{ cm}^3$ -es mérőlombikban kapjuk meg, amely már a szükséges NaCl mennyiséget is tartalmazza. A desztillált vízzel jelre töltött oldat $20,00\text{ cm}^3$ -es részletét *tiszta és száraz* 25 cm^3 -es főzőpohárba pipettázzuk. Mielőtt a mérendő oldatba helyeznénk, alaposan mossuk le az elektródot desztillált vízzel. Az elektród érzékelő membránját szűrőpapírral itassuk le. Ügyeljünk arra, hogy a főzőpohárban levő mágneses keverő ne érhesse hozzá az elektród érzékeny és törékeny membránjához. A buretta fecskendőjét töltsük fel a lúgoldattal, a számlálót nullázzuk le és a bevezető csövet töröljük szárazra. Várjuk meg, amíg a pH-mérő állandó értéket jelez ki, majd helyezzük el az automata buretta kivezető csövét a titrálandó oldatba.

Intenzív keverés mellett $0,200\text{ cm}^3$ -es ($2 \times 100\text{ }\mu\text{L}$ -es) részletekben adagoljunk az oldathoz NaOH mérőoldatot az automata bürettából, a „**100 μL** ” feliratú nyomógomb segítségével. A pH értéket akkor jegyezzük fel, amikor a műszer legalább 10 másodpercig második tizedesjegyben nem változik (az ekvivalenciapontok közvetlen környékében ettől a feltételtől tekintünk el). Jegyezzük fel az összetartozó fogyás-pH értékeket. Az ekvivalenciapontot kb. 2 cm^3 lúgfogyásnál fogjuk észlelni. A titrálást folytassuk $4,00\text{ cm}^3$ -es fogyásig. Három titrálást végezzünk, a bürettát mindannyiszor teljesen feltöltött és nullázott állásból indítsuk.

Az ekvivalenciapont meghatározása. Táblázatosan adjuk meg és milliméterpapíron ábrázoljuk az összetartozó fogyás (V_i) – pH – Gran függvény értékeket. Ha a fogyás tengelyen 1 cm^3 -nek 10 cm felel meg, akkor az ábrázolás pontossága kb. $\pm 0,01\text{ cm}^3$, azaz $\pm 0,5\%$ lenne. Ez javítható, ha a titrálási pontokra számítógép segítségével, lineáris regressziót alkalmazva egyenest illesztünk. Ha a Gran-függvény valamelyik ága görbült, akkor az egyenesillesztéstől tekintünk el és kérjük a kiértékeléshez a gyakorlatvezető segítségét. Számítsuk ki mindhárom titrálásból a savas és a lúgos ágak X-tengellyel való metszéspontjaiból számítható egyenértékpontok helyét és abból az ismeretlen sósavoldat koncentrációját. A két metszéspont különbsége alapján becsüljük meg a lúgoldat karbonáttartalmát is.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Legalább három erős sav erős bázis titrálás során mért fogyás, pH és a számított Gran függvény értékek táblázatosan és grafikusán megadva.
- A lúgoldat becsült karbonáttartalma $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ -ben megadva.
- Az ismeretlen oldat koncentrációja $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ -ben, a Gran függvény savas és lúgos ágának lineáris regresszióval meghatározott metszéspontjai alapján kiszámítva.

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Ismertesse a Nernst-egyenlet általános alakját, és adja meg a benne szereplő mennyiségek definícióját!
2. Mit nevezünk indikátorelektrodnak? Sorolja fel a legfontosabb indikátorelektrod típusokat!
3. Írja le az első- és másodfajú elektrod fogalmát!
4. Írja le a potenciometriás cella fogalmát és annak alkotórészeit!
5. Mi az üvegelektrod működési elve?
6. Röviden ismertesse, hogyan lehet a Gran-módszert alkalmazni erős sav erős bázissal történő titrálásának kiértékelésénél!
7. Szükséges-e a Gran-módszer alkalmazásához a mindenkori oldattérfogat pontos ismerete? Miért?
8. Milyen tényezők okozhatják a Gran-függvény ideálistól eltérő lefutását?
9. Rajzoljon fel egy olyan Gran-függvényt, amelyet egy erős sav jelentős mennyiségű karbonátot tartalmazó lúggal való titrálásakor kapunk! Hogyan tudja ebből az ábrából megbecsülni a lúgmérőoldat karbonáttartalmát?
10. Melyek a Gran-módszer előnyei a potenciometriás titrálási görbék ekvivalenciapontjának meghatározására szolgáló egyéb eljárásokkal szemben?

UV-LÁTHATÓ ABSZORPCIÓS SPEKTROFOTOMETRIA

A GYAKORLAT CÉLJA: AZ UV-látható abszorpciós spektrofotométer működésének megismerése és a Lambert-Beer törvény alkalmazása. Szalicilsav meghatározása egy vizes oldatban kalibrációs egyenes alapján.

A MÉRÉSI MÓDSZER ALAPELVEI

Az ultraibolya (UV, $200\text{ nm} \leq \lambda \leq 400\text{ nm}$) ill. látható (VIS, $400\text{ nm} \leq \lambda \leq 800\text{ nm}$) fény elnyelésekor (abszorpciójakor) a molekulák elektroneloszlása megváltozik: kötő, lazító vagy nemkötő elektronjaik kisebb energiájú pályákról nagyobb energiájúakra ugranak át, azaz gerjesztődnek. Az ilyen elektronátmenetek tanulmányozásával foglalkozó spektroszkópiai módszert elektrongerjesztési (vagy elektron-) spektroszkópiának is nevezik. Egy molekula azon részleteit, amelyekben az elektronátmenetek létrejönnek (azaz elnyelik a fényt), *kromoforoknak* nevezzük. Azt az energiatartományt, amelynél egy adott kromofor elnyel, elnyelési sávnak nevezzük, ennek helye a spektrumban (vagyis a hozzá tartozó elektronátmenet energiája) elsősorban a kromofor anyagi minőségétől függ, de azt a kromoforral kölcsönhatásban levő egyéb csoportok is befolyásolják.

Amikor egy anyag vizes oldatának fényelnyelését ábrázoljuk a besugárzó fény energiájának (hullámhosszának) függvényében, az ún. *abszorpciós spektrumot* kapjuk. Az abszorpciós spektrum mind minőségi, mind mennyiségi információkat hordoz, emiatt az analitikai kémia egyik leggyakrabban használt módszere. Ha besugárzunk egy oldatot egy I_0 intenzitású, adott hullámhosszágú (monokromatikus) fénysugárral, annak intenzitása a fény abszorpciója miatt lecsökken I -re. A fényelnyelést egy mértékegység nélküli mennyiség, az *abszorbancia* jellemzi, ami definíció szerint

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

Szokás még a fényelnyelést a *transzmittanciával* (más szóval transzmisszióval, T) is jellemezni, amely a minta fényáteresztő képességére jellemző, és az átengedett valamint a beeső fény intenzitásának hányadosaként szokás kifejezni (egyes esetekben százalékban):

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

Tekintsünk egy olyan oldatot, amelyben csak *egyfajta* fényt abszorbeáló anyag van jelen. Az anyag koncentrációja (c) és az adott λ hullámhosszúságú sugárzásra mért abszorbancia (A_λ) közötti összefüggést a *Lambert-Beer törvény* írja le, amely szerint

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot l$$

ahol l a *rétegvastagság* (ez a mérések többségében 1 cm), és ε_λ az adott kromoforra jellemző, az alkalmazott hullámhossztól függő mennyiség, az ún. *moláris abszorbancia*, az egységnyi (1 mol/L) koncentrációjú oldat egységnyi (1 cm) rétegvastagságnál mért abszorbanciája. A Lambert-Beer törvény érvényességi határain belül az abszorbancia *additív tulajdonság*, amely a vizsgált hullámhossznál az egymás mellett előforduló komponensek abszorbanciáinak összegeként adódik. Tehát n darab fényelnyelő komponenst tartalmazó oldatra

$$A_\lambda = l \cdot \sum_{i=1}^n \varepsilon_{\lambda i} \cdot c_i$$

ahol $\varepsilon_{\lambda i}$ az i -edik, c_i koncentrációjú komponens moláris abszorbanciája az adott hullámhossznál. Abszorbanciamérés alapján, a moláris abszorbancia és a rétegvastagság ismeretében a Lambert-Beer törvény alkalmazásával a kromofor koncentrációja közvetlenül is meghatározható. Fontos megemlíteni, hogy a törvény kizárólag híg oldatokra ($c < 10^{-3}$ mol/L) érvényes, töményebb oldatokra csak módosításokkal alkalmazható (pl. a törésmutató változását figyelembe kell venni). Eltéréseket okozhatnak még a törvénytől a kromofor különböző kémiai reakciói (pl. önasszociáció, protonálódási vagy komplexképződési egyensúlyok), valamint az oldószercsere is.

Az abszorpciós spektrofotometria gyakorlata. Az abszorpciós spektrofotométerek legfontosabb alkotóeleme egy olyan fényforrás, amely a teljes mérési (UV vagy VIS) hullámhossztartományt lefedő folytonos („fehér” fényt) sugároz ki. Ezt a fényt alkalmas optikai eszközzel (pl. prizma vagy rács segítségével) összetevőire bontjuk, majd egy kiválasztott hullámhosszúságú nyalábját a mintatartóban elhelyezett mintára irányítjuk. A mintaoldatot üvegből, műanyagból vagy kvarcból készült edényben (*küvettában*) helyezzük el. Az UV tartományba eső spektrumok felvételéhez szükséges a kvarcküvetta alkalmazása, mert a más anyagból készült küvetták maguk is elnyelik az UV-fényt. A küvettán keresztülhaladó fénysugarat egy detektorra (fotocella, fotoelektron-sokszorozó) irányítjuk, amely megméri annak intenzitását.

Az abszorpciós spektrofotometriás mérés során a beeső fény intenzitását az oldatban való abszorpció mellett a szóródás és visszaverődés is csökkenti. Utóbbiaknak a mért jelhez való hozzájárulását a mérés pontossága érdekében állandó értéken kell tartani vagy elhanyagolhatóvá kell tenni. Ezért pl. a mérés során ügyelni kell arra, hogy a kűvetta azon oldalai, amelyen a méréshez használt fénysugár keresztülhalad, a lehető legtisztábbak legyenek. További hibaforrás, ha az optikai felületnek a beeső fénysugárral bezárt szöge mintáról mintára változik (nem áll függőlegesen a kűvetta), ami változó mértékű visszaverődést és ezzel a beeső fénysugár intenzitásában ingadozásokat okoz. Általában elkerülendő még az is, hogy a mérendő oldat csapadékos legyen vagy kolloid részecskék legyenek benne, ez ugyanis úgynevezett *alapvonaeltolódást* (az abszorpciós spektrum konstans értékkel való pozitív irányú eltolódását) eredményezi. Bármely hullámhosszon is hajtjuk végre a mérést, nem várható, hogy ott kizárólag a célmolekula kromoforjának fényelnyelése okozzon csökkenést a beeső fény intenzitásában: az oldószernak és magának a kűvettának is van valamennyi „saját” elnyelése. Az ezek által okozott fényvesztéséget mindig korrekcióba kell venni. Ezt egy úgynevezett *vakoldat* segítségével tesszük meg, amelyben a kromoforon kívül minden, a mérendő mintában is jelenlevő komponens megtalálható. Ha a vakoldat fényelnyelését regisztráljuk és a mintaoldat fényelnyeléséből azt levonjuk, akkor az így kapott (különbségi) spektrum már tisztán csak a kromoforra lesz jellemző, és a kapott (ún. háttérkorrigált) abszorbancia pedig csak a kromofor koncentrációjától fog függeni.

Az abszorpciós spektrofotometriás mérések során a mintába belépő és abból kilépő fény intenzitásának arányát mérjük. Kis abszorbanciáknál a belépő és az áteresztett fény intenzitása közötti kis különbség miatt ($I_0 \approx I$), míg nagy abszorbanciáknál az áteresztett fény intenzitásának kicsiny volta miatt ($I_0 \approx 0$) jelentős lehet a mért abszorbancia értékek pontatlansága. Korábban, a mechanikus felépítésű spektrofotométerek korában ezért elfogadott szabály volt, hogy a spektrofotometria legmegbízhatóbban (kb. 1 relatív % pontossággal) akkor használható, ha a mért abszorbanciák 0,3 és 0,6 érték közé esnek. A modernebb (elektromos/digitális) spektrofotométereknél ugyanez a $0,05 \leq A \leq 2$ tartományban is elérhető. Mindezek miatt tanácsos méréseinket a koncentrációtartomány, a méréshez használt hullámhossz vagy a rétegvastagság alkalmas megválasztásával úgy megtervezni, hogy a mért abszorbanciaadatok az optimális tartományba essenek.

Mennyiségi elemzés. UV-látható spektrofotometria alkalmazásával csak olyan anyagok mérhetők, amelyek a $200 \text{ nm} \leq \lambda \leq 800 \text{ nm}$ tartományban fényt nyelnek el. Ha a meghatározandó anyag nem is nyel el fényt, az valamilyen szelektív reakcióval általában fényelnyelővé tehető. Pl. a $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ aquoionok csak nagyon gyenge fényelnyelést mutatnak a látható hullámhossztartományban, de megfelelően megválasztott komplexképzővel, pl. szalicilát ionnal, színessé tehetőek. Az ismeretlen oldat koncentrációjának pontos meghatározásához először mindig ki kell választani egy olyan hullámhosszat, amelyen a mintának értékelhető fényelnyelése van. Ezt a hullámhosszat általában úgy választjuk meg, hogy az a célmolekula spektrumának valamelyik *abszorpciós maximumában* legyen. Ezt követően egy kalibráló oldatsorozat (ennek egyes tagjai pontosan ismert koncentrációban tartalmazzák a mérendő vegyületet) segítségével meghatározzuk az abszorbancia

koncentrációfüggését. Ennek eredményeként előáll a kalibrációs görbe, amely alakja egyenes, ameddig a rendszer követi a Lambert-Beer törvényt. Ezt követően az analizálandó oldat mérését teljesen azonos módon elvégezzük, majd a kalibrációs görbéről (egyenesről) egyszerűen leolvasható az ismeretlen oldat koncentrációja. Az eljárás pontossága numerikus módszerek számítógépes alkalmazásával (lineáris regresszió) nagymértékben növelhető. A meghatározás pontosságát csökkenti, ha a kalibráló- és mintaoldatok háttérabszorbanciája jelentősen eltér, vagy mátrixhatás lép fel. Ilyen esetekben a standard addíciós módszert alkalmazhatjuk.

A szalicilsav ($\text{C}_6\text{H}_4\text{OHCOOH}$, $M_r = 138,1$ g/mol) a Fe^{3+} ionokkal a pH-tól és a komponensek arányától függően különböző összetételű komplexeket képez. Fe(III) ionok feleslegében például kizárólag egy ibolyaszínű FeL^+ részecske lesz jelen az oldatban, aminek a 400 – 600 nm tartományban van elnyelési maximuma. Ebben a hullámhossztartományban sem a $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ aquoionnak, sem a szalicilsavnak nincs jelentős fényelnyelése. Az általunk használt körülmények között az abszorpciós spektrum maximumán mért fényelnyelés 5-80 mg/dm³ szalicilsav koncentrációtartományban követi a Lambert-Beer törvényt. A Fe(III) és a szalicilsav közötti reakció nem pillanatszerű, emiatt a reagensek elegyítését követően legalább 15 percig várni kell, hogy az oldat színe állandósuljon (ezt követően az mintegy 4 órán át nem változik). A szalicilsav vízben kevésbé oldódik, ezért a szalicilsav törzsoldatot 1:10 arányú etanol – víz elegyben készítjük el. A tapasztalat szerint az ilyen mértékű oldószercsere a képződő komplex abszorpciós spektrumát nem befolyásolja.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

1,00 mg/cm³ koncentrációjú standard szalicilsav oldat 1:10 MeOH-H₂O elegyben
kb. 1 m/v%-os FeCl₃ oldat (sósavra nézve 0,1 M oldat)
desztillált víz

11 db 100,00 cm³-es mérőlombik (a kalibráló oldatsorozathoz és az ismeretlenhez)
1 db 10 cm³-es osztott pipetta (a kalibráló oldatsorozat készítéséhez)
1 db 20,00 cm³-es hasas pipetta (az ismeretlen oldat kiméréséhez)
1 db 5 cm³-es hasas pipetta (a FeCl₃ reagens kiméréséhez)
10 db összemért, 1 cm-es műanyag küvettea küvettatartóban elhelyezve
3 db 50 cm³-es főzőpohár (a pipettázás segítésére)
1 db üvegedény (a küvetteák öblítéséhez)
1 db pipettázó labda
1 db üvegtölcsér
papírtörölő

JENWAY 6105 vagy Spektromom 195D típusú UV-Vis spektrofotométer

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

Előkészítés. Először kapcsoljuk be a spektrofotométert a műszer hátulján található főkapcsolóval, mert a spektrofotométerek fényforrásának bemelegedéséhez általában 30 percre van szükség (a Spektromom 195D esetében mind a „**Mains**”, mind az „**Operation**” kapcsolókat be kell kapcsolni a műszer oldalán). A pontosan 1 mg/cm^3 koncentrációjú standard szalicilsav oldatból $100,00 \text{ cm}^3$ -es mérőlombikokba osztott pipettával olyan térfogatokat mérünk be, hogy szalicilsavra $0,00\text{--}0,07 \text{ mg/cm}^3$ koncentrációtartományban egy hat tagból álló kalibráló oldatsorozatot kapjunk. A lombikokba kb. 50 cm^3 desztillált vizet töltünk, majd az oldatok mindegyikéhez mérőhengerrel kb. 5 cm^3 $1 \text{ m/v\%-os FeCl}_3$ oldatot adunk. Ezután a lombikokat desztillált vízzel jelre töltjük, alaposan összerázzuk. A kiadott ismeretlen szalicilsavtartalmú oldatot kvantitatíven bemossuk egy $100,00 \text{ cm}^3$ -es mérőlombikba, majd desztillált vízzel jelre töltjük, alaposan homogenizáljuk. Ebből a törzsoldatból mérjük be 20 cm^3 -es részleteket hasas pipettával három $100,00 \text{ cm}^3$ -es mérőlombikba, és kezeljük azokat a kalibráló oldatsorozatnál leírtak szerint.

A komplex abszorpciós spektrumának felvétele (csak a Jenway berendezéssel). A mérési üzemmód kiválasztására szolgáló „**MODE**” kapcsolóval állítsuk a berendezést „**ABS**” üzemmódra. Ekkor a kijelzőn a fényútban levő oldat abszorbanciája fog megjelenni. Töltsünk meg egy küvettát desztillált vízzel (vakoldat), egy másikat pedig egy közepes koncentrációjú szalicilát kalibráló oldattal, és helyezzük a küvettákat a küvettatartóba. Zárjuk a küvettatartó fedelét. A recés élű tárcsa kattánástól kattanásig való forgatásával mindig a kívánt küvetta helyezhető a fényútba. Fordítsuk a desztillált vizes küvettát a fényútba, és állítsuk a hullámhosszat 400 nm -re. Nyomjuk meg a „**CALIBRATE**” gombot. A kijelzőn $0,000$ abszorbancia fog megjelenni, és ezzel egyrészt meghatároztuk az adott hullámhosszhoz tartozó I_0 értéket, másrészt (technikailag) a háttér abszorbanciát nullára állítottuk be az adott hullámhosszon. Fordítsuk a szalicilát tartalmú küvettát a fényútba, és jegyezzük fel a kijelzett abszorbancia értéket, ez természetesen már a szalicilátoldat háttérkorrigált abszorbanciája. Állítsuk a mérési hullámhosszat 410 nm -re, a vakoldatot tartalmazó küvettával a fényútban ismét korrigáljunk a háttérre (a „**CALIBRATE**” gomb megnyomásával) majd ismét mérjük meg a szalicilátoldat abszorbanciáját. Folytassuk a méréseket, a hullámhosszat 10 nm -enként változtatva 600 nm -ig. Ábrázoljuk a háttérkorrigált abszorbanciát a hullámhossz függvényében, és válasszuk ki az abszorpciós maximum helyét. Ha az időbe belefér, a gyakorlatvezető segítségével vegyük fel a komplex spektrumát a teljes látható tartományban a laboratóriumban található pásztázó rendszerű spektrofotométerrel is.

Ismeretlen szalicilátkoncentráció meghatározása a Jenway berendezéssel. A hullámhosszbeállítóval állítsuk be a mérési hullámhosszat a korábban meghatározott abszorpciós maximumra és a továbbiakban ne változtassunk a hullámhosszon. Helyezzük el a kalibráló ill. ismeretlen oldatokat tartalmazó küvettákat a küvettatartóban. Először a vak oldattal a fényútban a „**CALIBRATE**” gomb megnyomásával végezzük el a háttérkorrekciót. Ezt követően mérjük meg rendre a kalibráló oldatok, majd végül a három ismeretlen oldat abszorbanciáját. Ezt a komplett mérési sorozatot még kétszer ismételjük meg, minden sorozat

kezdeten elvégezve a háttérkorrekciót. Az egyes kalibráló sorozatokra kapott abszorbanciaértékeket ábrázoljuk a szalicilátkoncentráció függvényében méréssorozatonként külön-külön, majd olvassuk le a kalibráló egyenesről az ismeretlen koncentrációját. Ez összesen 3×3 adatot fog eredményezni, amelyet átlagolunk.

A Spektromom 195D típusú műszer kezelése. A készülék küvettaterének fedelét nyissuk fel (ennek a fedélnek a nyitott állásában a fényérzékelőt sötételő védőburkolat záródik), ezt a fedelet a mérések szünetében célszerű nyitva tartani. A lámpakiválasztó kar (a készülék küvettatér felőli oldalán található „**LAMPS**” felirattal) betolt helyzetében a látható, kihúzott helyzetében az ultraibolya tartományban működő lámpa működik. A lámpák működését az előlapon a „**VIS**” vagy „**UV**” jelzőizzók igazolják vissza (az utóbbi kb. 1 perc késleltetéssel). A gyakorlat során a látható fénytartományban fog mérni. A „**WAVELENGTH**” feliratú hullámhossz állító gomb forgatásával állítjuk be a mérés 530 nm hullámhosszát. A mérésmód választó gombot a „**T%**” állásba forgatjuk. A beállított hullámhossznak megfelelő fotocellát is ki kell választanunk: a látható tartományban érzékeny fotocellát a „**DETECTORS**” feliratú kar betolásával választhatjuk ki. Ezután a küvettafedél nyitott állása mellett a „**DARK CURRENT**” gomb szabályozásával a kijelzőt nulla értékre állítjuk, amivel kikompenzáljuk a sötétáramot.

A küvettatartót a mérendő oldatokat tartalmazó küvettákkal a küvettatérbe helyezzük. Megfigyeljük, hogy melyik (küvetta váltó tárcsa) állásnál lesz a fényútban az ún. összehasonlító („vak”) oldatot tartalmazó küvetta. Az összehasonlító oldatot fényútba állítjuk és lecsukjuk a küvettaház fedelét. Ekkor a küvettán átjutó fény a fotocellára kerül. A fénynyaláb szélességét az átengedő rés állításával szabályozhatjuk, azaz a „**SLIT**” jelű gombot óvatosan elforgatjuk. Igyekszünk olyan résszélességet beállítani, amelynél a kijelző 100,0-as transzmittanciát mutat. A „**100T% fine**” gombbal finomszabályzás is lehetséges. A „**100T% fine**” gombot célszerű középső állásban vagy annak közelében tartani. Miután beállítottuk a 100%-os transzmittanciát, a küvettafedelelet továbbra is zárva tartva, a mérendő küvettát juttatjuk a fényútba és leolvassuk a kijelzőn megjelenő transzmittancia értéket, amelyből az abszorbancia kiszámítható. Az egyes mérések között célszerű a sötétáram és a 100%-os transzmittancia értéket ellenőrizni, szükség esetén újból beállítani, hogy a készülék elektromos állapotának, melegedésének változása minél kisebb hibát okozzon. Az elvégzendő mérési feladatok megegyeznek a másik műszerrel kapcsolatban leírtakkal, kivéve, hogy a Spektromom készülék felépítéséből adódóan a spektrum felvételére nem alkalmas.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- A Fe(III)-szalicilátó komplex kísérletileg meghatározott abszorpciós spektruma
- A kalibrációs függvények milliméterpapíron ábrázolva
- Az ismeretlen szalicilsav törzsoldat koncentrációja mg/dm^3 és mol/dm^3 egységekben és a mért eredmény szórása
- A komplex moláris abszorbanciája az abszorpciós maximum helyén

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mi az abszorbanca és a transzmittancia definíciója, és mi a kettő közötti összefüggés?
2. Ismertesse a Lambert-Beer törvényt és nevezze meg a benne szereplő mennyiségeket és dimenziójukat!
3. Melyek a Lambert-Beer törvény érvényességének határai, soroljon fel eseteket, amikor a törvénytől eltérések lehetnek!
4. Definiálja az abszorpciós spektrum, az abszorpciós sáv és az abszorpciós maximum fogalmát!
5. Melyek az abszorpciós spektrofotométerek legfontosabb részei és a műszeres abszorbanca meghatározás legfontosabb lépései?
6. Mi a háttérkorrekció, miért van rá szükség, hogyan történik?
7. Milyen abszorbanca tartományban mér optimálisan egy spektrofotométer és miért?
8. Ismertesse a szalicilsav spektrofotometriás meghatározásának alapelveit!
9. Kálium-dikromát oldat moláris abszorbanciája 410 nm-en $1100 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
Oldatunk $1,00 \text{ dm}^3$ -ben 0,0230 gramm kálium-dikromátot tartalmaz. A beérkező fény hány százalékát nyeli el az oldat 1,7 cm vastag rétege?
(a $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ móltömege 294,2 gramm/mol; a helyes megoldás: 28,5%)
10. Adott egy gyenge sav 0,01 M oldata. Az oldat fényelnyelése a sav protonált formájára jellemző hullámhosszon 0,015. Becsüljük meg, hogy mekkora a K_d és a pH!
($\epsilon = 1,7 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; $l = 1 \text{ cm}$; a helyes megoldás: $K_d \approx 1,57 \cdot 10^{-4}$; $\text{pH} \approx 2,93$)

LÁNGFOTOMETRIÁS MÉRÉSEK

A GYAKORLAT CÉLJA: A lángfotometriás műszer tanulmányozása, a módszer megismerése és alkalmazása nátrium meghatározására vizes közegű oldatmintákban.

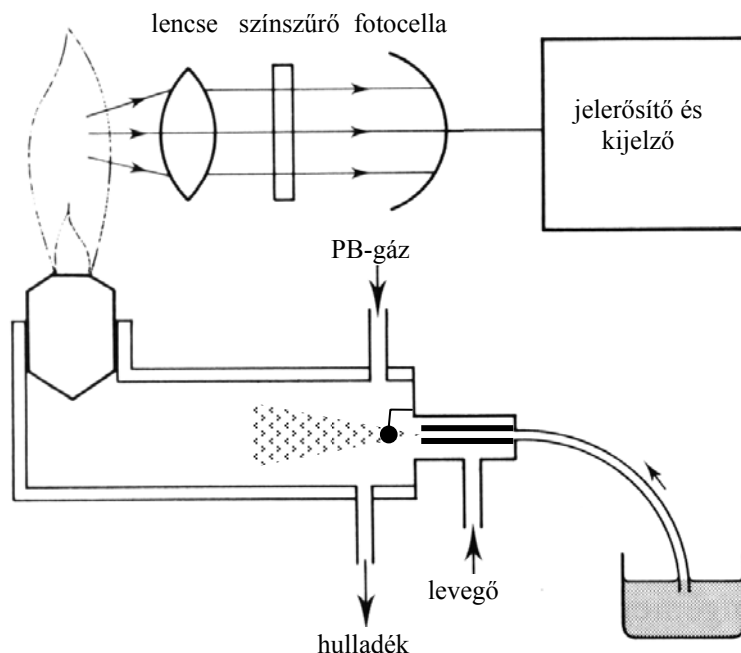
A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE ÉS A MŰSZER FELÉPÍTÉSE

A lángfotometria az atomspektrometriás módszerek közé tartozik. Az *atomspektrometria* olyan módszereket foglal magában, amelyek a minták elemi összetételének meghatározására alkalmasak. Az atomspektrometriás meghatározás elve mindig az, hogy a mintát egy alkalmasan nagy hőmérsékletű atomforrásba (láng, plazma, elektromos kemence vagy ív, stb.) juttatjuk, ahol az termikusan disszociálódik, atomizálódik, majd a minta elemei alkotta „atomfelhő” szelektív spektroszkópai tulajdonságait (emisszió, abszorpció, fluoreszcencia) vizsgáljuk. A lángfotometria atomemissziós módszer, vagyis alkalmazásakor az atomforrás hőmérsékletén termikusan gerjesztődő atomok emisszióját mérjük. Az adott elem atomjaira jellemző hullámhosszúson kibocsátott fény intenzitása az elem mintabeli koncentrációjával arányos, így a detektorjel kalibrációja (mérőgörbe felvétele) révén szelektív mennyiségi meghatározás végezhető. Igen fontos megjegyezni, hogy az atomspektrometria eljárásai önállóan mindig az adott elem összes mintabeli koncentrációjának meghatározását teszik lehetővé, és nem pedig a szabad ionkoncentrációt!

A *lángfotométer* a legegyszerűbb felépítésű, alkálifémek és alkáliföldfémek mérésére kialakított atomemissziós spektrométer. Az alkálifém atomok könnyen, már viszonylag alacsony hőmérsékleten atomizálhatók és gerjeszthetők, emissziós spektrumuk egyszerű felépítésű, főleg 400 nm-nél nagyobb hullámhosszú vonalakkal áll (emlékezzünk csak ezen fémek jellegzetes lángfestésére). Ennek köszönhetően a műszer igen egyszerű felépítésű (lásd **1. ábra**) és olcsó. Az atom- és sugárforrás egy kisméretű, hengeres alakú égőfejben égő, viszonylag kis hőmérsékletű (mintegy 2000 K) propán/bután-levegő gázeleggyel működő láng. A propán/bután gázt általában egy háztartási PB gázpalack, a sűrített levegőt pedig egy légkompresszor szolgáltatja. A mérendő minták halmazállapota legtöbbször folyadék, ezért a mintaoldatokat egy *koncentrikus porlasztó* segítségével aeroszollá konvertálva juttatjuk be a lángba. Ez a porlasztó — amint azt neve is mutatja — két koncentrikusan elhelyezkedő (általában saválló acél) kapillárisból áll. A belső, kis furatméretű és a külső csőhöz képest a

készülékbe kevésbé benyúló cső összeköttetésben van a mintaoldattal egy vékony, hajlékony műanyagcsövön keresztül. A két cső között a légkompresszorból származó sűrített levegő áramlik, ami a bekövetkező nyomáscsökkenés miatt egyfelől szívóhatást kelt (ez szívja fel a mintaoldatot), másrészt cseppekre szaggatja az oldatot. A cseppeket azután a kiáramló levegő a lángfotométerben egy ütközőgömbre fújja, ami a cseppek további aprózódását okozza. Mivel a nagyobb oldatcseppek az ún. *porlasztókamra* alján gyűlnek össze, így a lángba végül csak az apró cseppekből álló aeroszol jut be.

A láng hőmérséklete elegendő ahhoz, hogy a mintaoldatban található alkálifém vegyületeket hatékonyan atomizálja és ezeket az atomokat gerjessze, a mintából származó többi atom atomizációja és gerjesztődése azonban csak kis mértékben következik be. Mivel a többi elem emissziós vonalai amúgy is inkább az UV tartományban jelentkeznének, így a lehető legegyszerűbb felépítésű optikai rendszer, egy *színszűrő* is megfelelő a mérendő elem emissziós vonalának kiválasztásához a láng spektrumából (természetesen mindig a mérendő elemnek megfelelő színszűrőt kell használnunk). A színszűrőn átjutott, a mérendő elem mintabeli koncentrációjával arányos intenzitású fényt egy optikai lencse egy elektromos *fotocellára* fókuszálja, amely megméri annak intenzitását – az ezzel arányos elektromos jel látható a műszer kijelzőjén. A láng saját (mintaoldattól független) fénnel is rendelkezik; az ebből származó fényintenzitást úgy vesszük korrekcióba, hogy az elektronikus detektor jelét a kalibráció kezdetekor a “vakoldat” porlasztásakor nullára állítjuk.



1. ábra. Egy lángfotométer vázlatos felépítése

A lángfotométer hasznos mérési tartománya tipikusan 0.1-50 mg/L (a mért elemtől nagymértékben függ), a mérés precizitása 1-3% körüli és elsősorban a Na, K, Li, Cs, Rb, Sr elemek meghatározására alkalmas, de kisebb érzékenységgel például a Ca, Ba elemek mérése

is elvégezhető. Ezen elemek a természetben és az élő szervezetekben viszonylag magas, több tíz vagy több száz ppm koncentrációban fordulnak elő, ezért a lángfotométer alkalmazása igen elterjedt közepes pontosság-igényű, rutin mérések céljaira (pl. klinikai, biológiai vagy vízvizsgálati laboratóriumok). A meghatározást *spektrális zavaró hatás* (ez a spektrumvonalak átlapolódásából származhatna) kevéssé akadályozza, a mérendőn kívül a mintában nagy koncentrációban jelenlévő egyéb alkálifémek azonban számottevő, jellegzetes *ionizációs zavaró hatást* fejtenek ki. Ez a zavaró hatás az alkálifémek könnyű ionizálhatóságára vezethető vissza: az alkálifém mennyiség egy része a lángban mindig ionizált állapotban van. Egy nem mérendő, de a mintában nagy koncentrációban jelenlévő alkálifém ionizálódása révén jelentős elektronkoncentráció jön létre a lángban, amely az ionizációs egyensúlyok hatásán keresztül a mérendő elem ionizációját visszaszorítja. Mivel lángfotometriában mindig az alkálifémek és alkáliföldfémek atomvonalain történik a meghatározás, mindez jelentős pozitív hibát okozhat a meghatározás eredményében. A lehetséges megoldás az, hogy ún. *ionizációs pufferként* igen nagy (pl. 1 g/L), azonos koncentrációban egy másik könnyen ionizálható elemet (pl. nátrium mérésekor káliumot és fordítva) juttatunk minden mérendő oldatba (a kalibráló- és mintaoldatokba egyaránt), így kikényszerítve, hogy a mérendő elem lángbeli atomkoncentrációja a lehető legkisebb mértékben változzon a mintabeli egyéb komponensek hatására.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

100 mg/L Na tartalmú oldat (standard)

5 g/L K tartalmú oldat

desztillált víz

1 db 5 cm³-es osztott pipetta (a mintaoldatok hígításához)

1 db 10 cm³-es osztott pipetta (a kalibráló oldatok elkészítéséhez)

10 db 100 cm³-es mérőlombik (a kalibráló sorozathoz és a mérendő mintákhoz)

1 db 3 cm³-es osztott műanyag transzfer pipetta vagy kis mérőhenger

3 db 100 cm³-es főzőpohár (a Na ill. az ismeretlen törzsoldathoz a pipettázás segítségével)

1 db 250 cm³-es főzőpohár vagy Erlenmeyer-lombik (a desztillált víz vakoldat tárolásához)

1 db pipettázó labda

1 db üvegtölcsér

papírtörő

JENWAY PFP-7 típusú lángfotométer Na színszűrővel vagy egy UNICAM 919AA típusú lángatomemissziós spektrométer (attól függően, hogy melyik áll rendelkezésre)

A JENWAY műszer üzembehelyezése. A műszer előlapján a „**Power**” főkapcsoló (amely egyúttal a légkompresszort is indítja), „**Fuel**” forgatógomb (az égést tápláló PB gáz mennyiségét szabályozza), „**Ignition**” gyújtás-pillanatkapcsoló, „**Blank**” forgatógomb (ez a gomb a kalibrációs egyenes tengelymetszetét szabályozza), „**Sensitivity coarse/fine**” forgatógombok (ezek a kalibrációs egyenes meredekségét nagy lépésekben illetve finoman szabályozzák), a „**Filter select**” választókapcsoló (ezzel választjuk ki a méréshez használandó színszűrőt) és a 3 és fél számjegyes (legfeljebb 1999 intenzitásértéket megjeleníteni képes) digitális kijelző látható. A készülék üzembehelyezéséhez mindig kérjük a gyakorlatvezető segítségét! Az üzembehelyezéshez először a főkapcsolót kapcsoljuk be, és tegyünk bőséges mennyiségű friss desztillált vizet abba a főzőpohárba, amelybe a mintafelszívó kapilláris merül. Ellenőrizzük, hogy a készülék mögött található szifonból a hulladékot elvezető műanyagcső akadálytalanul elvezeti a porlasztási hulladék-oldatot az erre a célra szolgáló üvegpalackba a műszer alatt. Ezt követően kapcsoljuk be a vegyi fülke elszívómotorját, nyissuk ki a PB gázpalack nyomáscsökkentőjének szelepét, a „**Fuel**” gombbal állítsunk be PB gázban bő gázkeveréket, és várakozás nélkül nyomjuk meg az „**Ignition**” szikráztató kapcsolót; ezt tartjuk mindaddig lenyomva, amíg a kijelző sarkában az „**FLM**” jelzés meg nem jelenik. Ekkor fényes, sárga színnel lobogó lángot kell látnunk a lángkürtő ablakán keresztül (*Figyelem: a kürtőből távozó gázok értelemszerűen igen melegek, ezért ne hajoljunk a kürtő fölé, és tartsunk távol a műszertől minden tűzveszélyes anyagot!*). Ezek után a „**Fuel**” gomb segítségével szabályozzuk a láng összetételét közel sztöchiometrikusra, vagyis tekerjük visszafelé a gombot, amíg azt nem látjuk, hogy a láng halvány, kékes színű (ha a láng esetleg kialudna, kezdjük a gyújtási procedúrát várakozás nélkül az elejéről). A „**Filter select**” váltóval válasszuk ki a „**Na**” színszűrőt. Az eképpen üzembehelyezett készüléket hagyjunk bemelegedni 15-20 percig – ezalatt elkészíthetjük a méréshez szükséges oldatokat.

A UNICAM spektrométer üzembehelyezése. Először a „**Power**” kapcsoló segítségével áram alá helyezzük a spektrométert. Ellenőrizze, hogy a műszer frontoldali nyomógombjai a következő állásban vannak: „**AAS/AES**” benyomva (AES), „**D₂ lamp**” kiengedve (OFF), „**Energy**” kiengedve (Sample), „**B/C**” kiengedve (nincs háttérkorrekció), „**Damping**” benyomva (kijelzés gyakorisága 1 s). Gyakorlatvezetőjétől segítséget kérve forgassa el az égőfejet úgy, hogy az az optikai tengelyre merőlegesen álljon; ehhez le kell venniük a lángtakaró készülékfedelet is, amelyet a beállítás után ne felejtssenek el visszahelyezni. Ezután kapcsoljuk be az égéstermékeket eltávolító elszívómotort, majd a légkompresszort (fehér illetve barna színű kapcsolós konnektordugók a műszer háta mögött). A sűrített levegő nyomásának kb. 200 kPa-nak (2 bar) kell lennie az ellenőrző műszeren (bal oldalon, hátul találja), esetleg a kondenzvíz leengedése is szükséges lehet — ehhez is kérjen segítséget. Kinyitja az acetilén palackot, és azon kb. 100 kPa nyomást állít be. A spektrométer „**Check**” gombjának lenyomásával ellenőrizzük, hogy gáznyomások valóban megfelelőek. A golyós áramlásmérők (rotaméterek) a következő értékeket kell, hogy mutassák: „**Fuel**”: kb.

25 L/min, „**Support gas**”: kb. 30 L/min, „**Aux support**”: kb. 30-40 L/min. Szükség esetén a „**Check**” gomb lenyomva tartása mellett ezek az értékek beállítandók a rotaméterek alatti forgatógombokkal. Ha ez rendben van, akkor az „**Ignite**” gomb megnyomásával szikrát képzünk, ami belobbantja a lángot. Lehetséges, hogy a láng elsőre nem gyullad be; ilyenkor kíséreljük meg újból a begyújtást. A sztöchiometrikus láng színe kék, ha az égőfej tiszta, akkor egyenletes lángmagnak kell látszódnia. A vizsgálandó oldatot a porlasztó kapillárisán keresztül juttatjuk az égőbe; ha éppen nem mérünk, desztillált vizet akkor is porlasztassunk be folyamatosan. Ezek után be kell állítania a spektrométer monokromátorát a mérési hullámhosszra; amihez egy Na-tartalmú oldatot kell beporlasztania (ez lehet az egyik kalibráló oldat is). Válassza ki az 1 nm résszélességet („**Bandpass**”), majd a hullámhossz forgatógomb („**Wavelength**”) segítségével a monokromátort állítsa a mérés hullámhosszára (Na 589,9 nm). A mérési hullámhossz pontos beállítását egy „**Energy**” feliratú LED sor segíti a műszer előlapjának jobb felső sarkában: a hullámhossz finomhangolását úgy végezze, hogy ezen a lehető legnagyobb jelet kapja. Ha szükséges, a jel erősítését a „**Gain**” forgatógombbal szabályozhatja a kijelzőn látható tartományba. A későbbi mérések során a mért fényintenzitás itt a LED skála alatti numerikus kijelzőn olvasható le. A hullámhossz beállító gombot reteszeltethetjük a finomhangolás után egy szorítócsavarral a forgatógomb mellett.

A kiadott ismeretlen oldat Na tartalmának meghatározása. Az ismeretlen Na tartalmú oldatot tartalmazó ampulla tartalmát kvantitatíven bemossuk az erre a célra megjelölt 100 cm³-es mérőlombikba; ennek desztillált vízzel való jelre töltésével és alapos összerázásával készítjük el az ismeretlen törzsoldatát. Ebből a törzsoldatból az osztott 5 cm³-es pipetta felhasználásával akkora részeket mérünk be három másik 100 cm³-es mérőlombikba, hogy azok desztillált vízzel való jelre töltése eredményeképpen negyvenszeresen hígított mintaoldatokhoz jussunk – ezek lesznek a mérendő mintaoldatok (három „párhuzamos” minta). További öt, 100 cm³-es mérőlombikban a kalibráló oldatsorozatot is elkészítjük a Na standard törzsoldatból, oly módon, hogy az elkészült oldatok koncentrációja egyenletesen lefedje az 1-10 ppm tartományt (pl. 2-4-6-8-10 mg/L). Ezekkel az oldatokkal direkt (klasszikus) kalibrációt fogunk végrehajtani. Az oldatok elkészítésére használjuk a 10 cm³-es osztott pipettát és az erre megjelölt tiszta 100 cm³-es főzőpoharat. A kalibráló oldatsorozat első tagja (0 mg/L, „vakoldat”) az a desztillált víz lesz, amelyet egy 250 cm³-es főzőpohárban a műszer bekapcsolása során frissen a porlasztó „alá” készítettünk.

A mérés menete a JENWAY műszerrel. Először is be kell állítanunk a desztillált vízre a „**Blank**” forgatógombbal a nulla kijelzést: ekkor lényegében vakérték-korrekciót hajtunk végre, aminek hatására a majdani kalibrációs egyenes a nulla pontból fog kiindulni. Megjegyzendő, hogy az oldatok váltásakor nem szükséges desztilláltvízes öblítést alkalmazni, azonban mindig várjuk meg a leolvasással, amíg a kijelzett érték megállapodik (ez általában 10-30 másodpercet igényel). Ezt követően a műszer érzékenységét állítjuk be, alapvetően abból a célból, hogy még a legtöményebb kalibráló oldatra kapott fényintenzitás értéke is a kijelezhető tartományba essen (természetesen jól mérhető nagyságú intenzitásadatokat eredményező érzékenység használata előnyös). Ezt a beállítást úgy végezzük el, hogy a legtöményebb kalibráló oldatot beporlasztva a „**Sensitivity coarse/fine**” gombokat addig

forгатjuk, amíg a kijelzőn kb. 1500-1800 értéket nem látunk. Ezután desztillált víz újbóli beporlasztásával ellenőrizzük, hogy a vakérték még mindig nulla; ha nem így volna, akkor azt újból beállítjuk a „**Blank**” gombbal. Ezzel a műszer mérésre kész; a növekvő koncentráció sorrendjében ekkor rendre beporlaszthatjuk a kalibráló oldatokat és a mért intenzitásokat feljegyezzük. Ezt követően a három mintaoldatot is megmérjük. Ezen mérési sorozat (kalibráció és mintaoldatok mérése) végetérése után végezzünk el még legalább egy, de inkább két további teljes mérési sorozatot.

A mérés menete a UNICAM műszerrel. Először is be kell állítanunk a desztillált vízre a nulla kijelzést: ekkor lényegében vakérték-korrekcíót hajтunk végre, aminek hatására a majdani kalibrációs egyenes a nulla pontból fog kiindulni. Ehhez desztillált víz beporlasztása mellett mindössze le kell nyomnia pár másodpercig az „**Autozero**” nyomógombot. Megjegyzendő, hogy az oldatok váltásakor nem szükséges desztilláltvízes öblítést alkalmazni, azonban mindig várjuk meg a leolvasással, amíg a kijelzett érték megállapodik (ez általában 10-20 másodpercet igényel). Ezt követően a műszer érzékenységet állítsuk be, alapvetően abból a célból, hogy még a legtöményebb kalibráló oldatra kapott fényintenzitás értéke is a kijelezhető tartományba essen (természetesen jól mérhető nagyságú intenzitásadatokat eredményező érzékenység használata előnyös). Ezt a beállítást úgy végezzük el, hogy a legtöményebb kalibráló oldatot beporlasztva a „**Gain**” gombot addig forгатjuk, amíg a LED soros kijelzőn a kék tartományba eső értéket nem érünk el. Ezután desztillált víz újbóli beporlasztásával ellenőrizzük, hogy a vakérték még mindig nulla; ha nem így volna, akkor azt újból beállítjuk az „**Autozero**” gombbal. Ezzel a műszer mérésre kész; a növekvő koncentráció sorrendjében ekkor rendre beporlaszthatjuk a kalibráló oldatokat és a mért intenzitásokat feljegyezzük. Ezt követően a három mintaoldatot is megmérjük. Ezen mérési sorozat (kalibráció és mintaoldatok mérése) véget érése után végezzünk el még legalább egy, de inkább két további teljes mérési sorozatot.

Az ionizációs zavaró hatás tanulmányozása és a kimutatási határ becslése. A fenti mérések befejezése után végezzünk el egy további kísérletet is. Ehhez az eddig üresen maradt utolsó 100 cm³-es mérőlombikba is mérjük be a minta törzsoldat megfelelő részletét, úgy mint azt korábban tettük a negyvenszeres hígításhoz. Ez alkalommal azonban a desztillált vizes jelre töltés előtt adjunk 6-9 cm³ K-tartalmú standard oldatot is a lombik tartalmához. Ezután ennek a jelre töltött és összerázott lombiknak a tartalmát is porlasszuk be a lángfotométerbe a szokásos módon. A mért intenzitásadatot jegyezzük fel, majd hasonlítsuk össze a korábban, kálium távollétében mért intenzitással (emlékezzünk, hogy az oldat Na-tartalma nem változott!). A kimutatási határ becsléséhez szükség van a vakoldat (praktikusan a leghígabb Na-tartalmú kalibráló oldat) által produkált jel szórására, ezért ne feledje el azt is megmérni. Ehhez a kérdéses oldatot beporlasztva (a kapilláris kiemelésével/bemerítésével) mérje meg 5-7 alkalommal a jelet és jegyezze azt fel. Mivel ezután további mérésre nem lesz már szükség, ezért a műszert öblítsük át alaposan desztillált víz 2-3 perces porlasztásával, majd a műszert a gyakorlatvezető segítségével kapcsoljuk ki (a kikapcsolás során először a gázpalackot kell elzárni, majd a láng elalvása után kapcsolhatjuk ki a lángfotométert a főkapcsolójával).

A mérési adatok kiértékelése. Az ismeretlen Na-tartalmú oldat koncentrációjának meghatározására korábban mért adatok kiértékelése milliméterpapíron történik: egy-egy sorozat hat kalibrációs oldatára kapott intenzitásokat a koncentráció (mg/L vagy ppm) függvényében ábrázoljuk. Ideális esetben a mért pontokra könnyen egyenes illeszthető vonalzóval; ha mégis lenne görbülete a grafikonnak, akkor görbe vonalzókat kell használni a kihúzáshoz. Az ily módon felvett kalibrációs egyenesről/görbéről az ismeretlen mintaoldatokra mért intenzitásadatok visszavetítésével leolvasható azok koncentrációja – ezek átlaga adja meg az ezen mérési sorozatból kapott eredményt. A három sorozatból kapott eredmények átlaga lesz a meghatározás végeredménye (vegyük tekintetbe a mintaoldatok hígítását is), amely megadása mellett a precizitás is kiszámítandó. A három grafikon adatainak felhasználásával és a vonatkozó definíciók ismeretében határozzuk meg a módszer közelítő kimutatási határát is (elegendő egyetlen grafikon alapján kiszámítani).

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Az összes mért adatot tartalmazó részletes táblázat, valamint a felvett két vagy három kalibrációs grafikon milliméterpapíron ábrázolva
- Az ismeretlen oldat Na koncentrációja mg/L egységekben és annak precizitása
- A mérési módszert jellemző kimutatási határ közelítő értéke
- Az ionizációs zavaró hatással kapcsolatos megfigyelések és értelmezésük. Becsülje meg azt is, hogy milyen nagyságú és előjelű hibát okozott a kísérletben használt kálium koncentráció!

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

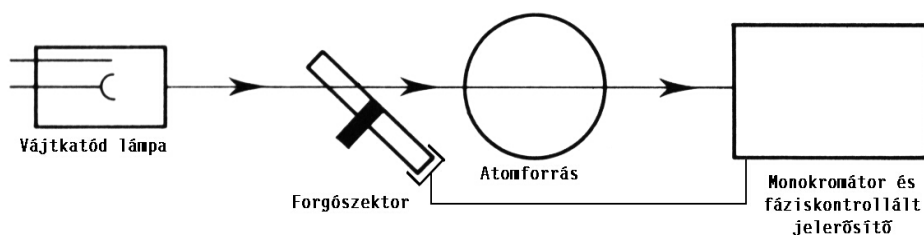
1. Milyen anyagi komponensek meghatározását teszi lehetővé az atomspektrometria?
2. Ismertesse az emissziós atomspektrometria mérési elvét!
3. Hogyan épül fel a lángfotométer, és milyen elemek meghatározására használjuk?
4. Mit gondol, van-e valamilyen hatással a lángfotometriás meghatározás eredményére a mérendő elem mintabeli kémiai állapota (vegyülettípus, oxidációs állapot, stb.)?
5. Elképzelhetőnek tartja-e szerves közegű mintaoldatok vagy szuszpenziók mérését lángfotometriás módszerrel? Ha igen, esetleg milyen komplikációkkal kell számolni?
6. Jellemezze analitikai teljesítőképesség szempontjából a lángfotometria módszerét!
7. Mit értünk ionizációs zavaró hatás alatt és ez hogyan csökkenthető?
8. Hogyan működik a koncentrikus porlasztó?
9. Ismertesse a standard addíciós kalibrációs módszer lényegét!
10. K lángfotometriás meghatározásánál a következő fényintenzitásokat mértük: 0,0025 M oldatra 115, majd 0,0040 M oldatra 163. Számítsa ki a módszer érzékenységét! (a helyes megoldás: 32000 dm³/mol)

LÁNGATOMABSZORPCIÓS MÉRÉSEK

A GYAKORLAT CÉLJA: A lángatomabszorpciós spektrometria (FAAS) módszerének tanulmányozása és alkalmazása fémek vizes közegű mintában való meghatározására.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

A lángatomabszorpciós spektroszkópiában (AAS) a mintát nagy hőmérsékletű lángban atomizáljuk, majd az atomok vegyértékelektronjait megfelelő hullámhosszúságú fotonok segítségével gerjesztjük egy magasabb energianívóra, és az analitikai jelet az abszorpcióból származtatjuk. A Boltzmann törvény alapján kiszámítható, hogy nem túl nagy ($< 5000\text{ K}$) hőmérsékleten a szabad atomok túlnyomó többsége alapállapotban található. Ezért az atomok *abszorpciós színeképének* (ez a minta fényelnyelését ábrázolja a hullámhossz függvényében) legintenzívebb vonalai azok, amelyeknél a kiindulási energiaállapot az alapállapot (ún. *rezonanciavonalak*). Ez egyúttal azt is jelenti, hogy az atomabszorpciós színeképvonalak intenzitása a hőmérséklettől függetlenül közelítőleg állandó. Az atomabszorpciós spektrométerek vázlatos felépítését az **1. ábra** mutatja be.

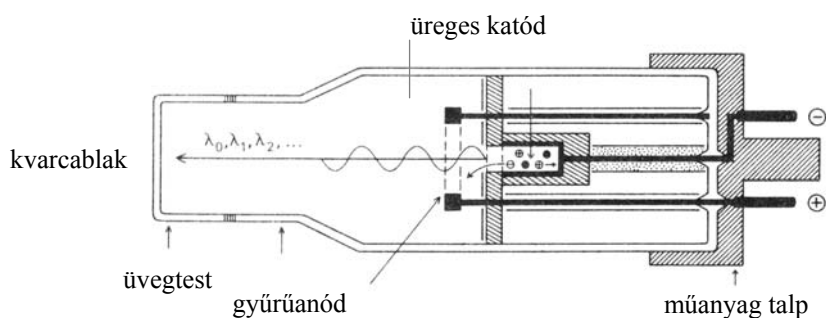


1. ábra. Az AAS spektrométerek optikai rendszerének vázlata (detektor nélkül)

Amint azt a neve is mutatja, a lángatomabszorpciós spektrométer (FAAS) atomforrása láng. Leggyakrabban acetilén/levegő vagy acetilén/dinitrogén-oxid összetételű, az optikai úttal párhuzamosan elhelyezett réségőben égő lángot alkalmazunk, amely hőmérséklete $2400\text{--}2700\text{ K}$ illetve $2900\text{--}3100\text{ K}$. A hosszú és keskeny égőfej alkalmazása azért előnyös, mert ezáltal növeljük a szabad atomok fényútban való tartózkodásának idejét (másképpen: a

Lambert-Beer törvény egyenletében az l küvetta-hosszat növeljük). Az oldatmintát porlasztó segítségével aeroszollá alakítva juttatjuk a lángba, hasonlóan a lángfotométernél már megismert eljáráshoz.

Az atomabszorpciós technika számára szükség van egy stabil, intenzív és a mérendő elemre nézve specifikus hullámhosszon sugározni képes fényforrásra; ez a *vájtkatódlámpa* (üregkatódlámpa). A vájtkatódlámpa olyan üreges katódot tartalmaz, amely anyaga az a fém, amit mérni akarunk (vagy a mérendő elem egy vegyületével van bevonva). A csökkentett nyomású nemesgázzal töltött üvegbúra alatt elhelyezkedő anódgyűrű és katód közé néhány száz voltot kapcsolnak. Az izzó katódból kilépő elektronok gerjesztik, majd ionizálják a nemesgázatomokat, amelyek pozitív töltésük miatt a katódhoz vonzódnak. A becsapódó kationok a katódból fématomokat löknek ki, amelyek az ionokkal/elektronokkal való ütközés révén gerjesztődnek és fényt emittálnak. Ez az emittált fénysugárzás a katód anyagára lesz jellemző, vagyis alkalmas arra, hogy azzal specifikusan a mérendő elem atomjait gerjesszük, abszorpciót idézzünk elő. Természetesen ez azt is jelenti, hogy minden elem atomabszorpciós méréséhez rendelkezünk kell a megfelelő vájtkatódlámpával.



2. ábra. A vájtkatódlámpa felépítése

A láng atomforrásból kilépő fény egy kisfelbontású (0,2-1 nm) monokromátoron halad keresztül, aminek feladata a mérésre kiválasztott atomabszorpciós spektrumvonal spektrumbeli környezetének átengedése (másképp: a haszontalan spektrumrészletek „kitakarása”). A fényintenzitás érzékeny mérését fotoelektron-sokszorozó detektor végzi. A monokromátor biztosította optikai szűrés feltétlenül szükséges, hiszen a láng saját színnel is (pl. kékes vagy sárgás) rendelkezik, és a minta egyéb, a lángban gerjesztődő komponenseinek zavaró spektrumvonalait/sávjait is ki kell szűrni. Fontos ugyanakkor megjegyezni, hogy ehhez a szűréshez (szelektivitáshoz) a vájtkatódlámpa is jelentősen hozzájárul, amely emissziós vonalainak szélessége a lángban megfigyelhető atomi spektrumvonalak szélességével összemérhető, mintegy 0,01-0,001 nm.

Az atomabszorpciós jel természetesen az atomforrásba belépő fény I_0 intenzitásából és a transzmittált fény I_t intenzitásából, az abszorpció definíciós képlete szerint származtható. Az atomabszorpció mérését az is nehezíti, hogy az I_t intenzitást el kell különíteni a mérendő atomok termikus gerjesztéséből származó emissziótól is (I) is. Az elkülönítésre az teremt

lehetőséget, hogy míg a folytonosan működő és mintaoldattal táplált atomforrás emissziója (I) időben állandó, addig az abszorpció jel képzéséhez fontos I_r intenzitás a vájtatódlámpa fényétől függ. Ha tehát a vájtatódlámpát szaggatottan működtetjük, akkor lehetőségünk van külön mérni az I_r+I intenzitást (lámpa bekapcsolva) és az I intenzitást (lámpa kikapcsolva). Az **1. ábra** ennek a rendszernek a működését mutatja be sematikusán, ahol a lámpa fényének szaggatása egy forgószelekkel, mechanikusan történik. A valóságban az AAS spektrométerek optikai rendszerének felépítése ennél még bonyolultabb, ugyanis ún. háttérkorrekciós módszereket is alkalmazni kell annak érdekében, hogy a specifikus és nem specifikus (szerves molekulák, koromszemcsék, stb. okozta) abszorpciót is el lehessen különíteni.

Az atomabszorpció módszer alapvetően *monoelemes* (egyszerre egyetlen elemet mérni képes technika), részben amiatt, hogy a vájtatódlámpát elemenként cserélnünk kell, főleg azonban azért, mert a mintákat minden alkalommal az adott elemre érvényes szűk (kb. két koncentráció nagyságrend széles) lineáris kalibrációs tartományba kell hígítanunk. A módszer kimutatási határai azonban alacsonyak, tipikusan 0,1-0,01 ppm körüliek. A mérések precizitása is kedvező, ideális esetben jobb, mint 1 rel.%. A periódusos rendszer elemeinek mintegy kétharmada meghatározható, amennyiben az ehhez szükséges megfelelő vájtatódlámpákkal rendelkezünk. A lángatomabszorpció módszer használata igen elterjedt általános elemanalitikai célokra.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

100 mg/L koncentrációjú Mg vagy Zn törzsoldatok (a gyakorlatvezető döntése alapján)
Acetilén gázpalack reduktorral (a láng táplálásához)
desztillált víz

6 db 100 cm³-es mérőlombik (a kalibráló oldatsorozat és a hígítás számára)
1 db 50 cm³-es mérőlombik (az esetleg szükséges mintahígítás számára)
1 db 10 cm³-es osztott pipetta (a kalibráló oldatsorozat készítéséhez)
2 db 50 cm³-es főzőpohár (a pipettázás segítésére)
1 db 10 cm³-es hasas pipetta (az esetleg szükséges mintahígítás számára)
1 db pipettázó labda
papírkendő

Unicam 919AA lángatomabszorpció spektrométer vájtatódlámpákkal (Mg vagy Zn)
Légkompresszor (a láng égését és a porlasztást segítő levegő biztosítására)

A spektrométer üzembehelyezése. A spektrométer és különösen a vájtkatódlámpák legalább 15 perc bemelegedési (előfűtési) időt igényelnek, ezért a gyakorlat kezdetekor a legelső teendője a gyakorlatvezető segítségével a műszer üzembehelyezése. Ehhez áram alá helyezzük a „**Power**” kapcsoló segítségével a spektrométert, továbbá a számítógépet. A vájtkatódlámpákat már a műszer belsejében megfelelően felszerelve és beállítva fogja megtalálni, ezért most feladata csak az ellenőrzés lesz. A lámpákat a spektrométer baloldalán található ajtónyílás mögött, a négypozíciós forgó rendszerű lámpatartóban találja meg — minden lámpa tápkábele egy színessel számozott foglalathoz csatlakozik. Vizsgálja meg a felszerelt lámpákon található címkefeliratokat, hogy egyrészt megállapítsa melyik pozícióban található a gyakorlata során használandó lámpa, másrészt hogy mekkora lehet annak maximális működető árama. Ehhez esetleg ki kell vennie óvatosan a lámpát a helyéről — ekkor a megfelelő pozicionálásra és központosításra ügyelve helyezze azt vissza a helyére. Ha ezzel készen van, akkor az ajtót becsukhatja, és a lámpatartót olyan helyzetbe forgatja, hogy a kívánt lámpa kerüljön a fényútba (az éppen fényútban lévő lámpa sorszáma az ajtónyíláson keresztül megfigyelhető („**Lamp position**”). Ezután a kérdéses lámpa előfűtését kezdje meg a spektrométer előlapjának bal alsó részén található „**Lamp current**” forgatógombbal; a fűtőáram szokásos értéke a maximális lámpaáram mintegy 25%-a, vagyis kb. 5 mA. Győződjön meg arról is, hogy a spektrométer porlasztójának kapillárisa friss desztillált vizet (vakoldat) tartalmazó főzőpohárba merül. Ellenőrizze, hogy a műszer frontoldali nyomógombjai a következő állásban vannak: „**AAS/AES**” kiengedve (AAS), „**D₂ lamp**” kiengedve (OFF), „**Energy**” kiengedve (Sample), „**B/C**” kiengedve (nincs háttérkorrekció), „**Damping**” kiengedve (kijelzés gyakorisága 0,1 s).

A kalibráló sor és a minták elkészítése. A kiadott sorszámozott 100 cm³-es mérőlombikokban az 10 cm³-es osztott pipetta és desztillált víz segítségével készítse el a kalibráló sort a mérendő elem törzsoldatát is felhasználva. A kalibráló sornak nagyjából egyenletesen le kell fednie az 1-10 mg/L tartományt, tehát pl. egy 2, 4, 6, 8 és 10 mg/L tagokból álló koncentrációsor megfelelő lehet (egyes érzékeny elemek, pl. Mg, esetében szükséges lehet a fenti koncentrációkat megfelelni). Ne felejtse el használni a pipettázás során a kiadott főzőpoharat és a pipettát átöblíteni a törzsoldattal. Az ismeretlen oldatot egy 100 cm³-es mérőlombikban kapja kézhez; ezt jelre kell töltenie desztillált vízzel, majd homogenizálnia. A mintaoldat további előkészítése *csak akkor* lesz szükséges, ha azt tapasztalja, hogy a mérés során annak jele a kalibrált tartományon kívül esik. Ebben az esetben a mellékelt további mérőlombikok, valamint pipetták segítségével hígítást tud készíteni a mintaoldatból igény szerint. Használja ehhez értelemszerűen az erre kapott pipettákat és extra mérőlombikokat. A mintaoldattal takarékosan bándjon, ezért most pipettázhat közvetlenül a mintalombikból — de a tiszta pipettát előzetesen öblítse át kevés mintaoldattal. A lombikokat töltsé jelre desztillált vízzel és homogenizálja alaposan.

A mérési program elkészítése. A mérés megkezdése előtt mérési programot kell készítenünk a számítógép célszoftverével. A program kezdő képernyőjén kiválasztjuk a láng

üzemmódot („**Flame system**”, vagyis F1 gomb). Ezek után a „**Define Job**” menüelemet választjuk, majd a bevisszük az ott kért adatokat. Az adatokat két részletben kéri a program: előbb általános adatokra (pl. Job name, Operator, Print results, stb.) van szüksége, majd az F8 gombbal a következő adatlapra lépve („**Define method**”) mérésspecifikus részleteket kell megadnunk. Itt az egyes mezők közötti mozgáshoz és az opciók közötti választáshoz a kurzorbillentyűket használjuk, szöveg vagy szám begépelése után nyomjunk Enter-t. A beírandó adatokat az alábbi, **1. táblázat** mutatja.

1. táblázat. A szoftver paramétereinek értékei és magyarázatuk

Analysis mode:	AAS (atomabszorpció mérési üzemmódban mérünk)
Transient:	NO (nem tranzienst jelet mérünk)
Signal:	Integrate (a jelet adott időtartamon keresztül összegzi)
Measurement time:	4 s (ennyi ideig összegezz)
No. of resamples:	3 (három párhuzamos mérést kérünk minden mintából)
Background correction:	NO (nem kérünk deutérium lámpás háttérkorrekciót)
Autosampler:	NO (nem használunk automatikus mintaváltót)
Base sample No.:	1 (a minták azonosítására használt sorszám kezdő értéke)
Std. additions:	NO (nem standard addíciós kalibrációt használunk)
Units:	mg/L (ilyen koncentráció dimenzióban dolgozunk)
No. of standards: 5	(a vakoldaton kívül ennyi kalibráló oldat lesz)
Element:	Zn vagy Mg (annak megfelelően, hogy melyiket mérjük)

A „No. of standards” sor bevitele után a program növekedő sorrendben egyesével bekéri majd a kalibráló oldatok („STD1”, stb.) koncentrációját a korábban megadott egységekben: itt ügyeljünk arra, hogy a kívánt tizedesjegy pontossággal adjuk meg az adatokat, mert a mért koncentrációk kijelzésénél is ennyi tizedesjegyet fogunk látni. Az F8 gomb megnyomására megjelenik egy üzenet, amely arra figyelmezteti, hogy el kell még végezni a mérés előtti utolsó beállításokat.

A láng begyújtása, a műszer finombeállítása. Ezeket a beállításokat csak akkor tegye meg, amikor biztosan eltelt a bemelegedés 15-20 perc ideje! Adja rá a vájtkatódlámpára az üzemi áramerősséget (a maximum kb. 75%-a, kb. 10-15 mA), válasszon ki 0,5 nm résszélességet („**Bandpass**”), majd a hullámhossz forgatógomb („**Wavelength**”) segítségével a monokromátort állítsa a mérés hullámhosszára (Zn 213,9 nm, Mg 285,2 nm). A mérési hullámhossz pontos beállítását egy „**Energy**” feliratú LED sor segíti a műszer előlapjának jobb felső sarkában: a hullámhossz finomhangolását úgy végezze, hogy ezen a lehető legnagyobb jelet kapja. Ha szükséges, a jel erősítését a „**Gain**” forgatógombbal szabályozhatja — jelnek a kék sávban, vagyis a maximum 70-90%-a közé kell esnie. A hullámhossz beállító gombot reteszeltethetjük a finomhangolás után. Most kapcsoljuk be az égéstermékeket eltávolító elszívómotort, majd a légkompresszort (fehér illetve barna színű kapcsolós konnektordugók a műszer háta mögött). A sűrített levegő nyomásának kb. 200 kPa-nak (2 bar) kell lennie az ellenőrző műszeren (ezt bal oldalon, hátul találja); esetleg a kondenzvíz leengedése is szükséges lehet — ehhez kérjen segítséget. Kinyitjuk az acetilén palackot, és azon kb. 100 kPa nyomást állít be. A spektrométer „**Check**” gombjának lenyomásával ellenőrizzük, hogy a gáznyomások valóban megfelelőek. A golyós

áramlásmérők (rotaméterek) a következő értékeket kell, hogy mutassák: „**Fuel**”: kb. 25 L/min, „**Support gas**”: kb. 30 L/min, „**Aux support**”: kb. 30-40 L/min. Szükség esetén a „**Check**” gomb lenyomva tartása mellett ezek az értékek beállítandók a rotaméterek alatti forgatógombokkal. Ha ez rendben van, akkor az „**Ignition**” gomb megnyomásával szikrát képzünk, ami belobbantja a lángot. Lehetséges, hogy a láng első próbálkozásra nem gyullad be, ekkor többször használjuk ezt a gombot. A sztöchiometrikus láng színe kék; ha az égőfej tiszta, akkor egyenletes lángmagnak kell látszódnia az égőfej teljes hosszában. A vizsgálandó oldatot a porlasztó kapillárisán keresztül juttatjuk az égőbe — ha éppen nem mérünk, desztillált vizet akkor is porlasztassunk be folyamatosan. Amennyiben szükséges lenne és erre a gyakorlatvezető is utasítást adott, akkor a műszer érzékenységét tovább növelhetjük oly módon, hogy 1) a Fuel/Support gas arányt kissé megváltoztatjuk, 2) a „**Burner height**” szabályzó segítségével a lángbeli megfigyelési magasságon állítunk abból a célból, hogy egy kalibráló oldat állandó beporlasztása mellett a maximális abszorbancia értéket érjük el.

A mérési feladat végrehajtása. A fenti beállítások elvégzése után a műszer mérőkész, megnyomhatjuk az F8 gombot. Megjegyzendő, hogy *mostantól fogva mindig az F8 gomb lépteti tovább a program végrehajtását („Run”)*. Most megjelenik a mérési képernyő, amelynek legnagyobb részét a — most még üres — kalibrációs grafikon tölti ki, a jobb felső sarokban látja a mindenkor abszorpciós jelet („**Signal**”), alatta pedig sárga színnel az üzenetet, ami jelzi, hogy éppen melyik kalibráló oldatot („**Blank**”, „**STD1**”, „**STD2**”, stb.) vagy mintát kell beadnia. Az oldatfelszívó kapillárist a megfelelő oldatba helyezése után F8 megnyomására indul a kérdéses oldat mérése — mérje most le egymás után a kért sorrendben a kalibráló oldatokat. A három párhuzamosra kapott aktuális adatokat mindig az abszorbancia kijelző alatt fogja látni (átlag, std%), a kalibrációs adatok pedig táblázatos formában a képernyő jobb alsó sarkában is láthatók. Az összes kalibrációs minta mérését követően mind a táblázat, mind a kalibrációs grafikon megtelik majd adattal. Ha a szoftver egyes kalibráló minták mérésekor az „**Excess curvature. Unacceptable calibration**” hibaüzenetet adja, akkor az azt jelenti, hogy vagy rossz sorrendben mérte a kalibráló oldatokat, vagy azokat nem pontosan a megfelelő koncentrációban készítette el (a linearitás nem teljesül a műszer által várt mértékben). Ekkor az Esc és F3 („**Recalibration**”) gombok megnyomásával újratekintheti a kalibrációt. Az F1 gomb („**End of analysis**”) befejezi a mérést és a mérési program legelejére ugrik vissza.

Sikeres kalibráció után mérje meg a mintaoldatát is (az esetleg a szükséges hígításokkal együtt). Ezek beporlasztását az „**Aspirate 1**”, „**Aspirate 2**”, stb. üzenetekkel fogja kérni a műszer. A mérési eredményeket mind jegyezze fel a füzetébe — a kalibrációs adatokat a képernyőn mindig látható táblázatban, a legutóbbi mintára mért adatokat pedig az F6 („**Display results**”) gomb megnyomására kapott táblázatban tekintheti meg. Mintaoldatának koncentrációját abból a koncentrációból számítsa ki a hígítás figyelembevételével, amely a kalibrációs tartomány közepe tájára esik (pl. nagyobb, mint 2 mg/L, de kisebb mint 8 mg/L). Ne felejtse el a leghígabb kalibrációs oldatra kapott jel 5-7 megméréssel a szórást is meghatározni, amire a kimutatási határ számításához van szüksége.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- A mért adatok részletes táblázata
- A kiadott ismeretlen oldat koncentrációja mg/L és mol/dm³ egységekben
- A meghatározás közelítő kimutatási határa mg/L egységekben

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mekkora egy tipikus atomspektrometriai vonal szélessége nanométerben?
2. Hogyan működik a vájtkatódlámpa (üregkatódlámpa)?
3. Miért kell „megszagatni” a vájtkatódlámpa fényét az AAS műszerekben?
4. Miért nevezzük monoelemes technikának az atomabszorpciós spektrometriát?
5. Miért van szükség monokromátorra az AAS műszerekben?
6. Hogyan lehetne egy láng-AAS műszert lángfotométerként használni?
7. Miért alkalmazunk hosszú és keskeny égőfejet a láng AAS spektrométerben?
8. Egy Zn tartalmú szennyvíz minta beporlasztása esetén — amely kétfázisú rendszernek tekinthető — a láng AAS módszerrel a következő koncentrációk melyikét méri: összes Zn tartalom; szabad Zn²⁺ koncentráció; vízben oldható Zn tartalom; esetleg más?
9. A króm egyféle lángatomabszorpciós meghatározásának érzékenysége 1,5 dm³/mg. Egy ezüst-kromát csapadékot (és egyéb, nem krómtartalmú anyagokat) tartalmazó oldat tisztájában 0,25 abszorbanciát mérünk, miközben az oldatba merített elsőfajú ezüst elektród potenciáljának mérése 0,601 V eredményt ad. Mekkora az ezüst-kromát csapadék oldhatósági szorzata? (A Cr móltömege: 51,99 gramm/mol; $E^{\circ}_{\text{Ag}/\text{Ag(I)}} = 0,799 \text{ V}$; a helyes megoldás: $6,38 \cdot 10^{-13}$)
10. Szennyvíz minta kadmium tartalmát határozzuk meg atomabszorpciós módszerrel, többszörös standard addíciós kalibráció alkalmazásával. A kalibrációt úgy kivitelezük, hogy az eredeti oldat négy mérőlombikban lévő 5-5 cm³-es részletéhez egyre növekvő mennyiségű kadmiumot adunk egy tömény törzsoldat formájában, majd az oldatok térfogatát 10 cm³-re egészítjük ki és megmérjük azokat egy láng-AAS készülékkel. A kalibráció során kapott adatokat a következő táblázat foglalja össze. Ezek alapján számítsa ki a mintaoldat Cd tartalmát !

Hozzáadott Cd (mg)	0	0,2	0,4	0,6
Abszorbancia	0,070	0,112	0,154	0,196

(a helyes megoldás: 0,66 mg·dm⁻³)

FLUORESZCENCIA SPEKTROSKÓPIA

A GYAKORLAT CÉLJA: A fluoreszcencia spektroszkópia módszerének megismerése és alkalmazása kininszulfát meghatározására vizes közegű oldatmintákban.

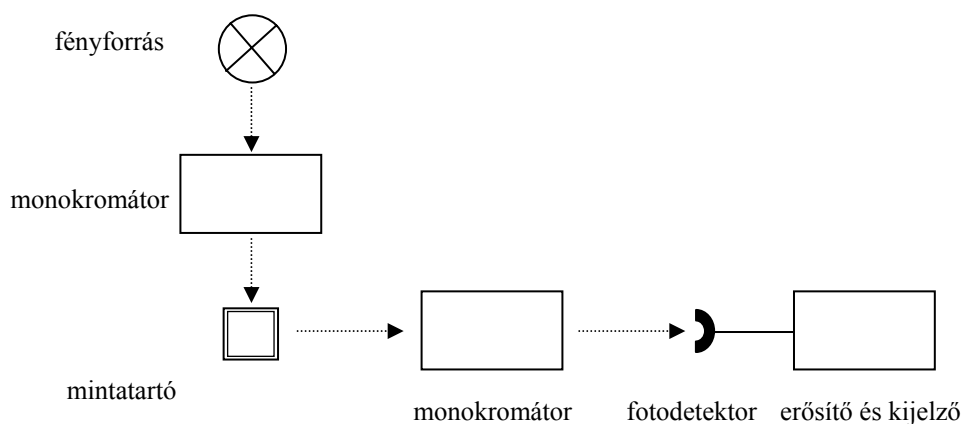
A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE ÉS A MŰSZER FELÉPÍTÉSE

A fluoreszcencia spektroszkópia a fotolumineszcencia tárgykörébe tartozó módszerek gyakorlatban leginkább elterjedt válfaja. *Fotolumineszcencia* alatt azt a jelenséget értjük, amikor az anyag ultraibolya vagy látható fénysugárzás hatására gerjesztődik, majd az elnyelt energiát fény formájában, az elnyelttel azonos vagy nagyobb hullámhosszúságú (kisebb energiájú) fényként sugározza ki. A fotolumineszcencia molekulák, atomok és ionok esetében is megfigyelhető, az alábbiakban azonban csak molekulák lumineszcenciájával foglalkozunk.

A folyamat során a gerjesztett állapot élettartama különböző lehet. Leggyakrabban az elektron a gerjesztést követően ns-µs (vagyis 10^{-9} - 10^{-6} s) időtartam elteltével visszakerül az alacsonyabb energiaszintre, vagyis a fényemisszió gyakorlatilag azonnal megszűnik a fénybesugárzás megszűntével. Ezt a fajta fotolumineszcenciát *fluoreszcenciának* nevezzük. Ezzel a hétköznapiak során is találkozhatunk, hiszen UV megvilágítás hatására fluoreszkálnak a másolásvédelem céljából speciális festékkel színezett bankjegyek, ruhadarabok, stb. Amennyiben a fénykibocsátás nem szűnik meg azonnal a megvilágítás beszüntetésével, hanem az µs-tól mintegy 100 másodpercig terjedő ideig, csökkenő intenzitással folytatódik, akkor *foszforeszcenciával* van dolgunk. A kémiai analízis gyakorlatában leginkább a fluoreszcenciának jut szerep.

Minden fluorofor anyag más hullámhosszú fénnel besugározva készíthető fluoreszkálásra, ráadásul az emittált fénysugárzás spektruma is eltérő anyagról anyagra. Ebből következően a fluoreszcencia spektroszkópia igen szelektív analitikai módszer. A fluoriméter, vagy másképpen *spektrofluoriméter* felépítése az alábbi ábrán látható. Az abszorpciós spektrofotométerekhez képest két jelentős különbséget figyelhetünk meg. Egyfelől itt két monokromátort kell alkalmaznunk, hiszen nemcsak a megvilágító fény hullámhosszúságát kell tudnunk szabályozni, hanem a kibocsátott fényből is ki kell tudnunk választani a kívánt (jellemző) hullámhosszúságú komponenst (egyszerű felépítésű célműszerekben a monokromátorokat színszűrők helyettesíthetik). A másik különbség, hogy itt a megvilágítást

és a detektálást végző optikai elemek nem egy tengelyben vannak elhelyezve, hanem azok egymással szöget (leggyakrabban derékszöget) zárnak be. Ez az elrendezés biztosítja ugyanis leginkább, hogy a nem ritkán a besugárzó fénnyel azonos hullámhosszon keletkező kibocsátott fénysugárzás mérését ne zavarja az előbbi. A nagyfokú érzékenység oka az, hogy az általában eltérő gerjesztési és emissziós hullámhossz miatt az emissziós módszerekhez hasonlóan itt is lényegében zérus háttérjel mellett mérhetjük az analitikai jelet.



1. ábra. A fluoreszcencia spektrofotométerek vázlatos felépítése

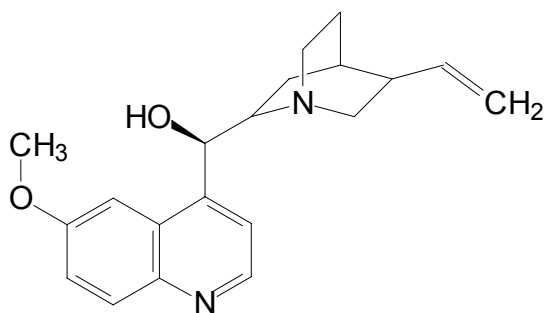
Elméleti megfontolások alapján azok a molekulák mutatnak intenzív fluoreszcenciát, amelyek aromás jellegűek vagy többszörösen konjugált kettős kötést tartalmaznak, továbbá merev, sík szerkezetűek (pl. naftalin, antracén, fenantrén). Megmutatható, hogy a fluoreszcenciás fénysugárzás intenzitása arányos a besugárzó fény intenzitásával, az okozott abszorpcióval és a koncentrációval. Közelebbről, egy adott emissziós hullámhosszon a kibocsátott fényintenzitás a következő általános formulával írható le:

$$I = k \cdot I_0 \cdot \varepsilon \cdot c$$

ahol c a minta koncentrációja, ε az *elnyelés (besugárzás) hullámhosszán érvényes* moláris abszorpciós koefficiens, I_0 a besugárzó monokromatikus fény intenzitása, k pedig a küvettára és a műszerre jellemző állandók és a vizsgálandó vegyület ún. kvantumhasznosítását összegző arányossági állandó. A koncentrációtól való lineáris függés csak igen híg oldatokban, közelítőleg a 10^{-4} - 10^{-8} mol/dm³ tartományban teljesül; ezt jelentősen meghaladó koncentrációk esetén a kalibrációs görbe visszahajlását tapasztaljuk, aminek sok esetben az *önabszorpció* az oka (a fluoreszkáló komponens sok esetben képes a maga által kibocsátott fényt elnyelni). A fluoreszcencia intenzitását gyakran befolyásolja az oldat pH-ja és az oldószer anyagi minősége is. A fluoreszcencia spektrofotometriát különösen aromás szerves vegyületek (pl. növényvédőszer-maradványok, egyes szénhidrogének, stb.) kimutatására és mérésére használják környezeti minták elemzése során. Éppen ezért hasonló anyagok folyadékkromatográfiás analízisekor is használatosak fluorimetriás detektorok.

Jelen gyakorlat során kinin-szulfát (szabatosan: kininin-szulfát) meghatározását fogja fluorimetriás módszerrel elvégezni. A kinin-szulfát a kinin kénsavval való reakciója eredményeképpen képződő só típusú vegyület. A fluoreszcencia szempontjából természetesen a kinin rész meghatározó, ennek szulfátosított változatát jelen esetben mindössze annak jobb vízoldhatósága miatt használjuk.

Amint az a kinin alábbi szerkezeti képletén (2. ábra) is látható, ez a vegyület kondenzált gyűrűs molekularészlettel rendelkezik, vagyis várhatóan intenzív fluoreszkálást mutat. A gyakorlat során 364 nm gerjesztési hullámhosszat fog alkalmazni. Felveszi a kinin-szulfát fluoreszcencia emissziós spektrumát, amelynek tanulmányozása révén megállapítja a legmegfelelőbb mérési hullámhosszat a kvantitatív meghatározás számára. Ezt követően direkt kalibráció alkalmazásával meg kell határoznia a kiadott ismeretlen kinin-szulfát oldat koncentrációját.



2. ábra. A kinin szerkezeti képlete

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

0,025 mg/cm³ koncentrációjú kinin-szulfát törzsoldat ($M_r = 746,9$ g/mol)
kb. 0,05 M H₂SO₄ oldat speciális spriccflaskában

1 db 100 cm³-es mérőlombik (a mintaoldat számára)
9 db 50 cm³-es mérőlombik (a kalibráló oldatsorozat és a mérendő oldatok számára)
2 db 50 cm³-es főzőpohár (a pipettázás segítésére)
1 db 500 cm³-es üveg csésze (hulladékgyűjtő edény)
1 db 10 cm³-es hasas pipetta (a mintaoldatok hígításához)
1 db 20 cm³-es osztott pipetta (a kalibráló sorozat készítéséhez)
1 db kvarcküvetta
1 db pipettázó labda
1 db üvegtölcsér
papírkendő

Hitachi F-2000 típusú spektrofluoriméter

A készülék bekapcsolása és használatának elvei. A mérés során használt Hitachi F-2000 típusú spektrofluoriméter egy korszerű számítógép-vezérelt mérőműszer, amely segítségével igen sokféle fluorimetriás mérési feladat elvégezhető. A legmodernebb műszerekre jellemzően itt is lehetőség van mind a gerjesztési hullámhossz, mind pedig a mérési hullámhossz szabadon történő megválasztására, sőt ezek pásztázásával spektrumok felvételére is. A nagy értékű és érzékeny spektrométer működőképességének megőrzése érdekében a műszer be- és kikapcsolását csak a gyakorlatvezető végezheti!

A műszer nem igényel számottevő bemelegedési időt (kb. 15 perc), ezért célszerűen csak a mérendő oldatok előkészítése után szükséges azt elindítani. A bekapcsolás sorrendje: **1.)** az alul bal szélén található „**Power**” kapcsoló bekapcsolása („ON”) elindítja a készülék tápegységét és a hűtőventillátort, **2.)** 10-15 másodperc várakozási idő után rövid időre nyomjuk be az alul középen található „**Xe lamp start**” nyomógombot, ami hatására ki kell gyulladnia a „**Lamp**” visszajelző izzónak a készülék elején (ha sikertelen ez a művelet, akkor csak kis várakozás után próbáljuk meg ismét!), **3.)** néhány másodperc várakozás után bekapcsoljuk az alul jobb oldalon található „**Main**” kapcsolót („ON”) is, ami a optika elektronikáját és a beépített számítógépet indítja. A kikapcsolás sorrendje fordított, vagyis először a számítógépet kapcsoljuk ki („**Main**”), majd a főkapcsolót („**Power**”). Bekapcsolás után a készülék alapos öntesztet futtat, amelynek eredményét a képernyőn olvashatjuk (négy OK feliratnak kell megjelennie). A főmenü megjelenése jelzi a készülék mérőképes állapotát.

A mérésekhez 1 cm-es kvarc küvettát alkalmazunk. Ezen költséges küvetták kezelése során óvatosan járunk el; az élek mentén fogjuk meg azokat és óvjuk a karcolódástól, töréstől! A műszer bal felső részén található a küvettatartó rész fedele. Ennek felnyitásával férünk hozzá a küvettatartóhoz, amelybe méréskor mindig ugyanazon oldalával felénk (pl. úgy, hogy a küvetta oldalának felső részébe karcolt küvettaállandót el tudjuk olvasni), függőleges helyzetben, ütközésig nyomjuk bele a küvettát. A küvettát legfeljebb kb. 2/3 magasságáig töltjük tele. A küvetta behelyezésénél ügyeljünk arra is, hogy ne szennyezzük el a küvettatartó környékét pl. kifröccsenő oldattal. Különösen a nagyméretű gyűjtőlencsét óvjuk a szennyeződéstől – ha ezekre mintaoldat vagy más szennyeződés kerülne, azonnal szóljunk a gyakorlatvezetőnek. Mivel a fluoreszcencia igen érzékeny módszer, ezért a küvettát az oldatok kicserélésekor mindig gondosan öblítsük át. Megfelelő gyakorlat például, ha miután kiborítottuk a régi oldatot, azt háromszor átöblítjük desztillált vízzel, majd háromszor a mérendő oldattal. A műszer fedelét mérés előtt mindig csukjuk le!

A műszer vezérlő programjának kezelése egyszerű. Egy képernyőn belül mindig a le/fel nyilakkal mozgunk, „**Enter**” választja ki a menüpontot (vagy zárja le egy számadat bevitelét), „**Return**” visszalép eggyel a menürendszerben, a „**Main menu**” pedig mindig a bekapcsoláskor jelentkező főmenühez visz vissza. Ha hibaüzenetet adna a gép (amiről mindig értesítsük a gyakorlatvezetőt!), akkor azt a „**Clear**” billentyűvel törölhetjük a képernyőről. Hibás számbillentyűzés esetén szintén a „**Clear**”-rel javíthatunk. A műszer programja révén

sokféle mérőfunkció elérhető, azonban a jelen feladat végrehajtásához csak kettőre (“**WL scan**” és “**Photometry**”) lesz szükség.

A kalibráló oldatsorozat elkészítése. A kinin-szulfát standard oldatból a kiadott 50 cm³-es mérőlombikokban 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 µg/cm³ koncentrációjú kalibráló oldatsorozatot készítünk a kiadott 0,05 M kénsavoldatot használva hígítószerként. Nulla koncentrációjú (vak)oldatot nem kell külön készítenie, hiszen az a kénsavoldat lesz. A pipettázás során használja a 20 cm³-es osztott pipettát, a pipettázó labdát és a főzőpoharat. Az ismeretlen kinin-szulfátot oldatot tartalmazó ampulla tartalmát kvantitatíve átmoszuk egy 100 cm³-es mérőlombikba. Ebből az ismeretlen törzsoldatból 10-10 cm³ beméréssel és kénsavas hígítással készítjük a három mérendő mintaoldatot. A mérések során a hulladékgyűjtő edényt a küvetta átöblítése során használhatja előnyösen.

Az emissziós spektrum felvétele. Első mérési feladata az egyik kiválasztott kalibráló oldat fluoreszcencia emissziós spektrumának felvétele lesz. A korábban leírtak szerint helyezze el az oldattal teli küvetát a spektrofluoriméterben, majd a “**Wavelength scan**” (“**WL Scan**”) menüpontba lépve végezze el a következő releváns beállításokat. “**EM start**”: 220 nm, “**EM stop**”: 800 nm (ebben a spektrumtartományban fogja felvenni az emissziós spektrumot), “**Up scale**”: 1000, “**Lo scale**”: 0 (ez a készülék spektrum y tengelyének skáláját rögzíti), “**Scan speed**”: 240 (ez a pásztázás sebességét adja meg), “**Display format**”: sequential (a megjelenítés üzemmódja). Ezután a “**Go to EX**” billentyű megnyomása után a kérdésre vigye be a gerjesztés 364 nm-es hullámhosszának értékét. Mindezek után nyomja meg a “**Forward**” gombot, majd a “**Start EM**” gombot — ennek hatására a spektrofluoriméter elkezd felvenni az emissziós spektrumot, amelyet a képernyőn való megjelenítés után nyomtasson is ki (ehhez válasszuk a „**Print graph**” opciót a képernyő alján megjelenő listából). Vizsgálja meg a spektrumot és válassza ki a legnagyobb emissziós intenzitást nyújtó csúcs közelítő hullámhosszát (ez 400-500 nm között várható), ez lesz a későbbi kvantitatív mérés során a mérési (emissziós) hullámhossz. Mielőtt kivenné a küvetát a műszerből, figyelje meg az oldat intenzív kék-fehér fényben való fluoreszkálását is.

A kvantitatív mérés végrehajtása. A főmenüből válasszuk ki a „**Photometry**” pontot, ami a mérési körülményeket beállító képernyőhöz visz el bennünket. Itt ellenőrizzük és szükség esetén állítsuk be az **1. táblázatban** látható paraméter értékeket. Ne feledje el beállítani a korábban megállapított emissziós hullámhossz értéket sem.

A mérést a „**Forward**” billentyűvel indítjuk, a „**Photometry**” menüben. Ekkor kiírja a program, hogy melyik oldatot kéri mérésre (ez először nyilván STD1, vagyis a vakoldat lesz). Ekkor betesszük a kérdéses oldatot tartalmazó küvetát a küvetatartóba, majd megnyomjuk a „**Start EX**” vagy „**Start EM**” billentyűk valamelyikét. Ekkor mér a készülék, majd a mérés eredménye megjelenik a képernyő baloldalán levő táblázatban. Mivel három párhuzamos mérést kértünk, azért ugyanazon oldat háromszori megméréséhez összesen háromszor kell majd megnyomnunk az egyik „**Start**” gombot. Az előírt ismétlésszám teljesülése esetén a műszer kiszámítja és kiírja az átlagos fényintenzitást, amit feljegyzünk a jegyzőkönyvben. Ezután kéri majd a következő kalibráló oldatot és így tovább. Az összes kalibráló oldat megmérését követően a műszer kirajzolja a kalibrációs görbét, és várja az első mintaoldatot.

Ha a mérőgörbével elégedettek vagyunk, akkor azt kinyomtathatjuk; ehhez válasszuk a „**Print graph**” opciót a képernyő alján megjelenő listából. Ha a görbe nem lineáris vagy nagyon szóró pontokat tartalmaz, akkor lépünk vissza a „**Return**” gombbal, majd az oldatok újrakészítése után ismételjük meg a kalibrációs görbe fent leírt mérését. Ha a görbe jó, úgy a fentiekhez hasonlóan sorban betesszük és megmérjük az ismeretlen oldatainkat is (megint a „**Start EX**” vagy „**Start EM**” gomb megnyomására történik a mérés), amelyekre kapott átlagkoncentrációkat is feljegyezzük a jegyzőkönyvbe. Az így befejeződött mérési sorozatból összesen legalább kettőt kell elvégezni. A főmenübe való visszalépéssel a mérés befejeződött.

1. táblázat. A kvantitatív mérés paraméterei és azok magyarázata

1. Data mode:	Conc (koncentrációmeghatározás)
2. Num WL:	1 (egyetlen hullámhosszon történik a mérés)
3. Test setup:	
Sample num:	1 (az ismeretlen oldatok sorszámozása innen indul)
WL 1:	EX 364 EM xxx (a gerjesztési és emissziós hullámhosszak)
Replicates:	3 (egy oldat mérésének ismétlési száma)
Init delay:	0 (mérés előtti várakozás, itt nem használjuk)
Integ time:	2 (a fényintenzitás mérésekor ennyi ideig mér és átlagol)
Hi limit:	1000 (a grafikon y tengelyének maximális skálaértéke)
Lo limit:	0 (a grafikon y tengelyének minimális skálaértéke)
Unit label:	µg/ml (a használt koncentrációk dimenziója)
4. Curve Type:	1st order (a kalibrációs görbe alakja egyenes)
5. Num stds:	7 (a kalibráló oldatok összes száma, beleértve a vakoldatot)
6. Curve mode:	New (a mérés során új kalibrációs görbét veszünk fel)
7. Curve data:	... (ide kell sorban bevinni a kalibráló oldatok koncentrációit)
8. Test name:	Kinin (a mérőmódszer neve)
9. Instr setup:	
Response:	0.5 s
Bandpass:	EX 10 EM 10 (a gerjesztő és mért fény sávszélessége)
PM voltage:	400 V (a fotoelektron-sokszorozó feszültsége)
Text print:	OFF (nem kérünk automatikus nyomtatást az eredményekről)
10. Save params:	(nem kell használni)

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- A kalibrációs és mintaoldatokra kapott mérési (intenzitás) adatok táblázata, valamint a kinyomtatott kalibrációs grafikon
- A kinin-szulfát felvett fluoreszcencia emissziós spektruma kinyomtatva
- A kiadott kinin-szulfát mintaoldat koncentrációja mol/dm³ és mg/dm³ egységekben.

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mit értünk a fotolumineszcencia jelensége alatt?
2. Mi a fluoreszcencia és foszforeszcencia közötti különbség?

3. Mi biztosítja a fluoreszcencia spektroszkópia módszerének nagy szelektivitását és nagy érzékenységét?
4. Milyen képlettel írható le a fluoreszcenciás intenzitás koncentrációfüggése a lineáris tartományban?
5. Milyen kísérleti paraméterek megváltoztatásával érheti el a fluoreszcenciás fényintenzitását növelését?
6. Szélesebb koncentrációtartományban milyen alakú kalibrációs görbe jellemző a fluoreszcenciás mérésekre és mi ennek az oka?
7. Általában milyen szerkezetű molekulák mutatnak intenzív fluoreszcenciát?
8. Miben tér el a fluoreszcenciás küvetta a szokásos spektrofotometriás küvettától?
9. Spektrofotometriás mérések útján megállapítottuk, hogy egy oldatban egy sav-bázis indikátor színezék 13%-a savas alakjában, 87%-a pedig bázisos formájában található. Mekkora az oldat pH-ja, ha tudjuk hogy $pK_{ind} = 7,1$?
(a helyes megoldás: 7,92)
10. Egy 3 cm^3 térfogatú, ismeretlen koncentrációjú KMnO_4 oldat 1 cm -es küvettában a rajta áthaladó fény 65,5%-át engedi át. A mintához 1 cm^3 $0,005\text{ M}$ KMnO_4 oldatot adva, a kialakuló oldat a fénynek 37,7%-át engedi át. Mekkora volt az ismeretlen oldat koncentrációja?
(a helyes megoldás: $8,03 \cdot 10^{-4}\text{ M}$)

NAGYHATÉKONYSÁGÚ FOLYADÉKKROMATOGRÁFIA

A GYAKORLAT CÉLJA: A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) módszerének tanulmányozása és alkalmazása egyes aromás vegyületek mennyiségi és minőségi analízisére vizes oldatban.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

A műszeres analízis kromatográfias módszereinek feladata, hogy a minta komponenseit – legtöbbször szerves vegyületeket – egymástól elválassza. A módszer működésének alapja az, hogy a *mozgófázis*ba (amely gáz vagy folyadék lehet) kevert mintaelegyet szoros kontaktusba hozzuk egy azzal nem elegyedő másik fázissal, amelyet *állófázis*nak hívunk (egy lapra felvitt, vagy cső belsejében rögzített folyadék vagy szilárd halmazállapotú anyag). A mozgófázist (eluens) állandóan mozgásban tartva a mintaelegy komponensei az állófázissal való kölcsönhatásuk különböző mértéke miatt megfelelő kontaktidő után elkülönülnek egymástól. Amennyiben a rendszerben egy detektort helyezünk el, amely a mintakomponenseket képes megkülönböztetni a minta oldószerétől (pl. képzeljünk el egy vezetőképességi detektort annak a csőnek a kifolyó végére szerelve, amely az állófázist magában foglalja), akkor a detektorjel idő függvényében való ábrázolásakor a mintakomponenseket reprezentáló csúcssorozatot fogunk észlelni. Ezt a grafikont hívjuk *kromatogram*nak, a berendezést pedig *kromatográf*nak.

A kromatográfias módszereknek igen sokféle változata alakult ki, amelyek több szempont szerint is csoportosíthatók. Az egyik csoportosítás alapja, hogy az állófázis milyen kivitelezésű: ha az állófázist egy cső (oszlop, kolonna) belsejében helyezzük el töltétként, vagy a cső belső falát vonjuk be azzal filmszerűen, akkor *oszlopkromatográfia*ról beszélünk, szemben a sík kivitelezésű állófázist alkalmazó *planáris kromatográfia*val. A gyakorlatban az oszlopkromatográfias módszerek túlnyomó többségben vannak. Egy másik szempont lehet, hogy a mintakomponensek és az állófázis között kialakuló kölcsönhatás természete milyen: ez lehet adszorpción, megoszláson, ioncsere egyensúlyon, stb. alapuló; ekkor rendre adszorpciós stb. kromatográfia-ról beszélünk. Egy további csoportosítás szerint a mozgófázis halmazállapotát tekintjük: eszerint *folyadékkromatográfia*t (liquid chromatography, LC) és *gázkromatográfia*t (gas chromatography, GC) különböztetünk meg.

A kromatográfiás módszerek nagy előnye, hogy a mérési körülmények (az álló és mozgófázis minőségének és összetételének) alkalmas megválasztásával ezek a módszerek az elválasztandó komponensek igen széles körére alkalmazhatóak. Megfelelően érzékeny detektor alkalmazásával pedig akár nyomnyi mennyiségű szerves vegyületek jelenléte is kimutatható vagy azok mennyisége meghatározható. Az is fontos tény, hogy a kromatográfok nemcsak kis anyagmennyiségek kezelésére, analitikai célokra, hanem nagy méretben, kimondottan az egyes szétválasztott komponensek összegyűjtése céljából is építhetők (*preparatív kromatográf*).

A kromatogramról leolvasható egyik legfontosabb adat az egyes kromatográfiás csúcsokhoz tartozó *retenciós idő* (= visszatartási idő, t_r), amely a mintának a mozgófázisba juttatásától a komponens detektor által mért maximális koncentrációjának (a megfelelő csúcs maximális értékének) a megjelenéséig eltelt idő. A retenció minden komponensre (minden kromatográfiás csúcsra) más és más, így a komponens anyagi minőségével függ össze. A retenciós időt azonban ritkán használjuk az anyagi minőség megállapítására, hiszen az magában foglalja azt az időt is, amely a mozgófázisnak a kromatográfon való áthaladásához szükséges (*holtidő*, t_m). Leggyakrabban ezért a retenciós idő és a holtidő különbségét képezzük, és az így kapott *redukált retenciós időt*:

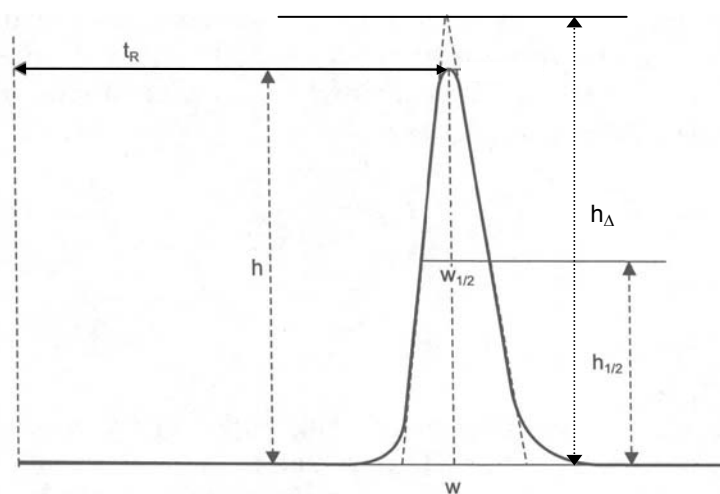
$$t'_r = t_r - t_m$$

vagy másképpen nettó retenciós időt használjuk az analízis során. A holtidő megállapítása például úgy lehetséges, hogy a mintánkhoz beadagolás előtt egy olyan komponenst adunk, amely a kolonnán nem kötődik meg, a detektorban azonban jelet szolgáltat (pl. poláris anyagok elválasztására szolgáló kolonna esetében egy apoláris komponenst), ennek a komponensnek a retenciós ideje közelítőleg a holtidővel egyenlő.

A kromatográfiás módszerek – elsősorban az alkalmazott oszlop – jellemzésére egyik leggyakrabban használt paraméter az *elméleti tányérszám* (N). A desztillációnál és extrakciónál használt ún. tányérelmélet alkalmazásával (ez az elmélet a desztillációs tornyokban ténylegesen meglévő szedőtányérokon lejátszódó folyamatokkal foglalkozik) és a kromatogram csúcsait a Gauss (normális) eloszlást követőnek feltételezve, a csúcs könnyen mérhető adatai alapján az elméleti tányérszámra a következő definíciós képlet adódik:

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_r}{W} \right)^2 = 5,54 \cdot \left(\frac{t_r}{W_{1/2}} \right)^2$$

ahol W a csúcs talpszélessége, $W_{1/2}$ pedig a csúcs félértékszélessége (**1. ábra**). Minél nagyobb N értéke egy adott kromatográfiás módszerre nézve, annál hatékonyabb az elválasztás, vagyis pl. adott idő alatt annál több komponenst tudunk elválasztani vagy másképpen két csúcs annál jobban elkülönül egymástól.



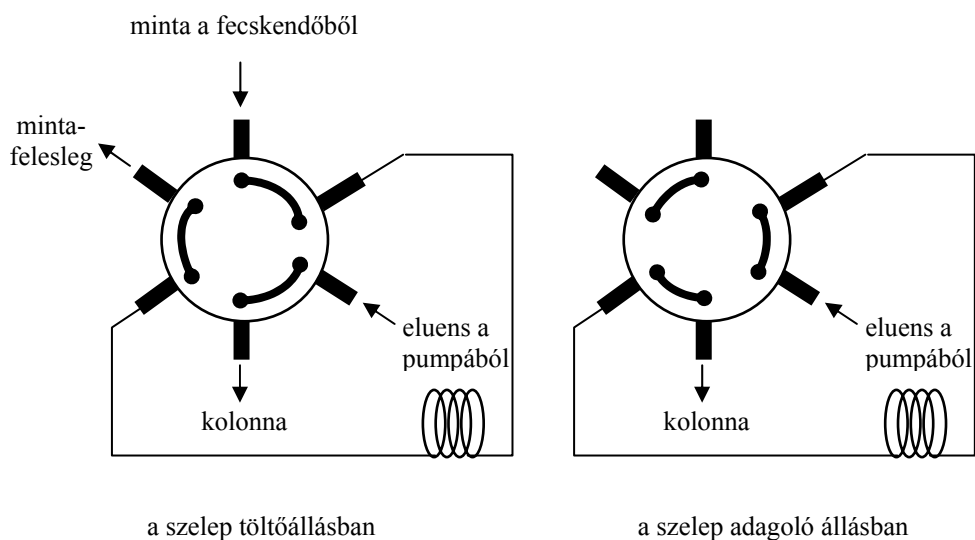
1. ábra. A kromatográfiás csúcsok néhány alapadata

A kromatogramban található információ minőségi analízisre is használható. A legegyszerűbb módszer egy adott kromatográfiás rendszeren mért redukált retenciós idők összehasonlítása ugyanazon a rendszeren mért ismert anyagok redukált retenciós időivel. Ez az összehasonlítás azonban nyilván nagyon hosszadalmas, különösen ha nem rendelkezünk semmilyen előzetes információval a minta összetevőiről. Ilyenkor ugyanis komoly bizonytalanságot okoz az azonosításban, hogy sokféle anyag adhat közeli retenciós idejű csúcsokat, amelyek a meghatározás körülményei mellett könnyen azonosnak tűnhetnek. Megbízhatóbbá tehetjük az ilyen összehasonlításon alapuló minőségi analízist, ha az összehasonlítást két különböző állófázist tartalmazó kolonnán is elvégezzük. A legmegbízhatóbb eljárás azonban egyértelműen az, amikor a kromatográfot szelektív detektorral látjuk el (pl. tömegspektrométer), ilyenkor ugyanis a detektor összetett, az adott komponens anyagi minőségére jellemző jelet (spektrum) szolgáltat. Az ilyen detektorokkal az átfedő kromatográfiás csúcsokat adó komponensek is kellő biztonsággal azonosíthatók.

A kromatográfiás mennyiségi analízis alapja a csúcsok területének (keskeny és hegyes csúcsok esetén a csúcsmagasság) arányossága a koncentrációval. Ismert koncentrációjú mintasorozat mérésével kalibrálva, vagyis kalibrációs görbe felvétele után az ismeretlen koncentrációja a görbéről visszaolvasva meghatározható. A csúcsterületek meghatározása régebben vonalzó használatával manuálisan történt, ma azonban szinte kizárólag elektronikus integrátorokkal illetve számítógépes adatgyűjtő programok segítségével történik. A manuális kiértékelés alapjául a 1. ábrán is látható adatok szolgálhatnak; a csúcs alatti területet a félértékszélesség alapján téglalappal ($W_{1/2} \cdot h$), vagy a csúcs oldalaihoz érintő egyenesek behúzásával, majd az így kialakuló háromszöggel ($h_\Delta \cdot W / 2$) közelíthetjük.

A folyadékkromatográfia ma elterjedten alkalmazott változata a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). A HPLC technika nagy hatékonyságú és igen gyors analíziseket tesz lehetővé: akár tucatnyi

komponens is elválasztható egy perc alatt. A hatékonyság növelését a speciális megosztófázisok alkalmazása mellett igen apró szemcseméretű – és így nagy fajlagos felületű – töltetek készítésével érték el. Az apró töltetszemcsék azonban igen tömören helyezkednek el a kolonnában, ami jelentősen megnöveli annak áramlási ellenállását. Ennek következtében a mozgófázis áramoltatása csak nagy (100-500 bar, vagyis 10^7 Pa nagyságrendű) nyomással, különleges szerkezeti anyagból készülő és kémiai ellenálló, költséges dugattyús folyadékpumpákkal lehetséges. A nagy nyomáson való működés további követelményeket támaszt a felhasznált folyadékokkal és a mintaadagolóval szemben is. Az eluens és a minta sem oldott gázokat, sem apró szemcsés szennyeződések nem tartalmazhat; az előbbiek a detektorban felszabadulva a jel pulzálását idézhetik elő, míg az utóbbiak a töltetszemcsék közötti, mikrométernél kisebb járatokat eltömítik. Így az eluenseket és a mintát 0,2-0,45 μm -es pórusméretű szűrőn való vákuumszűréssel és az eluens esetében még ultrahangos kirárással szokás előkészíteni a használatra. A tipikusan 5-100 μL térfogatú minták beadagolása csak speciális segédeszközzel, adagolószeleppel (**2. ábra**) történhet.



2. ábra. Egy hatutas HPLC adagolószelep működése

Ezek az adagolók két, egymáshoz szorosan illeszkedő, elfordítható korongot tartalmaznak, amelyek közül az elülső három vékony vájat formájában két-két szomszédos bemeneti nyílást összekötő csatorna található. A szelep elülső korongjának egy külső karral 60° -al való elfordítása hatására ezen vájak más belső összeköttetést valósítanak meg. Töltőállásban a mintaoldat egy mikroliterfecskendővel (ez a fecskendő a gázkromatográfiában használatossal ellentétben nem hegyes, hanem tompa végű!) juttatható be a fecskendőnyíláson át. A feleslegben beadagolt oldat megtölti és átöblíti a rögzített térfogatú mintahurkot, miközben a pumpa tiszta eluentsz pumpál a kolonnára. A szelep adagoló állásba helyezésekor a belső vájak elcsúszása révén az áramlási viszonyok úgy változnak meg, hogy ekkor a pumpált eluensáramlás kimossa a mintahurok tartalmát, rájuttatva azt a kolonnára.

A HPLC kolonnák többnyire 1-4 mm belső átmérőjű, 10-30 cm hosszúságú acélsövek, amelynek töltete apró szemcséjű (2-40 μm) porózus hordozóból és annak felületén kötött megosztófolyadékból áll. Azt, hogy az elkészült kolonna milyen komponensek hatékony elválasztására lesz alkalmas, a kapcsolt megosztófolyadék kémiai tulajdonságai döntenek el: pl. fenilcsoportok aromás vegyületek elválasztására, királis funkciók csoportok az optikailag aktív komponensek elválasztására alkalmas különösen. Az igen elterjedt ún. C-18 kolonnákban a hordozó felületéhez oktadecil-csoportok kapcsolódnak. Természetesen az eluensösszetétel is nagyban befolyásolja az elválasztás eredményességét. *Normálfázisú kromatográfiánál* az állófázis poláros, míg a mozgófázis apoláros jellegű; ilyenkor a poláros komponensek jobban kötődnek az állófázishoz, vagyis nagyobb retenciós idejű csúcsokat fognak produkálni, ez az összeállítás tehát a poláros komponensek elválasztásának kedvez. *Fordított fázisú kromatográfia* esetében ez éppen fordítva van, az állófázis apoláros (pl. C-18 csoportokat tartalmaz) és a mozgófázis poláros (pl. víz-metanol elegy); ilyen körülmények mellett az apoláros komponensek, pl. aromás szénhidrogének választhatók el jól.

A HPLC módszer elterjedésében széleskörű alkalmazhatósága mellett nagy szerep jutott a sokoldalú és érzékeny detektoroknak is. Az egyik gyakori detektor a *spektrofotometriás detektor*, amely lényegében egy vékony kapillárisból kialakított, állandó mikroküvetés (kb. 10 μL térfogat és tipikusan 10 mm optikai úthossz) spektrofotométernak tekinthető. Mivel nem minden mintakomponens ugyanazon a hullámhosszon abszorbeálja a látható vagy ultraibolya fényt, ezért a mai modern spektrofotometriás detektorokban a mérési hullámhossz programozható az eltelt analízisidő függvényében (minden egyes kolonnáról leérkező komponens méréséhez más-más hullámhossz programozható be). A legújabb spektrofotometriás, ún. diódasoros detektorok a mintakomponens teljes abszorpciós spektrumát felveszik, ami az ismeretlen komponensek azonosítását is nagymértékben megkönnyíti. A spektrofotometriás detektor sokoldalú, érzékeny detektor; segítségével akár 0,01 ng mintamennyiség is kimutatható. A *törésmutató különbségi detektor* szintén elterjedt. Ez a HPLC detektor a kolonnát elhagyó és a mintakomponenseket tartalmazó eluens optikai törésmutatóját hasonlítja össze a tiszta eluensével. Ennek a detektornak a kimutatási képessége gyengébb, mint a spektrofotometriásé (kb. 1 ng), azonban előnye, hogy majdnem minden szerves vegyület kimutatására használható. Az említett két típuson kívül más detektorok (pl. fluoreszcenciás, elektrokémiai, tömegspektrometria, stb.) vagy azok kombinációja is használható a HPLC berendezésekben.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

Ismert koncentrációjú m-krezol, metil-benzoát, naftalin és toluol elegy
75:25 vagy 80:20 metanol-víz elegy ultrahanggal gáztalanítva (eluens)

5 db 5 cm^3 -es mérőlombik (a kalibráló oldatok és az ismeretlen oldat számára)

1 db műanyag testű fecskendő (a mérőlombikok jelre töltéséhez)
1 db 100 μ L-es precíziós HPLC fecskendő (a minta adagolószelepbe juttatásához)
1 db 5 cm³-es osztott pipetta (a kalibráló sor készítéséhez)
2 db nagyobb főzőpohár vagy Erlenmeyer lombik (hulladékgyűjtő edény)
1 db pipettázó labda
papírkendő

Biotronik BT8200 HPLC UV-Vis detektor
Biotronik BT8100 HPLC izokratikus pumpa adagolószeleppel és C-18 kolonnával
Számítógépes adatgyűjtő hardver és szoftver

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

A kromatográf üzembeállítása. A HPLC berendezések precíziós, viszonylag kényes és drága berendezések, ezért használatuk során nagy körültekintéssel járjon el. Ha bizonytalan valamiben, kérjen tanácsot a gyakorlatvezetőtől!

Mindenekelőtt ellenőrizze, hogy az eluens (metanol-víz elegy) tároló tartályában a méréshez elegendő (legalább 300-500 mL) folyadék van és az edényt a pumpával összekötő cső leér a folyadékedény aljára. Az átlátszó összekötő műanyag csőben nem szabad buboréknak lennie. Kapcsolja be a pumpát, a detektort és a számítógépet azok hálózati főkapcsolóival. A számítógép adatgyűjtő interfésze (kisméretű fekete doboz, amely szalagkábelrel csatlakozik a számítógéphez) bemenetének a detektor rekorderkimenetéhez kell kapcsolódnia annak hátlapján, és az adatgyűjtő tápegységét is be kell dugni a hálózatba (kis piros lámpa jelzi a tápegység működését).

A pumpa és detektor ekkor diagnosztikai rutinokat kezd el futtatni, melynek végeztével mérőkész állapotba kerülnek. Mindkét egység esetében a „**Parameter**” gomb megnyomásával értelemszerűen a képernyőn végig léptethetjük az összes fontosabb, beállítható készülékparamétert. Ha a beállítani kívánt paraméter a képernyőn van, akkor az „**Edit/Enter**” billentyű megnyomásával szerkeszthetjük azt (a szerkeszthetőséget a paraméter villogása jelzi). A paraméter értékének módosítása ilyenkor a „**↑**” és „**↓**” billentyűk használatával lehetséges. Az „**Edit/Enter**” billentyű újbóli megnyomása rögzíti a beállított paraméterértéket és továbblép a következőre. Ellenőrizze, hogy a következő értékek vannak beállítva a pumpán: „**Flow: 0.8 ml/min**” (áramlási sebesség), „**Pmax: 300 kg/cm²**” (az üzemi nyomás felső határa), „**Pmin: 10 kg/cm²**” (az üzemi nyomás alsó határa). A detektoron: „**Range: 0.02**” (mérészhatár), „**Lambda: 254 nm**” (ez a mérési hullámhossz; 254 nm-en a jelen gyakorlaton mérendő mindegyik aromás vegyület abszorbeál), „**Response: STD**” (a megfelelő mérési üzemmód), „**Lamp: D2 On**” (azt jelenti: a fényforrás bekapcsolva). Természetesen a pumpán látható „**Pressure**” paraméter értéke a mindenkor aktuális folyadéknyomás, az „**ABS**” paraméter értéke pedig a pillanatnyi abszorbancia. Érdemes megjegyezni, hogy „**Range**” jelentése lényegében a mérés során várt legnagyobb

abszorbancia-értékkel egyezik meg. Ez a detektor által a számítógép felé küldött feszültséggel nagyságát szabja meg: ha ezt tehát kisebbre állítjuk, akkor nagyobbak lesznek a csúcsok a számítógép képernyőjén (ez természetesen a számítógép beállításaitól is függ). A pumpa „**Pump**” feliratú gombjával indítsuk el az eluens áramlását is, ugyanis 15-30 perc stabilizálódási időre mind a pumpának, mind a detektornak szüksége van. Kövesse végig az eluenstartálytól a hulladékedényig a folyadék áramlásának útját, és ellenőrizze hogy az akadálytalanul, egyenletes ütemben csepeg ki.

Mintaelőkészítés. A meghatározandó vegyületek mindegyikét tartalmazó ismert koncentrációjú törzsoldat felhasználásával készítsen kalibráló oldatsorozatot a kiadott négy darab 5 cm³-es mérőlombikba. Ügyeljen arra, hogy a lombikok előzetes átöblítését a csiszolt dugós lombikban kiadott eluenssel (metanol/víz elegy) végezze. Az oldatsorozat elkészítésekor 1, 2, 3 és 4 cm³ törzsoldatot mérjen be labdás pipettával (**az aromás vegyületek mérgezőek!**) a lombikokba, és töltsse jelre azokat az eluenssel. A jelre állításhoz a mellékelt műanyag fecskendőt használhatja, és a lombikok tartalmát alaposan rázza össze. Az ismeretlen mintát lombikban fogja megkapni, amelyet hasonlóan jelre kell töltenie eluenssel. Az oldatok kezelésénél gyorsan dolgozzon a párolgási veszteség minimalizálása érdekében — ezért megengedett most a törzsoldatos lombikból való közvetlen pipettázás is.

A számítógépes adatgyűjtő használata. A mérési adatok gyűjtését és kiértékelését számítógéppel, egy „*Digitális rekorder*” nevű program segítségével fogja végezni, amely egy ún. analóg/digitális átalakító egység (8-csatornás mérésadatgyűjtő) révén fogadja a kromatográfias detektor jelét. A program a számítógép bekapcsolása után automatikusan elindul. A szoftver használata egyszerű: a képernyő alsó sorában olvasható a kiadható parancsok listája az aktiváló billentyűk nevével — pl. a „**Súgó**” (F1 gomb) röviden összefoglalja a program főbb funkcióit. Az alapkoncepció az, hogy az „**Opciók**” (F4 gomb) menüben beállítjuk az adatgyűjtés körülményeit (pl. adatgyűjtési sebesség, adatgyűjtési időtartam, stb.), majd a „**Mérés**” (F5 gomb) parancs kiadásával megkezdődik a mérés: a mért adatok mind számszerűen, mind grafikusan nyomonkövethetők. Az adatgyűjtés az „**Esc**” billentyű megnyomására vagy az előre beállított időtartam elteltével fejeződik be. Ekkor a „**Kiértékelés**” (F6 gomb) parancsot kiadva részleteiben is megtekinthetjük a rögzített kromatogramot, és két kurzor mozgatásával a kromatogram egyes részeit integrálhatjuk, csúcsmagasságokat és retenciós időket olvashatunk le. A mért adatok lemezen is tárolhatók (ASCII formátum), illetve azok visszatölthetők a programba. Ha a mért adatokat el szeretné tárolni, akkor minden egyes kromatogram felvétele után ne felejtse el az „**Opciók**” menüpont alatt beállítani a kívánt mentési útvonalat és fájlnevet (a könyvtárnevek és a fájlnev 8 karakterből és 3 karakteres kiterjesztésből állhatnak!), majd kiadni a főmenüből a „**Mentés**” parancsot. Ne feledje, hogy az adatok nem automatikusan mentődnek, csak ha azt a leírt módon manuálisan kéri, továbbá hogy azonos fájlnev esetén a korábbi adatok felülíródnak! Az adatokat mentheti floppy lemezre is, így az adatok átvitele egy másik számítógépre egyszerűbb. A program alapbeállításai megfelelőek a végrehajtandó gyakorlathoz, azonban a következő kritikus paraméterek beállításairól feltétlenül győződjön meg („**Opciók**”): „Portcím: 888”, „Adatgyűjtési sebesség: 4 Hz”, „Adatgyűjtés időtartama: 900 s”, „Kell-e

kiigazítani az adatokat: igen”. A kromatogram kiértékelése során a jobb és baloldali kurzorral a kívánt csúcsot közre kell fogni (a „**TAB**” billentyűvel mindig válthatunk kis és nagy lépésközű kurzormozgatás között); ekkor a csúcs területét az „**Int korr**” (alapvonallal korrigált integrál) paraméter kijelzett értéke, míg retenciós idejét az „**Xmax**” értéke adja meg. A képernyő bal felső sarkában mindig a kurzorok helyének X és Y koordinátáit látja — ezeket az adatokat használhatja pl. a csúcsok félértékszelességének megállapításához. A program használatával ismerkedjen meg alaposan, mivel azzal más gyakorlatoknál is találkozni fog.

A kiadott minta mennyiségi és minőségi analízise. A kromatografálandó mintákat folyadékkromatográfiás fecskendővel juttatja majd be a hatutas adagoló szelepbe. Mindenképpen fontos megjegyeznie, hogy itt *nem használhat hegyes végű fecskendőt a mintabevitelhez!* A precíziós dugattyús üvegtestű fecskendőt mindig alaposan öblítse át a mérendő oldat több részletével. Levegőbuborékok beadagolását mindenképpen kerülje el, ezért a mintaoldatot mindig lassan szívja fel. Ha a fecskendőben mégis lát buborékot, azt pöcköléssel juttassa a fecskendő legfelső részébe, és a beadagoláskor a dugattyút csak addig nyomja előre, hogy a buborék már ne jusson be az adagoló szelepbe. Minta beadagolása az adagoló szelepbe annak „**Load**” állásában lehetséges; az erre szolgáló nyílásba szűrja be a fecskendőt és *lassan* tolja előre ütközésig. A fecskendő térfogata (100 µL) a mintahurok térfogatának (20 µL) többszöröse, a teljes fecskendőtartalom beadagolása nemcsak megtölti, hanem át is öblíti a mintahurkot. A fecskendőt célszerű a mérés idejére a szelepben hagynia.

A kromatográf bemelegedése, beállítása és a számítógépes adatgyűjtő program beállítása után először a legkisebb koncentrációjú kalibráló oldatot fecskendezze be az adagolószelepbe. Indítsa el a számítógépes adatgyűjtést, majd gyorsan, határozott mozdulattal fordítsa át az adagolószelep karját „**Inject**” állásba — ezzel a mérés elindult. Egy minta futási ideje nem több, mint 15 perc. Ez az idő az eluens összetételétől is függ; ha az első mérések során úgy találja, hogy jelentősen rövidebb idő alatt lejön az összes csúcs, akkor az adatgyűjtő programban a mérési időt csökkentheti. Értékelje ki a felvett kromatogramot, vagy mentse el a mérési adatokat gondosan, hogy azokat a mérési sorozat végén, később kiértékelhesse. Minden csúcs retenciós idejét, korrigált területét és talpszélességét (vagy félértékszélességét) kell leolvasnia. Az egyes csúcsok azonosítása a retenció alapján lehetséges: az elúciós sorrendet a vizsgált komponensek poláros jellege szabja meg (először a legpolárisabb komponens jön le az oszlopról). Az első kromatogram felvétele után az adagolószelepet forgassa ismét határozott mozdulattal, ütközésig a „**Load**” állásba, adagolja be és mérje meg a következő kalibráló oldatot, stb., végül az ismeretlen oldatot is mérje meg kétszer. Az új minták beadagolásával mindig várja meg, amíg az összes komponens „lejött az oszlopról”!

Feladata a retenciós idők egyezése alapján megállapítani az ismeretlen oldat minőségi és mennyiségi összetételét. A mennyiségi analízishez milliméterpapíron vagy számítógépen szerkesztett kalibrációs görbéket (egyeneseket) kell felvennie minden komponensre külön — ezek az adott komponens csúcsterületét ábrázolják a koncentráció függvényében.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Egy kalibrációs oldat kromatogramja kinyomtatva, csúcsazonosító feliratokkal ellátva
- A kromatográfiás csúcsok összes mért adatának táblázata
- Négy külön kalibrációs grafikon a négy kalibrált komponensre
- Az ismeretlen minta minőségi összetétele
- Az ismeretlen minta mennyiségi (mg/L) összetétele
- A kolonna elválasztóképességét jellemző elméleti tányérszám értéke egy kiválasztott kromatogram első csúcsának adatai alapján számítva

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mi a kromatográfiás módszerek működésének alapja?
2. Hogyan csoportosítjuk a kromatográfiás módszereket?
3. Milyen folyadékkromatográfiás detektortípusokat ismer és mi azok működési elve?
4. Mi hordozza a mennyiségi és minőségi analitikai információt egy kromatogramban?
5. Mit nevezünk holtidőnek illetve redukált retenciós időnek?
6. Mit értünk a homológ sorok módszerén a kromatográfiás minőségi analízisben?
7. Hogyan működik a hatutas adagolószelep?
8. Mit értünk fordított fázisú és normálfázisú kromatográfián?
9. A toluol vagy a m-krezol retenciós ideje lesz kisebb fordított fázisú HPLC mérés esetén?
10. Legalább mekkora a felbontása egy adott kromatográfiás eljárásnak, ha tudjuk, hogy a kromatogramon szomszédos 10 és 10,5 perc retenciós idejű két csúcs átfedése kisebb, mint átlagmagasságuk 5%-a?
(a helyes megoldás: 20,5)

GÁZKROMATOGRÁFIA

A GYAKORLAT CÉLJA: A modern gázkromatográfia (GC) módszerének tanulmányozása és alkalmazása alkohol-elegy minőségi analízisére.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

A műszeres analízis kromatográfias módszereinek feladata, hogy a minta komponenseit – legtöbbször szerves vegyületeket – egymástól elválassza. A módszer működésének alapja az, hogy a *mozgófázis*ba (amely gáz vagy folyadék lehet) kevert mintaelegyet szoros kontaktusba hozzuk egy azzal nem elegyedő másik fázissal, amelyet *állófázis*nak hívunk (egy lapra felvitt, vagy cső belsejében rögzített folyadék vagy szilárd halmazállapotú anyag). A mozgófázist (eluens) állandóan mozgásban tartva a mintaelegy komponensei az állófázissal való kölcsönhatásuk különböző mértéke miatt megfelelő kontaktidő után elkülönülnek egymástól. Amennyiben a rendszerben egy detektort helyezünk el, amely a mintakomponenseket képes megkülönböztetni a minta oldószerétől (pl. képzeljünk el egy vezetőképességi detektort annak a csőnek a kifolyó végére szerelve, amely az állófázist magában foglalja), akkor a detektorjel idő függvényében való ábrázolásakor a mintakomponenseket reprezentáló csúcssorozatot fogunk észlelni. Ezt a grafikont hívjuk *kromatogram*nak, a berendezést pedig *kromatográf*nak.

A kromatográfias módszereknek igen sokféle változata alakult ki, amelyek több szempont szerint is csoportosíthatók. Az egyik csoportosítás alapja, hogy az állófázis milyen kivitelezésű: ha az állófázist egy cső (oszlop, kolonna) belsejében helyezük el töltétként, vagy a cső belső falát vonjuk be azzal filmszerűen, akkor *oszlopkromatográfia*ról beszélünk, szemben a sík kivitelezésű állófázist alkalmazó *planáris kromatográfia*val. A gyakorlatban az oszlopkromatográfias módszerek túlnyomó többségben vannak. Egy másik szempont lehet, hogy a mintakomponensek és az állófázis között kialakuló kölcsönhatás természete milyen: ez lehet adszorpción, megoszláson, ioncsere egyensúlyon, stb. alapuló; ekkor rendre adszorpciós stb. kromatográfia-ról beszélünk. Egy további csoportosítás szerint a mozgófázis halmazállapotát tekintjük: eszerint *folyadékkromatográfia*t (liquid chromatography, LC) és *gázkromatográfia*t (gas chromatography, GC) különböztetünk meg.

A kromatográfias módszerek nagy előnye, hogy a mérési körülmények (az álló és mozgófázis minőségének és összetételének) alkalmas megválasztásával ezek a módszerek az elválasztandó komponensek igen széles körére alkalmazhatóak. Megfelelően érzékeny

detektor alkalmazásával pedig akár nyomnyi mennyiségű szerves vegyületek jelenléte is kimutatható vagy azok mennyisége meghatározható. Az is fontos tény, hogy a kromatográfok nemcsak kis anyagmennyiségek kezelésére, analitikai célokra, hanem nagy méretben, kimondottan az egyes szétválasztott komponensek összegyűjtése céljából is építhetők (*preparatív kromatográf*).

A kromatogramról leolvasható egyik legfontosabb adat az egyes kromatográfiás csúcsokhoz tartozó *retenciós idő* (= visszatartási idő, t_r), amely a mintának a mozgófázisba juttatásától a komponens detektor által mért maximális koncentrációjának (a megfelelő csúcs maximális értékének) a megjelenéséig eltelt idő. A retenció minden komponensre (minden kromatográfiás csúcsra) más és más, így a komponens anyagi minőségével függ össze. A retenciós időt azonban ritkán használjuk az anyagi minőség megállapítására, hiszen az magában foglalja azt az időt is, amely a mozgófázisnak a kromatográfon való áthaladásához szükséges (*holtidő*, t_m). Leggyakrabban ezért a retenciós idő és a holtidő különbségét képezzük, és az így kapott *redukált retenciós időt*:

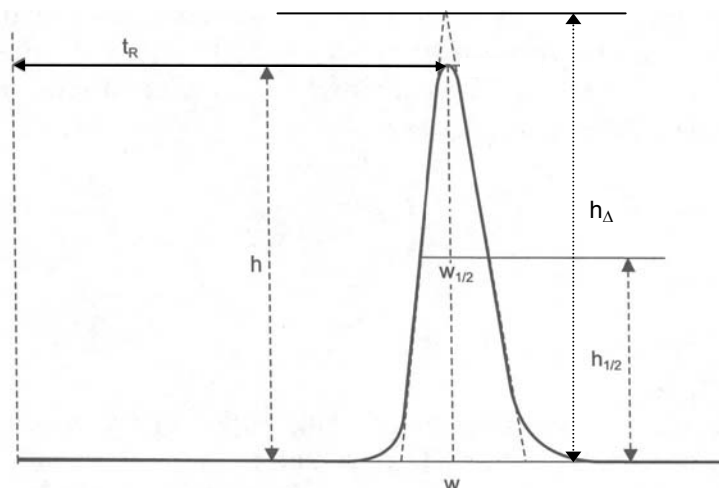
$$t'_r = t_r - t_m$$

vagy másképpen nettó retenciós időt használjuk az analízis során. A holtidő megállapítása például úgy lehetséges, hogy a mintánkhoz beadagolás előtt egy olyan komponenst adunk, amely a kolonnán nem kötődik meg, a detektorban azonban jelet szolgáltat (pl. poláris anyagok elválasztására szolgáló kolonna esetében egy apoláris komponenst), ennek a komponensnek a retenciós ideje közelítőleg a holtidővel egyenlő.

A kromatográfiás módszerek – elsősorban az alkalmazott oszlop – jellemzésére egyik leggyakrabban használt paraméter az *elméleti tányérszám* (N). A desztillációnál és extrakciónál használt ún. tányérelmélet alkalmazásával (ez az elmélet a desztillációs tornyokban ténylegesen meglévő szedőtányérokon lejátszódó folyamatokkal foglalkozik) és a kromatogram csúcsait a Gauss (normális) eloszlást követőnek feltételezve, a csúcs könnyen mérhető adatai alapján az elméleti tányérszámra a következő definíciós képlet adódik:

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_r}{W} \right)^2 = 5,54 \cdot \left(\frac{t_r}{W_{1/2}} \right)^2$$

ahol W a csúcs talpszélessége, $W_{1/2}$ pedig a csúcs félértékszélessége (**1. ábra**). Minél nagyobb N értéke egy adott kromatográfiás módszerre nézve, annál hatékonyabb az elválasztás, vagyis pl. adott idő alatt annál több komponenst tudunk elválasztani vagy másképpen két csúcs annál jobban elkülönül egymástól.



1. ábra. A kromatográfiás csúcsok néhány alapadata

A kromatogramban található információ minőségi analízisre is használható. A legegyszerűbb módszer egy adott kromatográfiás rendszeren mért redukált retenciós idők összehasonlítása ugyanazon a rendszeren mért ismert anyagok redukált retenciós időivel. Ez az összehasonlítás azonban nyilván nagyon hosszadalmas, különösen ha nem rendelkezünk semmilyen előzetes információval a minta összetevőiről. Ilyenkor ugyanis komoly bizonytalanságot okoz az azonosításban, hogy sokféle anyag adhat közeli retenciós idejű csúcsokat, amelyek a meghatározás körülményei mellett könnyen azonosnak tűnhetnek. Megbízhatóbbá tehetjük az ilyen összehasonlításon alapuló minőségi analízist, ha az összehasonlítást két különböző állófázist tartalmazó kolonnán is elvégezzük. A legmegbízhatóbb eljárás azonban egyértelműen az, amikor a kromatográfot szelektív detektorral látjuk el (pl. tömegspektrométer), ilyenkor ugyanis a detektor összetett, az adott komponens anyagi minőségére jellemző jelet (spektrum) szolgáltat. Az ilyen detektorokkal az átfedő kromatográfiás csúcsokat adó komponensek is kellő biztonsággal azonosíthatók.

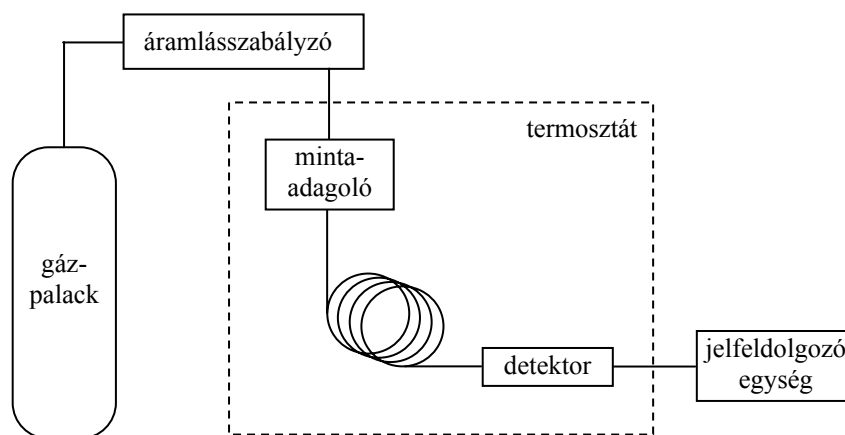
Eredményesen alkalmazható a gázkromatográfiás minőségi analízisben az ún. *homológ sorok módszere*. A tapasztalat szerint ugyanis a szénhidrogén-származékok homológ során belül a redukált retenciós idők a szénatomszámmal exponenciálisan növekednek. Ennek megfelelően a $\lg t'_R$ adatok ábrázolása a szénatomszám függvényében egy egyenest ad. Ezen a megfigyelésen alapul a *Kováts-féle retenciós index* (I_x) módszere is, amely az egyes komponensek retenciós adatait egy összetett képlet segítségével n-alkán homológok retenciójához viszonyítja, így a saját mérésekből származtatott ismeretlen komponens I_x indexét összehasonlítva adatbázisokban található értékekkel, lehetőség van az ismeretlen anyagi minőségének meghatározására.

A kromatográfiás mennyiségi analízis alapja a csúcsok területének (keskeny és hegyes csúcsok esetén a csúcsmagasság) arányossága a koncentrációval. Ismert koncentrációjú mintasorozat mérésével kalibrálva, vagyis kalibrációs görbe felvétele után az ismeretlen koncentrációja a görbéről visszaolvastva meghatározható. A csúcsterületek meghatározása

régebben vonalzó használatával manuálisan történt, ma azonban szinte kizárólag elektronikus integrátorokkal illetve számítógépes adatgyűjtő programok segítségével történik. A manuális kiértékelés alapjául a **1. ábrán** is látható adatok szolgálhatnak; a csúcs alatti területet a félértékszélesség alapján téglalappal ($W_{1/2} \cdot h$), vagy a csúcs oldalaihoz érintő egyenesek behúzásával, majd az így kialakuló háromszöggel ($h_{\Delta} \cdot W / 2$) közelíthetjük.

A gázkromatográfia mozgófázisa gáz, az állófázisa vagy felületen (legtöbbször kolonna belső felületén) kötött folyadék vagy szilárd anyag. A mintát, amely lehet bármilyen halmazállapotú, de leggyakrabban gáz vagy folyadék, gáz halmazállapotban juttatjuk a kolonnára — a folyadék vagy szilárd halmazállapotú mintákat tehát a mintabevitel során el kell párologtatni. Ebből következik, hogy a kolonnát és a detektort is olyan hőmérsékleten kell tartanunk (100-500°C), hogy a minta az analízis egész ideje alatt gáz halmazállapotú legyen. A gázkromatográfia tehát bomlás nélkül gázzá alakítható vegyületek elválasztására alkalmas. Megfelelő állófázis megválasztásával gyors, hatékony elválasztást biztosít mindazon vegyületek esetében, amelyek megfelelnek az előbbi feltételnek. A gázkromatográfok felépítésének általános sémáját a **2. ábra** mutatja.

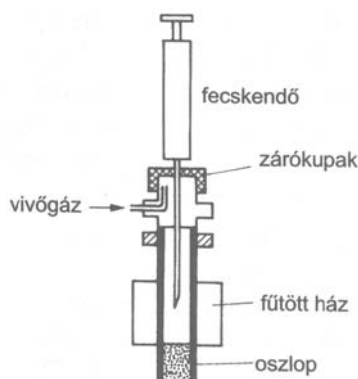
Az eluent, amelyet itt vivőgáznak nevezünk, rendszerint egy nagynyomású gázpalackból vesszük. A vivőgáz megválasztása leginkább a detektor függvénye: lángionizációs detektorhoz nitrogén vagy argon, hővezetőképességi detektorhoz leginkább hidrogén- vagy héliumgáz használatos. A gáz nyomáscsökkentő után, az áramlási sebesség folyamatos mérése mellett jut a kolonnára.



2. ábra. Egy gázkromatográf elvi felépítése

A mintaadagolás több okból is kritikus pontja a gázkromatográfiának. Egyfelől nem könnyű megoldani, hogy a minta elpárologtatása pillanatszerűen játszódjék le – márpedig a hatékony elválasztás alapfeltétele, hogy a minta egyszerre, minél gyorsabban kerüljön be az eluens áramlásba. Másfelől a kis térfogatú minták kezelése, reprodukálható adagolása is nagy körültekintést igényel. Ennek megfelelően többféle mintaadagoló rendszert is kidolgoztak. Ezek közül a legegyszerűbb megoldást a **3. ábra** mutatja be. Itt a minta beadagolása

közvetlenül a kolonna bemenetére szerelt, fűtött mintakamrába történik oly módon, hogy a kamra tetejét lezáró, gumiból készült zárókupakot (szeptum) átszúrjuk a precíziós, teflon dugattyús mintaadagoló fecskendővel. A szeptum feladata a fecskendő kihúzásakor újból lezárni a kamrát.



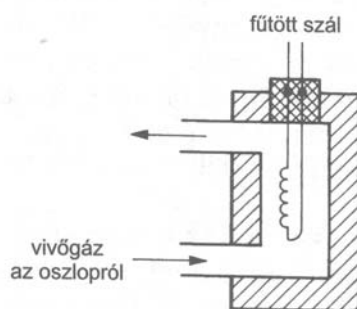
3. ábra. Mintaadagolás közvetlenül a kolonnára

Az elválasztást végző kolonna acél- vagy üvegcsőből készül. Külső megjelenését tekintve kétféle lehet: 2-6 mm belső átmérőjű, töltetet tartalmazó ún. töltetes kolonna, vagy 0,2-0,5 mm átmérőjű, a megosztó fázist belső falán vékony filmként felhordottan tartalmazó kapilláris kolonna. A *töltetes oszlopok* hordozó töltete megfelelő mechanikai szilárdságú, nagy fajlagos felületű és kémiai inert anyag (diatóma föld, polimerek, stb.), amelynek a felületén egyenletes filmet képezve jól tapad a megosztófolyadék. A megosztófolyadékot alkalmas oldószerben feloldják, az oldatba belekeverik a szilárd hordozót, majd lassan elpárologtatják az oldószert. Az ily módon előkészített állófázissal töltik meg a kolonnát. Készíthető még töltetes kolonna szilárd adszorbenssel (pl. aktív szén, alumínium-oxid, szilikagél) való megtöltés útján is. A töltetes kolonnák az előállítás nehézsége miatt viszonylag rövidek (1-5 m), ellenállásuk a vivőgázáramlással szemben viszonylag nagy, azonban kapacitásuk nagy, ezért nagyobb (pár μL) mintamennyiséggel dolgozhatunk velük. A *kapilláris kolonnákban* nincs hordozó, a megosztófolyadékot közvetlenül a cső belső falára viszik fel. Az egyszerűbb, de kevésbé tartós eljárás során a folyadékot oldószerben oldják, majd nyomás alatt átréselik a 15-60 m hosszú kapillárison. A modern kapilláris kolonnákban a megosztófolyadékot valamilyen kémiai kötással (gyakran szilanizálással) rögzítik a cső belső falához, ezzel megakadályozva annak „lehordását” (a vivőgázzal való lassú kiürülését), ami a kolonna élettartamát megrövidítené. A kapilláris kolonnák hosszúsága nagy, így elméleti táányerszámuk kimagasló, 50000-100000 is lehet. Használatukat megnehezíti azonban, hogy kapacitásuk kicsi, ezért igen kis mintamennyiség (a μL törtrésze) adagolható be rájuk.

A megosztófolyadékot az elválasztó komponensek anyagi minőségi, kémiai jellemzői alapján választjuk meg. Poláros mintakomponensekhez pl. szintén poláros polietilén-glikolok (Carbowax, DB-WAX, stb.), míg apoláris komponensekhez pl. polipropilén használható. Fontos szempont kiválasztásukkor, hogy az analízis során szükséges kolonnahőmérsékleten kevésbé párologjanak.

A kolonnán elválasztott komponenseket a vivőgáz a detektorba juttatja, amely a komponensek vivőgázbeli koncentrációjával arányos elektromos jelet ad. Sokféle, a mintakomponensek különböző kémiai és fizikai jellemzőjének mérésén alapuló detektort fejlesztettek ki – ezek közül az alábbiakban csak a két legelterjedtebbéről lesz szó.

A *hővezetőképességi detektor* (TCD, katarométer) érzékelője egy kis térfogatú cellában elhelyezett, elektromosan fűtött fémszál (**4. ábra**). A fűtött fémszál ellenállása hőmérsékletével arányos, hőmérséklete azonban a körülötte áramló gáz hővezetőképességétől fog függni. Tiszta vivőgáz (hidrogén vagy hélium) áramlásakor, az analízis kezdetén egy adott ellenállásértéket mér a hozzákapcsolt elektromos műszer, azonban rosszabb hővezetőképességű gáz – vagyis a mintakomponensek gőzének – detektorba jutásakor a szál kevésbé hűl le, így ellenállása nő. A hővezetőképességi detektor univerzális, a vivőgázon kívül mindent mérni képes detektor (vagyis nem szelektív), amely 3-5 koncentrációs nagyságrenden keresztül lineáris válaszjelet ad. Kimutatási képessége ugyanakkor nem kiemelkedő; kb. 1 µg.



4. ábra. A hővezetőképességi detektor elvi felépítése

A *lángionizációs detektor* egy másik, igen elterjedten alkalmazott gázkromatográfias detektortípus. Ez tulajdonképpen egy kisméretű hidrogén/levegő gázeleggyel táplált láng, amely fölé elektródpárt helyeznek el. Ezen két elektród közé olyan feszültséget kapcsolnak, amelyen még nem keletkezik szikrakísülés az igen nehezen ionizálható vivőgázáramlásban (nitrogén vagy argon). A kolonnát elhagyó szerves komponensek a lángban oxigén közreműködésével ionizálódnak. Az ionok képződése hatására a két elektród között gyenge áram folyik, amely erősítés után mérhető, és a mintakomponens koncentrációjával arányos nagyságú lesz. Ez a detektor igen érzékeny, mintegy 10^{-11} g anyag kimutatására alkalmas, linearitása valamivel jobb, mint a hővezetőképességi detektoré.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

Kis szénatomszámú n-alkohol és i-alkohol elegyek (szeptumos üvegedényben)

Metanol (szeptumos üvegedényben)

Nitrogén gázpalack (vivőgáz)

1 db 10 µL-es üvegtestű precíziós GC fecskendő (a minta beadagolásához)

1 db üveg csésze (a hulladék számára)

papír törlőkendő

Agilent 6820 típusú gázkromatográf hővezetőképességi detektorral és DB-WAX

(poláris) kapilláris kolonnával

Számítógépes adatgyűjtő hardver és szoftver

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

Az Agilent 6820 típusú kromatográf üzembeállítása. A GC berendezések precíziós, viszonylag kényes és drága berendezések, ezért nagy körültekintéssel dolgozzon. Ha bizonytalan valamiben, kérjen tanácsot a gyakorlatvezetőtől!

A gázkromatográf légtermosztátjának stabil működése jelentős bemelegedési időt igényel, a hővezetőképességi detektor pedig vivőgáz áramlása nélkül nem működtethető annak károsodása nélkül. Az elmondottak miatt igen valószínű, hogy a gázkromatográfot a gyakorlat kezdetekor már bekapcsolt állapotban találja, és a nitrogén vivőgáz is áramlik már. Ha ez mégsem így történne, akkor a gyakorlatvezető segítségét kérve a lehető leghamarabb üzembe kell állítania a műszert. Ehhez előbb meg kell nyitni a gázpalack fő szelepét, és a reduktoron kb. 5 bar szekunder oldali gáznyomást beállítani. A GC jobb oldalának alján található főkapcsolóval áram alá helyezzük a műszert; a berendezés ekkor önellenőrző rutinokat lefuttatva elindul. Néhány perc várakozás után a GC baloldalán található nyomásmérő műszeren („**Purged packed**”) a mutató kismértékű kitérését figyelheti meg; a kb. 0,06 MPa érték beállása a gázáramlás stabilizálódását jelzi.

A berendezés belsejében a nitrogéngáz áramlást négy részre osztódik. Ezen gázáramlások értékén nem kell változtatnia, érdemes ismernie azonban azok funkcióját, amelyek rendre a következők. A „**Purged packed**” fix, kis sebességű gázáramlás feladata a szeptum alsó részének öblítése, hűtése a szeptum élettartamának növelése érdekében. Az egyik természetesen a vivőgáz áramlás, amelynek sebessége most kb. 4 mL/perc. A „**REF**” gázáramlás (a készülék bal felső sarkában van a szabályzója) a TCD érzékelő működéséhez szükséges; ennél a GC berendezésnél ugyanis a TCD érzékelő felváltva méri a referencia ágban folyó, tiszta nitrogén gázáramlás hővezetőképességét („**REF**”, értéke kb. 28.5 mL/perc) és a kolonnáról érkező, mintakomponensekkel elkeveredett vivőgáz hővezetőképességét. A két mért érték közötti különbség adja az analitikai jelet. A kétféle, detektorba felváltva jutó

gázáramlás váltogatását egy mágnesszelep vezérli. Szintén a detektor működésével függ össze az „**AUX**” gázáramlás (jelen esetben sebessége kb. 6 mL/perc, szabályzója szintén a GC frontoldalának bal felső sarkában található), amely a kolonna után csatlakozik a vivőgázhoz; ennek általános feladata az, hogy szükség esetén a detektorba jutó gázáramlás sebességét meg lehessen növelni a vivőgáz áramlás sebességénél nagyobbra is. Ha meggyőződött a gáz áramlásáról a „**Purged packed**” mérőműszer mutatójának megfigyelésével, bekapcsolhatja a GC fűtését. Ezt egyszerűen a fűtési program („**Method**”) behívásával teheti meg, amihez a „**Load**” billentyűt, majd a műszer képernyőjén megjelenő angol nyelvű utasításokat követve az „**1**” és „**Enter**” billentyűket kell megnyomnia (a fűtési programot **Method 1** néven mentettük el előzetesen).

A légtermosztát ventillátorának felzúgása ekkor azt jelzi, hogy a berendezés felfűtése megindult. A felfűtés előrehaladását a képernyőn is figyelemmel kísérheti. Ha az „**Oven**” feliratú nyomógombot nyomja meg, akkor a légtermosztát (kolonna) pillanatnyi és célhőmérsékletét láthatja Celsius fokban. A „**Front inlet**” gomb megnyomásával a mintabeviteli port hőmérsékletét, a „**Front det**” gombbal pedig a TCD detektor hőmérsékletét jeleztetheti ki. A képernyőn megjelenő adatokból megállapíthatja, hogy a jelen fűtési programban a detektor és mintabeviteli port célhőmérséklete 150 °C, míg a légtermosztát kezdeti hőmérséklete 50 °C. Ha minden részegység elérte a program szerinti kezdőhőmérsékletet és az stabilizálódott, elalszik a GC frontoldalán, a kijelző alatt a „**Not ready**” feliratú lámpa. Ekkor bekapcsolhatja a detektor fűtőszálát is (az állapotot a „**Front det**” menü „**Filament**” sorában változtathatja meg). Ne feledje, hogy a detektort nem szabad bekapcsolni, ha nem áramlik a nitrogéngáz! Ezzel a GC berendezést mérőkész állapotba hozta; a fenti előkészületek 15-20 percet igényelnek.

A számítógépes adatgyűjtő használata. A mérési adatok gyűjtését és kiértékelését számítógéppel, egy „*Digitális rekorder*” nevű program segítségével fogja végezni. Ne felejtse el ellenőrizni, hogy a mérésadatgyűjtő elektronika tápegysége is be van dugaszolva a hálózati aljzatba. A program a számítógép bekapcsolása után automatikusan elindul. A szoftver használata egyszerű: a képernyő alsó sorában olvasható a kiadható parancsok listája az aktiváló billentyűk nevével — pl. a „**Súgó**” (F1 gomb) röviden összefoglalja a program főbb funkcióit. Az alapkoncepció az, hogy az „**Opciók**” (F4 gomb) menüben beállítjuk az adatgyűjtés körülményeit (pl. adatgyűjtési sebesség, adatgyűjtési időtartam, stb.), majd a „**Mérés**” (F5 gomb) parancs kiadásával megkezdődik a mérés: a mért adatok mind számszerűen, mind grafikusan nyomonkövethetők. Az adatgyűjtés az „**Esc**” billentyű megnyomására vagy az előre beállított időtartam elteltével fejeződik be. Ekkor a „**Kiértékelés**” (F6 gomb) parancsot kiadva részleteiben is megtekinthetjük a rögzített kromatogramot és két kurzor mozgatásával a kromatogram egyes részeit integrálhatjuk, csúcsmagasságokat és retenciós időket olvashatunk le. A mért lemezen is tárolhatók (ASCII formátum), illetve azok visszatölthetők a programba. Ha a mért adatokat el szeretné tárolni, akkor minden egyes kromatogram felvétele után ne felejtse el az „**Opciók**” menüpont alatt beállítani a kívánt mentési útvonalat és fájlnevet (a könyvtárnevek és a fájlnevek 8 karakterből és 3 karakteres kiterjesztésből állhatnak!), majd kiadni a főmenüből a „**Mentés**”

parancsot. Ne feledje, hogy az adatok nem automatikusan mentődnek, csak ha azt a leírt módon manuálisan kéri, továbbá hogy azonos fájlnev esetén a korábbi adatok felülíródnak! Az adatokat mentheti floppy lemezre is, így az adatok átvitele egy másik számítógépre egyszerűbb. A program alapbeállításai megfelelőek a végrehajtandó gyakorlathoz, azonban a következő kritikus paraméterek beállításairól feltétlenül győződjön meg („**Opciók**”): „Portcím: 888”, „Adatgyűjtési sebesség: 4 Hz”, „Adatgyűjtés időtartama: 500 s”, „Kell-e kiigazítani az adatokat: igen”. A kromatogram kiértékelése során a jobb és baloldali kurzorral a kívánt csúcsot közre kell fogni (a „**TAB**” billentyűvel mindig válthatunk kis és nagy lépésközű kurzormozgatás között); ekkor a csúcs területét az „**Int korr**” (alapvonallal korrigált integrál) paraméter kijelzett értéke, míg retenciós idejét az „**Xmax**” értéke adja meg. A képernyő bal felső sarkában mindig a kurzorok helyének X és Y koordinátáit látja — ezeket az adatokat használhatja pl. a csúcsok félértékszelességének megállapításához. A program használatával ismerkedjen meg alaposan, mivel azzal más gyakorlatoknál is találkozni fog.

A kiadott minta minőségi analízise. A kiadott minta minőségi összetételét ismert anyagok redukált retenciós idejével való összehasonlítás révén fogja megállapítani. A mintákat beépített szeptummal ellátott, csavaros tetejű speciális üvegedényekben kapja meg; ezeket értelemszerűen nem kell felnyitnia, hanem a szeptumon keresztül veszi ki a mérendő részletet a fecskendővel. Ne feledje, hogy minden mintája metanolt tartalmaz oldószerként.

A minőségi azonosítás céljából először a kapott ismert összetételű alkoholelegyet (ezt az STD feliratú üvegedényben találja) kell futtatnia, megállapítva az egyes vegyületek retenciós idejét. Az elúciós sorrend a forráspont növekedésének megfelelő, így először a metanol csúcsa érkezik majd (intenzitása természetesen túl nagy lesz, így ennek retenciós idejét csak becsülni tudja majd), majd az etanol, n-propanol, i-butanol, n-butanol, i-amilalkohol, végül a n-amilalkohol csúcsa. Mivel pontosabb eredményekhez jut, ha az azonosításhoz redukált retenciós adatokkal dolgozik, ezért minden folyadékmintát levegővel együtt juttassa be a kromatográfbba. A levegő apoláris karakterű komponensei gyakorlatilag nem kötődnek meg a poláris anyagok elválasztására kialakított kolonnán, ezért a levegőcsúcs fog legelőször feltűnni a kromatogramon; ennek retenciós ideje kb. egyenlő a holtidővel.

A minták pontos beadagolása érdekében kövesse pontosan a következő útmutatót. A 10 µL-es gázzáró precíziós GC fecskendőt először alaposan (pl. háromszor) átöblíti a metanollal, majd a dugattyú hátrahúzásával a tüben maradó kb. 0,6 µL metanol mögé 1-2 µL levegőt szív. Ezután az 1 µL mintaoldatot úgy szívja fel, hogy ismét figyelembe veszi a tű saját térfogatát (skálán csak a 0,4 µL osztásig kell felszívni a mintát). Egy papírtörlővel óvatosan leitathatja a fecskendő tűjéről a felesleges mintacseppeket, majd a dugattyú hátrahúzásával még 4-5 µL levegőt is felszív a fecskendőbe. A fecskendőben ezek után tehát a következő fázisokat kell látnia: 4-5 µL levegő, 1 µL minta, 1-2 µL levegő, végül kb. 0,6 µL metanol. Most elindíthatja a számítógépes mérésadatgyűjtést („**F5**”), majd a fecskendő tűjét szúrja a GC tetején található, zöld színű fém körgallérral körülvett mintaadagoló port szeptumjába ütközésig, óvatosan (*vigyázzon, mert a precíziós fecskendő drága és kényes eszköz, a fémgallér pedig forró!*). Ekkor a fecskendő üvegtestét egyik kezével megtámasztva,

a dugattyú határozott, gyors, ütközésig való lenyomásával befecskendezi a mintát, lenyomja a GC frontoldalán a „**Start**” gombot és kihúzza a fecskendő. Ekkor a GC előlapján kigyullad a zöld színű „**Run**” lámpa, a fűtési program elindul és a kromatogram adatgyűjtése lezajlik.

Nem árt, ha tudja, hogy a jelen munkánál alkalmazott fűtési program (az „**Oven**” gombbal lehívhatja a képernyőre) azt írja elő, hogy a légtermosztát kezdeti 50 °C hőmérséklete („**Temp**”) 1 percig állandó („**Init. time**”), majd 25 °C/perc felfűtési sebességgel („**Rate 1**”) felmegy 150 °C-ra („**Final temp 1**”) és ott marad 3 percig („**Final time 1**”). A futtatási idő (fűtési program) letelte után a műszer automatikusan megkezd a légtermosztát visszahűtését a kezdeti hőmérsékletre, amit a „**Run**” lámpa kialvása és a „**Not ready**” jelzés megjelenése jelez. A teljes futási idő kb. 8 perc, aminek előrehaladását a „**Time**” nyomógomb megnyomására megjelenő adatokból ellenőrizheti. A lehűlés ideje kb. 5 perc. Mindig várja meg, amíg elalszik a „**Not ready**” jelzés, vagyis a berendezés ismét mérőképes állapotba kerül, mielőtt új mintát ad be! Ne felejtse el a felvett kromatogramokat vagy elmenteni, vagy kiértékelni, mielőtt új mintát futtat. Jegyezze fel minden csúcs retenciós idejét, korrigált területét és talpszélességét (vagy közelítő félértékszélességét); a levegőcsúcs esetében csak a retenciós időre van szüksége.

Összesen legalább 3 futtatást végezzen mind az STD, mind az ismeretlen minta esetében. Az első futtatás próbának tekintendő, hiszen szükséges lehet az alapvonal szintjét vagy a detektor érzékenységet beállítani. Az alapvonal korrigálása úgy történik, hogy a „**Signal 1**” nyomógommbal lehívható menüben a nyíl gombokkal a kurzort a „**Zero**” sorra viszi, majd ott megnyomja az „**On**” gombot. Az ebben a menüben található „**Range**” paraméter értéke szabja meg a detektorjel gyengítésének mértékét; a detektorjel leosztása kettőnek itt megadott nem negatív kitevőjű hatványával történik (pl. 3 érték esetén $2^3 = 8$ az osztó). A paraméter célszerű értéke 0. Ha szükséges, ellenőrizze azt is, hogy a „**Front det**” menüben a „**Neg. polarity**” értéke „**On**” állásban legyen. A fenti beállításokat természetesen csak olyankor végezze, amikor nem fut minta. A cél természetesen az, hogy a lehető legnagyobb, de az adatgyűjtő méréshatárába még beleférő jeleket (< 375 mV) kapjunk minden mintakomponensre, kivéve a metanolt.

A GC berendezés kikapcsolását mindenképpen bízza a gyakorlatvezetőjére, ugyanis a nagyon drága TCD detektor hosszú élettartamának biztosítása érdekében fontos szabály, hogy a gázáramlásnak fenn kell maradnia, amíg a detektor 70-80 °C alá le nem hűlt. Éppen ezért a kikapcsolás sorrendje az, hogy lekapcsoljuk minden részegység fűtését („**Oven**”, „**Front inlet**”, „**Front det**”) és a detektor fűtőszálát is („**Filament**”), majd mindaddig várunk a detektor hőmérsékletét figyelve, amíg az a fenti hőmérséklet alá nem hűlt. Ez a detektor jó hőszigetelése miatt 45-60 percet is igénybe vehet! Ezután kapcsolhatjuk le a főkapcsolójával a gázkromatográfot és zárhatjuk el a gázpalackot. Ne felejtjük el kikapcsolni a számítógépet és a mérésadatgyűjtőt sem.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Az STD és az ismeretlen minta egy-egy kromatogramja kinyomtatva, csúcsazonosító feliratokkal ellátva
- Az STD és az ismeretlen minta kromatogramjában mért csúcsok összes mért adatainak táblázata
- Az ismeretlen minta minőségi összetétele
- A kolonna elválasztóképességét jellemző elméleti tányérszám értéke az egyik minta kromatogram utolsó komponensének csúcsadatai alapján számítva
- A redukált retenciós idők logaritmusának ($\log_{10}$) az alkoholok egy homológ során belül a szénatomszámmal való változásának grafikonja

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mi a kromatográfias módszerek működésének alapja?
2. Hogyan csoportosítjuk a kromatográfias módszereket?
3. Milyen főbb gázkromatográfias detektortípusokat ismer, és mi azok működési elve?
4. Mi hordozza a mennyiségi és minőségi analitikai információt egy kromatogramban?
5. Hogyan számítjuk ki az elméleti tányérszám értékét, és mi ennek jelentése?
6. Mit értünk a homológ sorok módszerén a kromatográfias minőségi analízisben?
7. Melyek a gázkromatográfiában használt töltetes és a kapilláris oszlopok közötti főbb különbségek (előnyök/hátrányok)?
8. Hogyan működik és milyen tulajdonságai vannak a hővezetőképességi detektornak?
9. A n-butanol vagy az i-butanol retenciós ideje lesz kisebb egy DB-WAX kolonnán?
10. Egy kromatográfias mérés során egy vegyület retenciós ideje $t_r = 4,00$ perc. A kolonna elméleti tányérszáma $N = 75000$. Számítsuk ki, hogy hány csúcs helyezkedhet el átfedés nélkül a kromatogram 3,50 és 4,50 perc közötti részén! A csúcshélességet tekintsük állandónak!
(a helyes megoldás: 17)

IONKROMATOGRÁFIA

A GYAKORLAT CÉLJA: A nagyhatékonyságú ionkromatográfia módszerének tanulmányozása és alkalmazása szerves anionok mennyiségi és minőségi analízisére vizes oldatban.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

A műszeres analízis kromatográfias módszereinek feladata, hogy a minta komponenseit – legtöbbször szerves vegyületeket – egymástól elválassza. A módszer működésének alapja az, hogy a *mozgófázis*ba (amely gáz vagy folyadék lehet) kevert mintaelegyet szoros kontaktusba hozzuk egy azzal nem elegyedő másik fázissal, amelyet *állófázis*nak hívunk (egy lapra felvitt, vagy cső belsejében rögzített folyadék vagy szilárd halmazállapotú anyag). A mozgófázist (eluens) állandóan mozgásban tartva a mintaelegy komponensei az állófázissal való kölcsönhatásuk különböző mértéke miatt megfelelő kontaktidő után elkülönülnek egymástól. Amennyiben a rendszerben egy detektort helyezünk el, amely a mintakomponenseket képes megkülönböztetni a minta oldószerétől (pl. képzeljünk el egy vezetőképességi detektort annak a csőnek a kifolyó végére szerelve, amely az állófázist magában foglalja), akkor a detektorjel idő függvényében való ábrázolásakor a mintakomponenseket reprezentáló csúcssorozatot fogunk észlelni. Ezt a grafikont hívjuk *kromatogram*nak, a berendezést pedig *kromatográf*nak.

A kromatográfias módszereknek igen sokféle változata alakult ki, amelyek több szempont szerint is csoportosíthatók. Az egyik csoportosítás alapja, hogy az állófázis milyen kivitelezésű: ha az állófázist egy cső (oszlop, kolonna) belsejében helyezzük el töltésként vagy a cső belső falát vonjuk be azzal filmszerűen, akkor *oszlopkromatográfia*ról beszélünk, szemben a sík kivitelezésű állófázist alkalmazó *planáris kromatográfia*val. A gyakorlatban az oszlopkromatográfias módszerek túlnyomó többségben vannak. Egy másik szempont lehet, hogy a mintakomponensek és az állófázis között kialakuló kölcsönhatás természete milyen: ez lehet adszorpción, megoszláson, ioncsere egyensúlyon, stb. alapuló; ekkor rendre adszorpciós stb. kromatográfia-ról beszélünk. Egy további csoportosítás szerint a mozgófázis halmazállapotát tekintjük: eszerint *folyadékkromatográfia*t (liquid chromatography, LC) és *gázkromatográfia*t (gas chromatography, GC) különböztetünk meg. Az *ionkromatográfia* a folyadékkromatográfia azon módszere, amelynél az elválasztás az álló- és mozgófázis közötti ioncsere-egyensúlyon alapul. Ennek megfelelően ionok (szerves- és szervesetlen ionok)

elválasztására alkalmas. A kromatográfiás módszerek nagy előnye, hogy a mérési körülmények (az álló és mozgófázis minőségének és összetételének) alkalmas megválasztásával ezek a módszerek az elválasztandó komponensek igen széles körére alkalmazhatóak. Megfelelően érzékeny detektor alkalmazásával akár nyomnyi mennyiségű vegyület jelenléte is kimutatható vagy azok mennyisége meghatározható. Az is fontos tény, hogy a kromatográfok nemcsak kis anyagmennyiségek kezelésére, analitikai célokra, hanem nagy méretben, kimondottan az egyes szétválasztott komponensek összegyűjtése céljából is építhetők (*preparatív kromatográf*).

A kromatogramról leolvasható egyik legfontosabb adat az egyes kromatográfiás csúcsokhoz tartozó *retenciós idő* (= visszatartási idő, t_r), amely a mintának a mozgófázisba juttatásától a komponens detektor által mért maximális koncentrációjának (a megfelelő csúcs maximális értékének) a megjelenéséig eltelt idő. A retenció minden komponensre (minden kromatográfiás csúcsra) más és más, így a komponens anyagi minőségével függ össze. A retenciós időt azonban ritkán használjuk az anyagi minőség megállapítására, hiszen az magában foglalja azt az időt is, amely a mozgófázisnak a kromatográfon való áthaladásához szükséges (*holtidő*, t_m). Leggyakrabban ezért a retenciós idő és a holtidő különbségét képezzük, és az így kapott *redukált retenciós időt*:

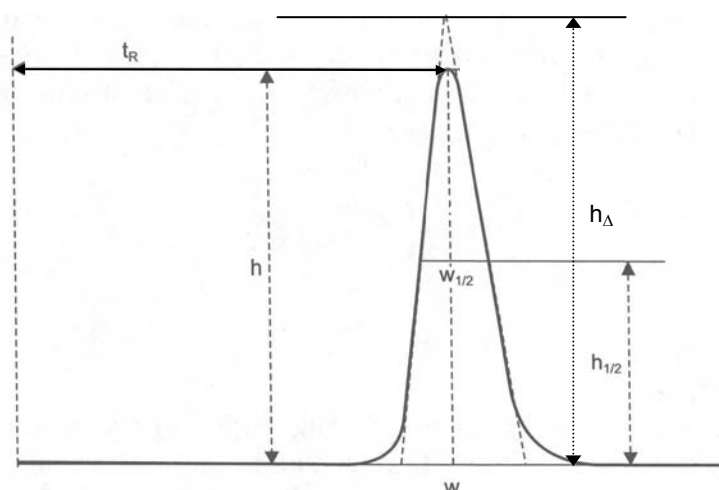
$$t'_r = t_r - t_m$$

vagy másképpen nettó retenciós időt használjuk az analízis során. A holtidő megállapítása például úgy lehetséges, hogy a mintánkhoz beadagolás előtt egy olyan komponenst adunk, amely a kolonnán nem kötődik meg, a detektorban azonban jelet szolgáltat (pl. poláris anyagok elválasztására szolgáló kolonna esetében egy apoláris komponenst), ennek a komponensnek a retenciós ideje közelítőleg a holtidővel egyenlő.

A kromatográfiás módszerek – elsősorban az alkalmazott oszlop – jellemzésére egyik leggyakrabban használt paraméter az *elméleti tányérszám* (N). A desztillációnál és extrakciónál használt ún. tányérelmélet alkalmazásával (ez az elmélet a desztillációs tornyokban ténylegesen meglévő szedőtányérokon lejátszódó folyamatokkal foglalkozik) és a kromatogram csúcsait a Gauss (normális) eloszlást követőnek feltételezve, a csúcs könnyen mérhető adatai alapján az elméleti tányérszámra a következő definíciós képlet adódik:

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_r}{W} \right)^2 = 5,54 \cdot \left(\frac{t_r}{W_{1/2}} \right)^2$$

ahol W a csúcs talpszélessége, $W_{1/2}$ pedig a csúcs félértékszélessége (**1. ábra**). Minél nagyobb N értéke egy adott kromatográfiás módszerre nézve, annál hatékonyabb az elválasztás, vagyis pl. adott idő alatt annál több komponenst tudunk elválasztani vagy másképpen két csúcs annál jobban elkülönül egymástól.



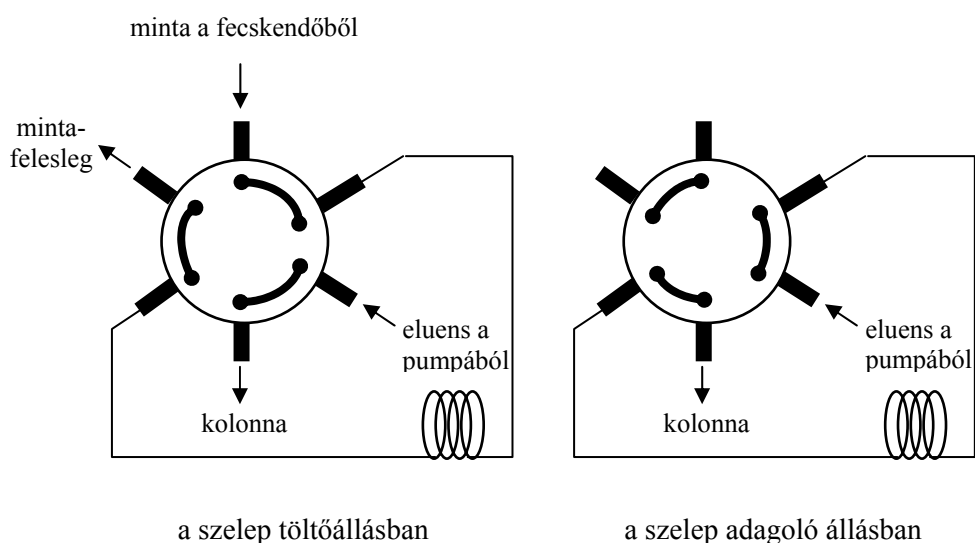
1. ábra. A kromatográfiás csúcsok néhány alapadata

A kromatogramban található információ minőségi analízisre is használható. A legegyszerűbb módszer egy adott kromatográfiás rendszeren mért redukált retenciós idők összehasonlítása ugyanazon a rendszeren mért ismert anyagok redukált retenciós időivel. Ez az összehasonlítás azonban nyilván nagyon hosszadalmas, különösen ha nem rendelkezünk semmilyen előzetes információval a minta összetevőiről. Ilyenkor ugyanis komoly bizonytalanságot okoz az azonosításban, hogy sokféle anyag adhat közeli retenciós idejű csúcsokat, amelyek a meghatározás körülményei mellett könnyen azonosnak tűnhetnek. Megbízhatóbbá tehetjük az ilyen összehasonlításon alapuló minőségi analízist, ha az összehasonlítást két különböző állófázist tartalmazó kolonnán is elvégezzük. A legmegbízhatóbb eljárás azonban egyértelműen az, amikor a kromatográfot szelektív detektorral látjuk el (pl. tömegspektrométer), ilyenkor ugyanis a detektor összetett, az adott komponens anyagi minőségére jellemző jelet (spektrum) szolgáltat. Az ilyen detektorokkal az átfedő kromatográfiás csúcsokat adó komponensek is kellő biztonsággal azonosíthatók.

A kromatográfiás mennyiségi analízis alapja a csúcsok területének (keskeny és hegyes csúcsok esetén a csúcsmagasság) arányossága a koncentrációval. Ismert koncentrációjú mintasorozat mérésével kalibrálva, vagyis kalibrációs görbe felvétele után az ismeretlen koncentrációja a görbéről visszaolvasva meghatározható. A csúcsterületek meghatározása régebben vonalzó használatával manuálisan történt, ma azonban szinte kizárólag elektronikus integrátorokkal illetve számítógépes adatgyűjtő programok segítségével történik. A manuális kiértékelés alapjául a **1. ábrán** is látható adatok szolgálhatnak; a csúc alatti területet a félértékszélesség alapján téglalappal ($w_{1/2} \cdot h$), vagy a csúc oldalaihoz érintő egyenesek behúzásával, majd az így kialakuló háromszöggel ($h_{\Delta} \cdot w / 2$) közelíthetjük.

Az ionkromatográfia, amint azt már megemlítettük, a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ioncsere egyensúlyon alapuló változata. A HPLC technika nagy hatékonyságú és igen gyors analíziseket tesz lehetővé: akár tucatnyi komponens is elválasztható egy perc alatt. A hatékonyság növelését a speciális megosztófázisok alkalmazása mellett igen apró

szemcseméretű – és így nagy fajlagos felületű – töltetek készítésével érték el. Az ionkromatográfiában felületi pórusos réteget tartalmazó ioncserélő műgyanta töltetek alkalmazásával valósítják meg. Kationok elválasztására kationcserélő töltetű oszlopot (pl. szulfonsav funkciós csoportokkal) és eluensként erős savak (pl. salétromsav) híg oldatát, míg az anionok elválasztására értelemszerűen anioncserélő oszlopot (pl. kvaterner amin funkciós csoportokkal) és eluensként bázisos oldatot (pl. Na-karbonát, Na-benzoát) használnak. Az apró töltetszemcsék azonban igen tömören helyezkednek el a kolonnában, ami jelentősen megnöveli annak áramlási ellenállását. Ennek következtében a mozgófázis áramoltatása csak nagy (100-500 bar, vagyis 10^7 Pa nagyságrendű) nyomással, különleges szerkezeti anyagból készülő és kémiaileg ellenálló, költséges dugattyús folyadékpumpákkal lehetséges. A nagy nyomáson való működés további követelményeket támaszt a felhasznált folyadékokkal és a mintaadagolóval szemben is. Az eluens és a minta sem oldott gázokat, sem apró szemcsés szennyeződések nem tartalmazhat; az előbbiek a detektorban felszabadulva a jel pulzálását idézhetik elő, míg az utóbbiak a töltetszemcsék közötti, mikrométernél kisebb járatokat eltömítik. Így az eluenseket és a mintát 0,2-0,45 µm-es pórusméretű szűrőn való vákuumszűréssel és az eluens esetében még ultrahangos kirázással szokás előkészíteni a használatra. A tipikusan 5-100 µL térfogatú minták beadagolása csak speciális segédeszközzel, adagolószeleppel (2. ábra) történhet.



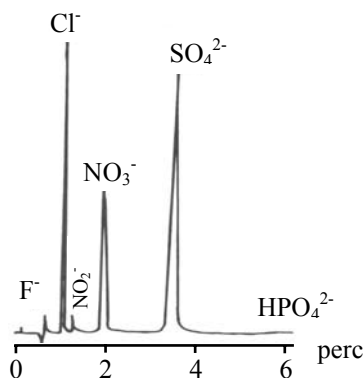
2. ábra. Egy hatutas HPLC adagolószelep működése

Ezek az adagolók két, egymáshoz szorosan illeszkedő, elfordítható korongot tartalmaznak, amelyek közül az elülsőn három vékony vajat formájában két-két szomszédos bemeneti nyílást összekötő csatorna található. A szelep elülső korongjának egy külső karral 60°-al való elfordítása hatására ezen vajakok más belső összeköttetést valósítanak meg. Töltőállásban a mintaoldat egy mikroliterfecskendővel (ez a fecskendő a gázkromatográfiában használatossal ellentétben nem hegyes, hanem tompa végű!) juttatható be a fecskendőnyíláson át. A feleslegben beadagolt oldat megtölti és átöblíti a rögzített térfogatú mintahurkot,

miközben a pumpa tiszta eluent pumpál a kolonnára. A szelep adagoló állásba helyezésekor a belső vájatok elcsúszása révén az áramlási viszonyok úgy változnak meg, hogy ekkor a pumpált eluensáramlás kimossa a mintahurok tartalmát, rájuttatva azt a kolonnára. Az ionkromatográfok technikai felépítése tehát gyakorlatilag azonos a HPLC berendezésekkel; az elválasztott komponensek detektálása pedig (*elektromos*) *vezetőképességi detektor* használatos. Ezen detektorok működési elve azonos a korábbi tanulmányai során már megismert vezetőképességi mérőcellákkal, konduktométerekkel. Az egyetlen eltérés az, hogy a mérőcella térfogata itt igen kicsiny, néhány μL .

Mai gyakorlati feladata szintetikus vagy ásványvíz minták szervesetlen anionjainak meghatározása lesz. Az elválasztáshoz Hamilton PRP-X100 típusú anioncserélő oszlopot (ez merev sztirol-divinilbenzol kopolimer hordozón rögzített kvaterner amin funkciós csoportokat tartalmaz), p-hidroxibenzoésav eluent és vezetőképességi detektort fog alkalmazni. A kolonna elé kötve egy kisméretű, $2\text{ }\mu\text{m}$ -es szűrőbetétet is fog látni, amely feladata előszűrni a kolonnára jutó oldatokat (a szűrőkapacitás igen kicsi, ezért időnként cserélni kell a betétet), ílymódon meghosszabbítva a költséges anioncserélő kolonna élettartamát.

Az összeállított kísérleti körülmények között jó hatékonysággal, néhány perc alatt elválaszthatók a minket érdeklő gyakori szervesetlen anionok (az elúció sorrendjében): fluorid, klorid, nitrit, bromid, nitrát, szulfát. A detektor érzékenysége nem kiemelkedő, ezért a meghatározás a kb. 10-100 ppm tartományban lehetséges. Az eluens p-hidroxibenzoésav 4 mM-os vizes oldata. Az eluent itt is, mint a HPLC technikánál általában, vákuumszűréssel és ultrahangos kirázattal kell előkészíteni a használatra. Természetes vízminták (pl. ásványvizek) gyakran bírnak jelentős oldott széndioxid-tartalommal (hidrogén-karbonát), ami zavarhatja az ionkromatográfiás mérést, részben az esetleg a műszerben felszabaduló széndioxid miatt, részben amiatt, hogy a hidrogén-karbonát ionra jelentkező széles és nagyméretű csúcs elfedheti a többi csúcsot. Emiatt célszerű széndioxiddal nem dúsított ásványvizeket vizsgálni, illetve kevés erős sav hozzáadásával és ultrahangos kirázattal a vízmintákat gáztalanítani. Ha ismerjük a hozzáadott sav mennyiségét és töménységét, akkor az annak anionjához (pl. nitrát, klorid, foszfát) tartozó csúcs méretét ezzel az adattal korrigálhatjuk, így szükség esetén ezen ionok mintabeli koncentrációja is megbecsülhető.



3. ábra. Vízminta tipikus anionkromatogramja

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

1000 mg/L koncentrációjú klorid, nitrát és szulfát törzsoldatok (szűrve, gáztalanítva)
4 mM p-hidroxibenzoésav eluens (pH= 6-8-ra beállítva NaOH-dal, gáztalanítva)
MilliQ minőségű ioncserélt víz

1 db kisméretű műanyag fecskendő *tű nélkül* (a minta beadagolásához)
3 db főzőpohár (a pipettázáshoz)
1 db nagyméretű főzőpohár vagy Erlenmeyer lombik (hulladékgyűjtő edény)
4 db 100 cm³-es mérőlombik (a kalibráló oldatokhoz)
3 db 20 cm³-es osztott pipetta (a kalibráló oldatokhoz)
1 db pumpás savadagoló edény savval (a minták előkezeléséhez, ha szükséges)
1 db 25 cm³-es mérőhenger (a minták kiméréséhez, ha szükséges)
5 db 25 cm³-es főzőpohár (az oldatfelszívás segítésére)
1 db pipettázó labda
papírkendő

Biotronik BT3145 vezetőképességi detektor
Biotronik BT8100 HPLC pumpa 100 µL-es adagolószeleppel
Hamilton PRPX100 anioncserélő kolonna előtétkolonnával
számítógépes adatgyűjtő hardver és szoftver
ultrahangos kád

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

A kromatográf üzembeállítása. A HPLC berendezések precíziós, viszonylag kényes és drága berendezések, ezért használatuk során nagy körültekintéssel járjon el. Ha bizonytalan valamiben, kérjen tanácsot a gyakorlatvezetőtől!

Mindenekelőtt ellenőrizze, hogy az eluens tároló tartályában a méréshez elegendő (legalább 500 mL) folyadék van és az edényt a pumpával összekötő cső leér a folyadékedény aljára. Az átlátszó összekötő műanyag csőben nem szabad buboréknak lennie. A hálózati kábelek konnektorba való csatlakoztatása után kapcsolja be a pumpát, a detektort és a számítógépet. A számítógép adatgyűjtő interfésze (kisméretű fekete doboz, amely szalagkábelrel csatlakozik a számítógéphez) bemenetének a detektor rekorderkimenetéhez kell kapcsolódnia annak hátlapján, és az adatgyűjtő tápegységét is be kell dugni a hálózatba (kis piros lámpa jelzi a tápegység működését).

A pumpa és detektor ekkor diagnosztikai rutinokat kezd el futtatni, melynek végeztével mérőkész állapotba kerülnek. A pumpa esetében a „**Parameter**” gomb megnyomásával értelemszerűen a képernyőn végig léptethetjük az összes fontosabb, beállítható készülékparamétert. Ha a beállítani kívánt paraméter a képernyőn van, akkor az

„**Edit/Enter**” billentyű megnyomásával szerkeszthetjük azt (a szerkeszthetőséget a paraméter villogása jelzi). A paraméter értékének módosítása ilyenkor a „**↑**” és „**↓**” billentyűk használatával lehetséges. Az „**Edit/Enter**” billentyű újbóli megnyomása rögzíti a beállított paraméterértéket és továbblép a következőre. Ellenőrizze, hogy a következő értékek vannak beállítva a pumpán: „**Flow: 2.0 ml/min**” (áramlási sebesség), „**Pmax: 300 kg/cm²**” (az üzemi nyomás felső határa), „**Pmin: 1 kg/cm²**” (az üzemi nyomás alsó határa). A detektoron a megfelelő nyomógombokkal állíthatja be a szükséges méréshatárt, stb. Állítsa itt be a következőket: 300 μ S méréshatár („**Bereich**”), 0.1 s mérési idő („**Zeitkonstante**”), a többi gomb és kapcsoló legyen kiengedve. A pumpa „**Pump**” feliratú gombjával indítsa meg az eluens áramlását, és kövesse végig az eluenstartálytól a hulladékedényig a folyadék áramlásának útját, és ellenőrizze, hogy az akadálytalanul, egyenletes ütemben csepeg ki.

A stabilizáció 60-90 percig tart — használja ki ezt az időt arra, hogy megismerkedik az adatgyűjtő program használatával és előkészíti a mintákat a mérésre (lásd alább). A stabilizáció akkor fejeződött be, amikor a detektor kijelzőjén látható vezetőképesség nem változik tovább, hanem ingadozás nélkül megállapodik. A villogó kijelző azt jelzi, hogy a mérendő jel a méréshatárba nem fér be; ha szükséges váltszon az nagyobb, már éppen megfelelő méréshatárra (a 1000 μ S tartománynak elegendőnek kell lennie). Ha a jel jól mérhető és megállapodott, nyomja be az „**Autozero**” nyomógombot és a „**Basislinie**” forgatógombbal szabályozza le a kijelzett értéket a lehető legalacsonyabb még mérhető szintre (0,5-2 μ S). Ezzel beállította a kromatogram alapvonalának kellően alacsony szintjét. Szükség esetén ezt a beállítást (az „**Autozero**” gomb felengedése és újbóli lenyomása után) minden minta beadagolása előtt megismételheti. Ha futtatás közben a kijelző villog, akkor az alapvonal valószínűleg a negatív tartományba sodródott el; ez nem okoz problémát a kiértékelésben, de ilyenkor az alapvonal újbóli beállítását mindenképpen végezze el a futtatás befejezése után.

A számítógépes adatgyűjtő használata. A mérési adatok gyűjtését és kiértékelését számítógéppel, egy „*Digitális rekorder*” nevű program segítségével fogja végezni, amely egy ún. analóg/digitális átalakító egység (8-csatornás mérésadatgyűjtő) révén fogadja a kromatográfias detektor jelét. A program a számítógép bekapcsolása után automatikusan elindul. A szoftver használata egyszerű: a képernyő alsó sorában olvasható a kiadható parancsok listája az aktiváló billentyűk nevével — pl. a „**Súgó**” (F1 gomb) röviden összefoglalja a program főbb funkcióit. Az alapkoncepció az, hogy az „**Opciók**” (F4 gomb) menüben beállítjuk az adatgyűjtés körülményeit (pl. adatgyűjtési sebesség, adatgyűjtési időtartam, stb.), majd a „**Mérés**” (F5 gomb) parancs kiadásával megkezdődik a mérés: a mért adatok mind számszerűen, mind grafikusan nyomonkövethetők. Az adatgyűjtés az „**Esc**” billentyű megnyomására vagy az előre beállított időtartam elteltével fejeződik be. Ekkor a „**Kiértékelés**” (F6 gomb) parancsot kiadva részleteiben is megtekinthetjük a rögzített kromatogramot és két kurzor mozgásával a kromatogram egyes részeit integrálhatjuk, csúcsmagasságokat és retenciós időket olvashatunk le. A mért adatok lemezen is tárolhatók (ASCII formátum), illetve azok visszatölthetők a programba. Ha a mért adatokat el szeretné tárolni, akkor minden egyes kromatogram felvétele után ne felejtse el az „**Opciók**” menüpont

alatt beállítani a kívánt mentési útvonalat és fájlnévet (a könyvtárnevek és a fájlnév 8 karakterből és 3 karakteres kiterjesztésből állhatnak!), majd kiadni a főmenüből a „**Mentés**” parancsot. Ne feledje, hogy az adatok nem automatikusan mentődnek, csak ha azt a leírt módon manuálisan kéri, továbbá hogy azonos fájlnév esetén a korábbi adatok felülíródnak! Az adatokat mentheti floppy lemezre is, így az adatok átvitele egy másik számítógépre egyszerűbb. A program alapbeállításai megfelelőek a végrehajtandó gyakorlathoz, azonban a következő kritikus paraméterek beállításairól feltétlenül győződjön meg („**Opciók**”): „Portcím: 888”, „Adatgyűjtési sebesség: 4 Hz”, „Adatgyűjtés időtartama: 900 s”, „Kell-e kiigazítani az adatokat: igen”. A kromatogram kiértékelése során a jobb és baloldali kurzorral a kívánt csúcsot közre kell fogni (a „**TAB**” billentyűvel mindig válthatunk kis és nagy lépésközű kurzormozgatás között); ekkor a csúcs területét az „**Int kor**” (alapvonallal korrigált integrál) paraméter kijelzett értéke, míg retenciós idejét az „**Xmax**” értéke adja meg. A képernyő bal felső sarkában mindig a kurzorok helyének X és Y koordinátáit látja — ezeket az adatokat használhatja pl. a csúcsok félértékszelességének megállapításához. A program használatával ismerkedjen meg alaposan, mivel azzal más gyakorlatoknál is találkozni fog.

Mintaelőkészítés. A kiadott 1000 mg/L koncentrációjú kalibráló törzsoldatokból az osztott pipetták és a 100 cm³-es mérőlombikok felhasználásával készítsen négy tagból álló közös kalibráló sorozatot (10, 50, 100, 200 mg/L) MilliQ minőségű ioncserélt vízzel való hígítással. Minden kalibráló oldat azonos koncentrációban tartalmazza mindhárom mérendő iont. A lombikok tartalmát alaposan rázza össze. A 100 cm³-es mérőlombikban kapott ismeretlen szintetikus minta előkészítést nem igényel. Ásványvíz minták esetében a korábban már említett módon és a gyakorlatvezető útmutatása alapján, ismert mennyiségű tömény savat kell adni minden minta 25 cm³ részleteihez a széndioxid kikezsdetése céljából, majd ezeket ki kell rázatnia az ultrahangos kádban 5-10 percig. Szűrésre itt sincs szükség. Ha egy korábbi gyakorlat során, maga által begyűjtött természetes vízmintákkal (pl. folyóvíz, csapvíz, forrásvíz) dolgozik, akkor ezeket az ásványvízhez hasonló módon kezelje. Itt azonban szűrésre is szükség van, ha a mintaoldat szemmel látható szemcséket, zavarosságot mutat. Ilyenkor a mintaoldat tisztájából kell megszűrnie 0,45 µm pórusméretű fecskendőszűrő segítségével 10-20 cm³ oldatot (ehhez az eszközöket szükség esetén a gyakorlatvezető biztosítja).

A kiadott minta mennyiségi és minőségi analízise. A kromatografálandó mintákat a kis térfogatú, *tű nélküli* műanyag fecskendővel juttatja majd be a hatutas adagoló szelepbe. A fecskendőt mindig alaposan öblítse át a mérendő oldat több részletével. Levegőbuborékok beadagolását mindenképpen kerülje el, ezért a mintaoldatot mindig lassan szívja fel. Ha a fecskendőben mégis lát buborékot, azt pöcköléssel juttassa a fecskendő legfelső részébe, és a beadagoláskor a dugattyút csak addig nyomja előre, hogy a buborék már ne jusson be az adagoló szelepbe. Minta beadagolása az adagolószelepbe annak „**Load**” állásában lehetséges; az erre szolgáló nyílásba dugja be ütközésig a fecskendőt. A fecskendő térfogata (1-2 mL) a mintahurok térfogatának (100 µL) többszöröse, a teljes fecskendőtartalom beadagolása nemcsak megtölti, hanem át is öblíti a mintahurkot.

A kromatográf bemelegedése, beállítása és a számítógépes adatgyűjtő program beállítása után először a legtöményebb kalibráló oldatot (200 mg/L) fecskendezze be az adagolószelepbe annak „**Load**” állásában. Indítsa el a számítógépes adatgyűjtést, majd határozott mozdulattal fordítsa át az adagolószelep karját „**Inject**” állásba — ezzel a kromatografálás elindult, egy minta futási ideje max. 15 perc. Ha azt tapasztalja, hogy a csúcsok ennél lényegesen rövidebb idő alatt lejönnek, az adatgyűjtési időt lerövidítheti a programban. A kromatogram első, nagy magasságú csúcsa a kationoktól származik, amelyek nem kötődnek meg a kolonnán, azonban vezetőképességük jelentős, így a detektorban jelet adnak. Értékelje ki a felvett kromatogramot vagy mentse el a mérési adatokat gondosan, hogy azokat a mérések végeztével, később kiértékelhesse. Minden csúcs esetében annak retenciós idejét, korrigált területét és talpszélességét (vagy félértékszélességét) kell megállapítania. Az egyes csúcsok azonosítása a korábban megadott retenciós sorrend és a kalibráló oldat ismert összetétele alapján lehetséges. Az első kromatogram felvétele után az adagolószelepet forgassa ismét határozott mozdulattal, ütközésig a „**Load**” állásba, adagolja be és futtassa a következő kalibráló oldatot, stb., végül az ismeretlen oldatokat. Az egymást követő mintafuttatások között mindig várjon legalább 5 percet, hogy a rendszer alaposan átöblítődhessen (ezalatt pl. kiértékelheti a kromatogramokat).

A mérési adatok kiértékelése. Feladata a retenciós idők egyezése alapján megállapítani az ismeretlen oldat minőségi összetételét a kalibráló oldatban is szereplő komponensek tekintetében. A mennyiségi analízishez milliméterpapíron vagy számítógépen szerkesztett kalibrációs görbéket (egyeneseket) kell felvennie minden komponensre külön-külön. Ezeknek a grafikonoknak az adott komponens csúcsterületét kell ábrázolnia a koncentráció függvényében.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Egy kalibráló oldat kromatogramja kinyomtatva, csúcsazonosító feliratokkal ellátva
- A kromatográfias csúcsok összes mért adatának táblázata
- A kalibrációs grafikonok minden kalibrált komponensre
- Az ismeretlen minták minőségi összetétele
- Az ismeretlen mintákban a vizsgált komponensek koncentrációja (mg/L)
- A kolonna elválasztóképességét jellemző elméleti tányérszám értéke egy kiválasztott kromatogram első csúcsának adatai alapján számítva

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mi a kromatográfias módszerek működésének alapja?
2. Hogyan csoportosítjuk a kromatográfias módszereket?
3. Mi különbözteti meg az ionkromatográfiát a többi kromatográfias módszertől?

-
4. Mi hordozza a mennyiségi és minőségi analitikai információt egy kromatogramban?
 5. Mit nevezünk holtidőnek illetve redukált retenciós időnek?
 6. Milyen tölteteket és eluenseket használhatunk kation illetve anion kromatográfiában?
 7. Hogyan működik a hatutas adagolószelep?
 8. Mi a célja (konceptiója) a preparatív kromatográfoknak?
 9. Mit nevezünk előtét kolonnának és annak mi a feladata?
 10. Mi az elektromos vezetőképesség mérésének elve?

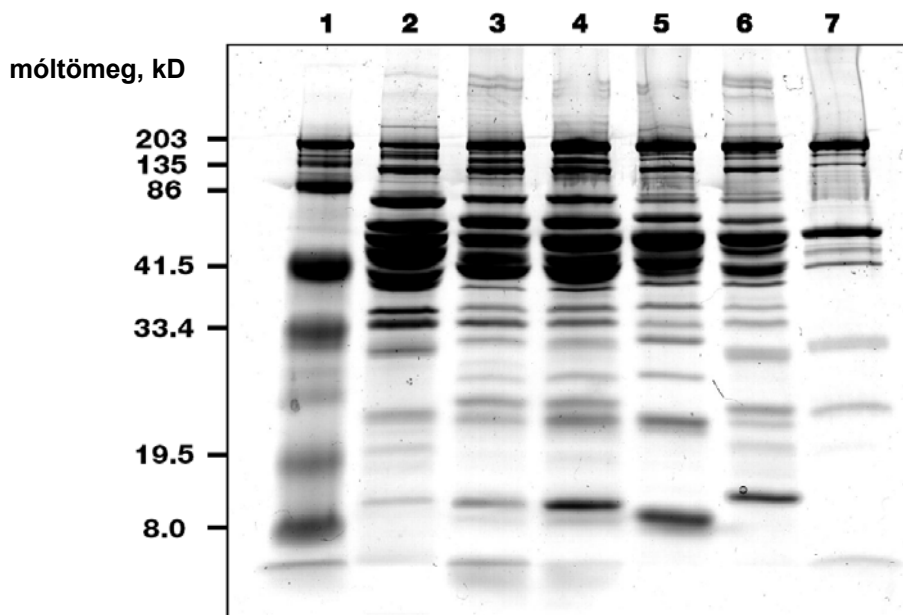
GÉL-ELEKTROFORÉZIS

A GYAKORLAT CÉLJA: A gél-elektroforézis módszerének tanulmányozása. Az SDS-PAGE módszer alkalmazása halakból vagy más állati mintákból származó fehérjék elválasztására, azonosítására, móltömegének becslésére.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

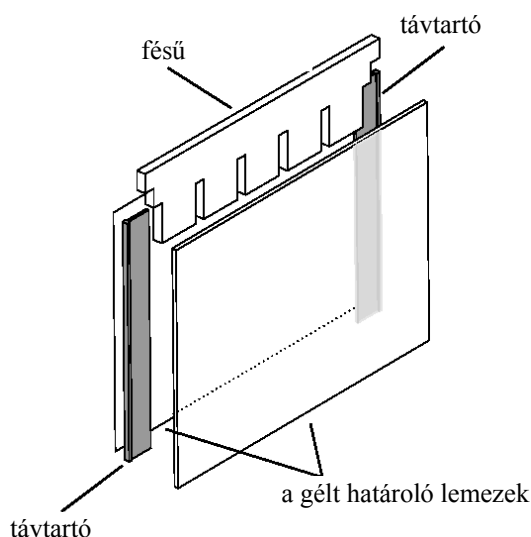
Az *elektroforézis* a kromatográfias módszerekkel rokon analitikai eljárás. Az elektroforézis jelensége alatt a töltött molekuláknak feszültség hatására bekövetkező vándorlását értjük egy oldatban. Mivel a molekulák mozgása az elektromos térben töltésük, alakjuk és méretük függvénye, ezért az elektroforézis egyszerű és gyors módszert kínál különböző molekuláris komponensek elválasztására, kimutatására. A gyakorlatban ez a módszer különösen biológiailag aktív makromolekulák, mint pl. fehérjék, nukleinsavak, peptidek, cukrok, stb. analízise területén közkedvelt. A makromolekulák elektroforézisét általában a mintaoldat vékony rétegének egy porózus „szilárd” közegen (papír, gél, stb.) elektromos feszültséggel való áthajtása révén kivitelezzük; a minta egyes komponensei eltérő sebességgel haladnak át a mátrixon, így egy adott *futtatási idő* alatt az egyes mintakomponensek más és más távolságra jutnak el. A futtatás után megszínezve a mintakomponenseket előtűnik az *elektroferogram*; ennek megjelenése az **1. ábrán** láthatóhoz hasonló

Az elektroforézis végrehajtása során a közeg (ezt mátrixnak is nevezik) alkalmazása azért kívánatos, mivel annak hiányában az elektromos áram oldaton való áthaladása az oldatot felmelegítené, ami diffúzió és konvekció előidézésével a sávok (frontok) összekeveredését okozná. Nem elhanyagolható előny természetesen az sem, hogy a közeg méretszelektív szűrőként is működik, ami segíti az elválasztást. A mátrix korábban főként porózus papír volt (*papír-elektroforézis*), manapság azonban szinte kizárólag gélt, mégpedig agaróz, keményítő vagy poli-akrilamid alapú gélt alkalmaznak (*gél-elektroforézis*). Fehérjék elválasztására leginkább a poli-akrilamid gél, míg nukleinsavak mérésére inkább az agaróz gél használata terjedt el.

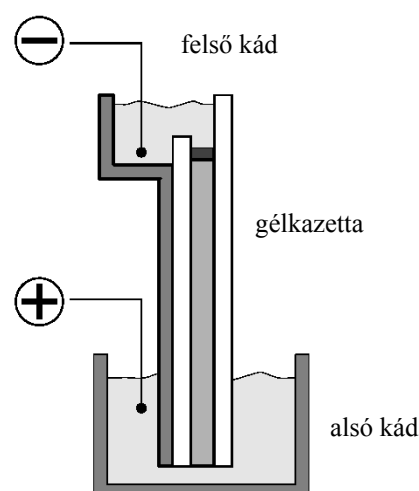


1. ábra. Halminták (2-6. sáv) és a Kaleidoscope marker (1. sáv) gél-elektroferogramja

A gél-elektroforézis berendezések felépítése egyszerű, azonban nagy változatosságot mutat. A gél egy üvegcsőben vagy két üveg (műanyag) lemez közé szorított vékony réteggént is elkészíthető, a gél függőlegesen vagy vízszintesen is elhelyezkedhet a futtató kádban, stb. Az alábbiakban a függőleges elhelyezésű gél kazetta általános felépítéséről lesz szó — ilyen típust fog a mai gyakorlaton is alkalmazni. A vékony, 1-2 mm vastagságú gél tároló kazetta felépítését a **2. ábra** mutatja be. A kazetta dimenziói attól is függenek, hogy milyen hosszú futtatási távolságra (elválasztásra) van szükség, illetve hány mintát kívánunk egyszerre futtatni egymás mellett. Az ábrán látható, hogy a gél felső részén egy műanyag fésűszerű elem benyomásával a gyártás során kis zsebszerű mélyedéseket alakítanak ki a gélben — ide kell majd a mérés előtt a mintaoldatokat becseppenteni (pár μL térfogatban). Az ábrán látható kazetta tehát egyszerre max. 5 mintát tud fogadni. A kazetta a függőleges futtatókádban a **3. ábrán** látható elrendezésben kerül rögzítésre. A felső és alsó kádrészbe alkalmas vezetőképeségű pufferoldatot kell tölteni, ezért — mivel a gélkazetta egyik oldalán az üveglemez felülről rövidebb — az elektródákra kapcsolt feszültség a pufferoldat közvetítésével eljut a gél mindkét végéhez. A mintaoldat felcseppentése és a feszültség bekapcsolása után a futtatás megkezdődik. Az alkalmazandó feszültség nagysága attól is függ, hogy mekkora gélkazettát használunk; ha az elektródok közötti távolság nagyobb, a feszültségnek is nagyobbak kell lennie kb. ugyanakkora „mozgatóerő” (elektromos térerősség, $E = U/d$) létrehozásához. Leggyakrabban 100-300 V feszültséget alkalmaznak.



2. ábra. Egy gélkazetta felépítése

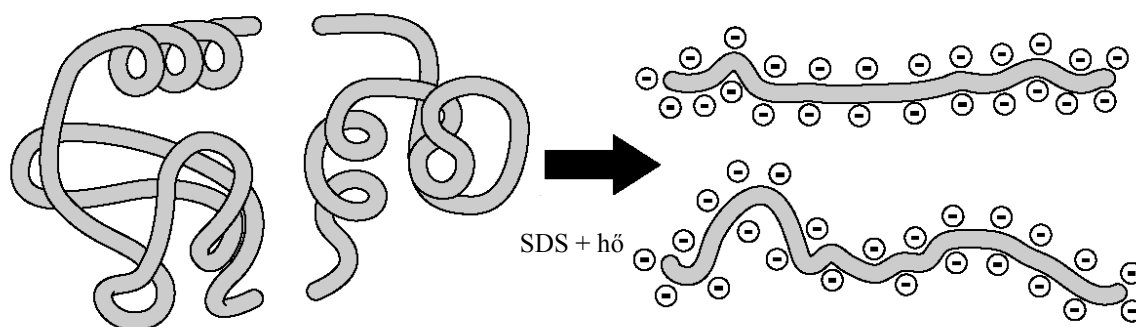


3. ábra. Függőleges futtató elrendezés

Fehérjékkel kapcsolatban az egyik leggyakoribb gél-elektroforézis feladat az egyes fehérjék illetve fehérjekomponensek móltömegének közelítő meghatározása. A biomolekulák méretét (tömegét) Daltonokban illetve ennek többszörösében (kilo Dalton= kD, mega Dalton= MD) szokás megadni. Egy Dalton a hidrogén atom tömegével egyenlő, másképpen $1,66 \cdot 10^{-24}$ gramm. A legtöbb fehérje kD-MD méretű, míg az általában tanulmányozott néhány ezer bázispárt tartalmazó nukleinsav-részletek mérete szintén a MD tartományban mozog (ezer bázispár = kb. 660 kD). Mint már említettük, a fehérjék gélben való haladási sebessége tömegüktől (méretüktől), alakjuktól és töltésüktől is függ. A fehérjék saját összes (bruttó) töltése igen változó, hiszen rendkívül változatos módon épülnek fel aminosavakból, amelyek semlegesek, pozitív vagy negatív saját töltéssel rendelkeznek. A fehérjék alakja is igen változatos a jól ismert többrendbeli szerkezeti szerveződés következtében (primer, szekunder, terciér és kvaterner).

Mindezek miatt, ha a fehérjék gél-elektroforézisét azok tömegének (Daltonban kifejezett méretének) meghatározása céljából végezzük, akkor alkalmas mintaelőkészítés révén a futtatás előtt a fehérjéknek azonos előjelű töltést és igen hasonló alakot kell biztosítanunk. A fehérjemolekulák magasabbrendű szerveződését — amelyet főként diszulfid hidak, elektrosztatikus kölcsönhatások és hidrofób effektusok tartanak fent — melegítéssel és alkalmas redukálószer hozzáadásával bonthatjuk meg („denaturálás”). Redukálószerként általában glicerolt, β -merkaptóetanolt (BME) vagy ditiotretiólt (DTT) használnak. Az egységes felületi töltés kialakítása detergenssek segítségével oldható meg; ezek az anyagok hozzájárulnak a fehérjék „kigombolyításához” is a hidrofób effektusok csökkentésével. A leggyakrabban alkalmazott erősen anionos detergens a nátrium dodecil szulfát (angol rövidítéssel: SDS). Összefoglalóan tehát, ha a fehérjéket rövid ideig együtt melegítjük egy olyan reagens eleggyel, amely a fenti anyagokat együttesen tartalmazza, akkor a fehérjékből közel lineáris szerkezetű, negatív töltésű makromolekulákat állítunk elő (a folyamat során a

tömeg természetesen nem változik). Ezen molekulák azonos töltése és felépítése miatt azok elektroforetikus futási sebessége már csak tömegüktől fog függni, így tömegük szerint reprodukálhatóan elválaszthatók a gélen. Az elmondottak magyarázatul szolgálnak arra vonatkozóan is, hogy a leírt, egyik leggyakrabban alkalmazott gél-elektroforetikus módszert miért nevezik „SDS-PAGE”-nek: ez az SDS PoliAcrylamide Gel-Electrophoresis rövidítése.



4. ábra. A melegítés és az SDS detergens hatása a fehérjékre (séma)

A futtatás után a gélben különböző helyen jelentkező, de eddig szintelen fehérje sávokat pl. „Coomassie Blue” festékkel való megfestéssel tehetjük láthatóvá (kék színűvé). A kisebb tömegű fehérjék messzebbre jutnak a gélben egy adott idő alatt és adott feszültség hatására. A futtatás idejét meghosszabbítva a nagyobb tömegű fehérjék is jobban elválnak egymástól — a könnyebbek viszont esetleg már „lefuthatnak” a gélről. A gél és a puffer összetétele mellett, a futtatási idő (20-120 perc) és feszültség alkalmas megválasztásával is szabályozható, hogy melyik tömegtartomány jelenik meg szétválasztva a gélen futás után. Ha a mintákkal egyidőben a gélen ismert tömegű fehérjék elegyét tartalmazó ún. „marker”-t is futtatunk, akkor a festés után skálabeosztással is rendelkezünk majd ahhoz, hogy összehasonlítás alapján megállapíthassuk a mintakomponensek tömegét. Léteznek olyan marker elegyek is (ún. „Kaleidoscope” marker), amelyek eleve meg vannak színezve, így a sávok haladását a futtatás során is figyelemmel kísérhetjük.

A jelen gyakorlaton elsősorban halakból származó fehérjék elválasztását fogja elvégezni. Az SDS-PAGE módszerrel természetesen másféle fehérjeminták is elválaszthatók, azonban a halak izomszövetéből kinyert fehérjék felhasználása különösen egyszerű és tanulságos. A fehérjék halhúsból való kinyerése, kioldása ugyanis egyszerű, mivel az általában kevés zsírt és csak gyenge kötőszövetet tartalmaz. A halak ugyanakkor a hullók ősi és szerteágazó családját képviselik; változatos fajai ma az élelmiszerboltokban is könnyen beszerezhetők, így azok egyszerűen vizsgálhatók, összehasonlíthatók.

Munkája során előre elkészített poli-akrilamid gélen, függőleges futtatókádban és tris-glicin (TGS) puffer segítségével 200 V feszültségen fogja futtatni a többnyire halmintákból egy egyszerű, ún. Laemmli reagens használatát igénylő háromlépéses eljárás révén kinyert fehérjemintákat. Feladata a kiadott ismeretlen minta fehérjéinek tömegösszetétel szerinti

jellemzése és lehetőség szerint való azonosítása lesz. Néhány jellegzetes izomfehérje funkcióját és tömegét az alábbi táblázat sorolja fel — ezt használja fel az azonosítás során.

1. Táblázat. Néhány fontosabb, az izomszövetben található fehérje tömege és funkciója

Fehérje	Móltömeg (kD)	Funkció
titin	3000	központosítja a miozint a szarkomerben
disztropin	400	a plazma membránjához kötődik
filamin	270	az aktin rostok összekötése
miozin (nehéz lánc)	210	az aktin rostok csúsztatása
spektrin	265	a rostokat a plazma membránhoz köti
M1/M2	190	miozin bomlástermék
M3	150	miozin bomlástermék
C fehérje	140	miozin bomlástermék
nebulin	107	az aktin összeállítását szabályozza
α -aktinin	100	az aktin rostok kötegelése
gelszolin	90	az aktin rostok felszabdálása
fibrin	68	az aktin rostok kötegelése
aktin	42	rostok képzése
tropomiozin	35	az aktin rostok megerősítése
troponin (T)	30	az összehúzódást szabályozza
miozin (könnyű lánc)	24, 17, 15	az aktin rostok csúsztatása
troponin (I)	19	az összehúzódást szabályozza
troponin (C)	17	az összehúzódást szabályozza
timozin	5	elkülöníti az aktin monomereket

SZÜKSÉGES ANYAGOK ÉS ESZKÖZÖK

Laemmlli reagens (25% glicerín, 2% SDS, 0.01% brómfenolkék, pH= 6.8 Tris-HCl pufferben, kb. 1-2 mL egy Eppendorff csőben)

kb. 350 mL 1:10 hígított TGS puffer oldat

kb. 100 mL Bio-safe Coomassie Blue festékoldat

előfestett Kaleidoscope marker

desztillált víz

1 db műanyag festő tálka

1 db Precast Ready Gel kazetta

1 db 1 mL-es osztott polietilén transzfer pipetta

1 db hőmérő (legalább 150 °C felső méréshatárú)

3 db 1,5 mL-es csavaros tetejű műanyag edény

3 db 1,5 mL-es rápatintós fedelű műanyag edény (Eppendorff-cső)

3 db mini óraüveg (a minták kezeléséhez)

1 db 10 μ L térfogatú digitális pipetta néhány műanyag hegygel

1 db műanyag mintaedény-tartó állvány

1 db fém spatula vagy kés (a minta darabolásához és a fűtőblokk kezeléséhez)

1 pár műanyag kesztyű (a gélkazetta kezeléséhez)
1 db műanyag „fotós” csipesz (a gél kezeléséhez)
1 db tízpozíciós, pipettázást segítő műanyag sorvezető (sárga színű)
1 db éles, „tapétázó” kés (a gélkazetta kezeléséhez)
papírkendő

Bio-Rad Mini-PROTEAN 3 függőleges elektroforézis cella
Bio-Rad PowerPac Junior tápegység
elektromos fűtőblokk
digitális stopper

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZER LEÍRÁSA

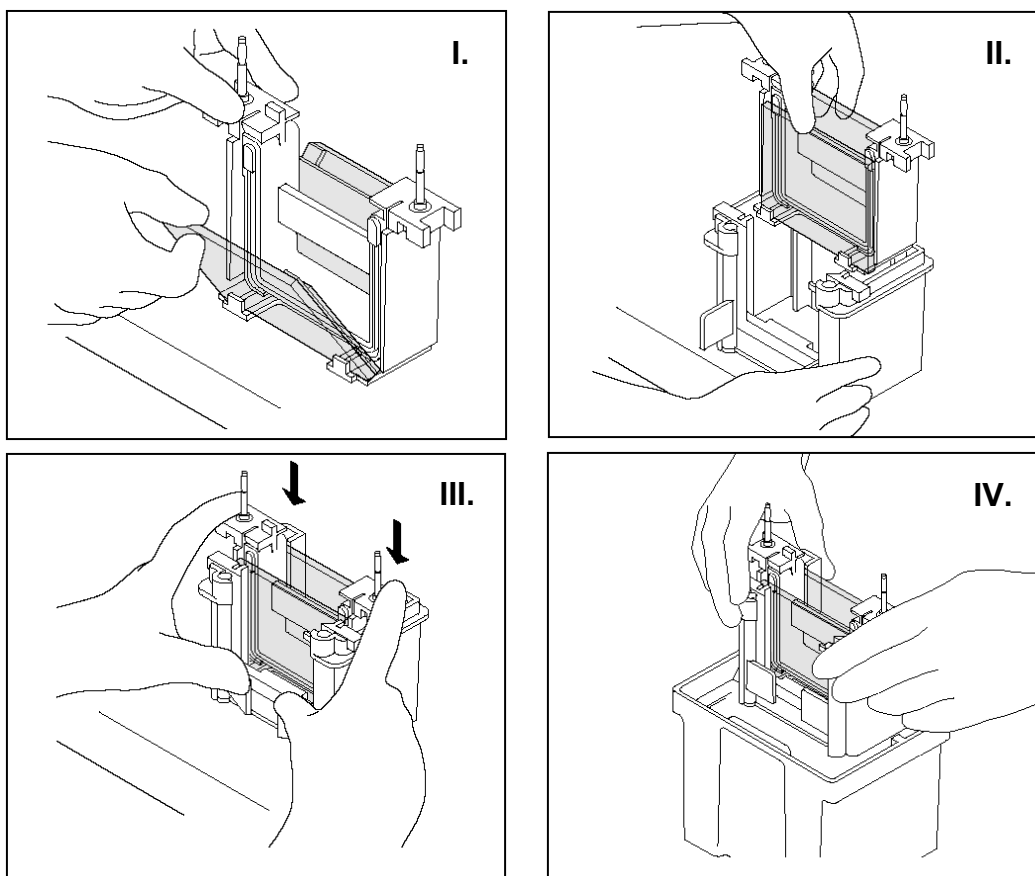
A fenti lista alapján ellenőrizze, hogy minden szükséges eszköz, reagens és minta rendelkezésre áll. Ne feledje, hogy a gélkazettát és a marker oldatot hűtőszekrényben (+ 4°C-on), a mintákat pedig fagyasztószekrényben (-18-20°C-on) kell tárolni a felhasználásig, ezért azokat gyakorlatvezetőjétől kapja majd meg. Megemlítjük, hogy a marker oldatot és a TGS puffert koncentrátumból autoklávozott (sterilezett) edényben és ugyanígy kezelt ioncserélt vízzel kell előzetesen elkészíteni, hogy azok sokáig eltarthatók legyenek. Feladata eléggé időigényes, ezért késlekedés nélkül kezdjen hozzá végrehajtásához és ütemesen haladjon vele. Időmegtakarítás céljából már most kapcsolja be a fűtőblokkot (kb. 9-es hőmérsékleti beállítás mellett), hogy az felmelegedjen kb. 90-95°C-ra, mire használnia kell. A fűtőblokk hőmérsékletét az annak egyik furatába helyezett hőmérőn ellenőrizze időről időre. Kérjük, hogy a gyakorlat során mindvégig körültekintően dolgozzon, és tartsa be a balesetvédelmi rendszabályokat. A kiadott reagenseket, mintákat kezelje óvatosan, a mellékelt műanyag kesztyűt is használva.

Mintaelőkészítés. Filctollal jelöljön meg minden egyes húsminta számára egy 1,5 mL-es rápattintós fedelű, kúpos fenekű műanyag edényt (Eppendorff cső) és egy 1,5 mL-es csavaros tetejű műanyag edényt. Ezeket a kis edényeket a munka során a habosított tartóállványban tárolhatja. Mérjen be 250 µL Laemmli puffert mindegyik pattintós fedelű Eppendorff-csőbe a kiadott műanyag transzfer pipetta segítségével. A kiadott (kb. mogorónyi darab) fagyasztott húsmintákat hagyja felengedni szobahőmérsékletre (kb. 10-15 perc) a mini Petri-csészékben, majd a fém spatulával vágjon le belőlük egy kb. gyufafejnyi méretű darabot oly módon, hogy elkerüli a zsíros vagy bőrös részeket és csontokat. Helyezze a vett húsmintákat a számukra felcímkézett Eppendorff csövekbe és zárja le azokat. Az edények tartalmát ezután gyengéd, kitartó pöckölgetéssel (pl. 15-ször) mozgassa át, majd tegye félre őket 5-10 percre állni az állványban. Az idő letelte után óvatosan öntse át *az oldatok tisztáját* — néhány csepp, vagyis 20-30 µL folyadék elegendő lesz — a megfelelő csavaros tetejű műanyag edényekbe. Ha a fűtőblokk elérte a kb. 90-95°C hőmérsékletet, akkor helyezze be a csavaros edényeket a fűtőblokk egyes furataiba, majd tartsa ott őket 5-8 percig. A melegítési

periódus letelte után a fém spatula segítségével vegye ki a műanyag edényeket (**vigyázzon, a fém fűtőblokk forró!**) és helyezze azokat az állványra.

A gél-elektroforézis berendezés előkészítése. Vegye most elő a gélkazettát és helyezze azt csomagolásával együtt egy papír törülőkendőre. A készletében talált éles késsel vágja fel és távolítsa el a műanyag zacskót és a benne talált, pufferrel átitatott szűrőpapírt, majd óvatosan, egyenesen húzza ki a kazetta egyik végében található műanyag „fésűt” (ezt is eldobhatja). Ha a fésűt ügyesen távolította el, akkor most látnia kell a helyén a gélben maradt kisméretű, közel azonos alakú 10 db apró mintatartó „zsebet”. A kazetta túlsó végén — alján — talál egy fekete csíkot a kazetta átlátszó műanyag fóliaburkolatán, amely a fésű eredeti helyzetével párhuzamosan fut. Az éles késsel ezen fekete csík mentén vágja el a fóliaburkolatot és távolítsa el azt. Ezáltal szabaddá válik a kazetta alsó részének teljes hosszán is a gél, ami a berendezésben így érintkezésbe kerülhet majd a futtató pufferoldattal.

Vegye most maga elé a futtató kádat annak tartozékaival együtt. A tápegységre még nem lesz szükség, ezért ellenőrizze, hogy az ki van kapcsolva és ki van húzva a konnektorból, majd tegye azt félre. A kád fedelére (binnen a tápegységhez futó kábelekkal) sem lesz még szükség. A kazettát az alábbi négy ábrán bemutatott lépések szerint kell elhelyeznie a futtató kádban.



I. lépés: a fehér színű kazetta tartó keretet tegye maga elé az asztalra. Az ábrán látható mozdulattal helyezze be a kazettát a keret szabad (üres) oldalára olymódon, hogy a kazetta

mintatartó zsebei felül legyenek és a kazetta határoló műanyag lemezei közül a rövidebb nézzen a keret belseje felé. *II. lépés:* Ujjjaival tartva a kazettát a keretben, csúsztassa bele felülről a keretet az annál valamivel nagyobb leszorító tartóba, miközben az utóbbin található két kihajtható műanyag fül kifelé áll. *III. lépés:* A keretet ütközésig lenyomva a tartóba — a lefelé nyomás fenntartása mellett — két hüvelykujjával az ábrán látható mozdulattal fordítsa be a műanyag rögzítő füleket. Ennek eredményeképpen a kazettának a kereten található gumiperem révén jól a helyére kell szorulnia; a keret belsejében ezáltal alakul ki a felső, puffer tárolására szolgáló kád (lásd korábbi általános ábra). *IV. lépés:* Az így összeállított, a kazettát tartalmazó műanyag szerkezetet csúsztassa bele az áttetsző szürkés-zöld színű szögletes tartályba (ez alkotja majd az alsó puffer kádat).

A kiadott, megfelelő koncentrációjú TGS pufferoldattal ezután töltse meg óvatosan a belső kádat (vagyis a legbelső, fehér keretben a kazetta és a keret túloldalán látható műanyag lemezek által határolt térrészt). A feltöltést addig folytassa, amíg a folyadékszint el nem éri, és kissé meg nem haladja a kazetta belső rövidebb oldalának magasságát (a puffert ne töltse túl, a kazetta hosszabbik oldalánál magassága alatt legyen a folyadékszint). A feltöltés során időnként megállva ellenőrizze, hogy a kazettát tömítő gumiperem jól zár és nem szívárog ki pufferoldat a külső tartályba (ez azért probléma, mert a futtatás során túlságosan lecsökkenhetne a folyadékszint a belső/felső kádban, miáltal megszűnhetne a kazetta két vége közötti elektromos kapcsolat). Ha mégis ez lenne a helyzet, úgy töltse vissza a puffert annak tároló edényébe, vegye ki a keretet, igazítsa meg a kazettát és kezdje a feltöltést előlről. A feltöltéshez kb. 150 mL puffer oldatra van szükség. Ezek után töltse a maradék, kb. 200 mL puffert a külső kádba — ez a folyadékszint csak a kazetta alsó részét fogja kívülről beborítani.

A minták beadagolása és a futtatás. Vegye most az előkészített kádat maga elé, és helyezze a sárga színű műanyag sorvezetőt a belső keret tetejére. Ez a kis segédeszköz arra szolgál, hogy a minták beadagolása során úgy vezesse a pipettahegyet, hogy az éppen az egyes gélzsebekbe juttathassa a mintákat. Ha közelről megfigyeli ezt a műanyag sorvezetőt, látni fogja az egyes pozíciókat jelző apró számokat és ellenőrizheti azt is, hogy a sorvezető valóban jó helyen áll, vagyis nyílásai a zsebek fölött helyezkednek el. Döntse el, és jegyezze fel, hogy melyik sávban melyik mintát fogja futtatni. Ezzel kapcsolatban két dolgot érdemes figyelembe vennie. Az egyik, hogy a kazettát később a festéskor szétszedve, a pozíciók (jobb-bal oldal) azonosítása nehezebb lesz, hiszen a sorszáмок nincsenek a gélen feltüntetve. A másik, hogy a futás sebessége, egyenletessége kis eltéréseket mutathat a két oldal között, ezért a kazetta közepe táján futtatva kapjuk általában a legjobb eredményt. Egy lehetőség a sok közül, hogy ha pl. 3. sávban futtatja a markert, a 4.-et üresen hagyja, majd a minták jönnek sorban. Mindenképpen jegyezze fel a választott és megvalósított elrendezést.

A minták beadagolását a digitális mikropipettával végezze; 10 µL-es részletek beadagolására lesz szükség, ezért ha szükséges, a pipetta kijelzőjén a recés forgótárcsa elforgatásával állítsa be ezt a térfogatot. A pipetta használata a következő. Húzzon fel a pipettatest kúpos végére egy új, tiszta műanyag hegyet (ne fogdossa össze a tiszta pipettahegyet!), amelynek rá kell szorulnia. A felszívást és kifecskendezést a pipetta kerek nyomógombjával végzi oly módon, hogy a gombot az első „zökkenésig” lenyomja és ott tartja

(ezáltal a pipetta belsejében lévő munkahengerből kiszorítja a levegőt), a hegy végét a felszívandó oldatba meríti, majd a nyomógombot lassan teljesen felengedve a pipetta felszívja az előzetesen beállított mennyiségű (10 μ L) oldatot. Ezután a pipettahegy végét a sorvezető megfelelő pozíciójába illesztve, ott azt annyira tolja lefelé, hogy — ez kívülről jól megfigyelhető — a hegy vége biztonságosan a gél mintatartó zsebében legyen, majd a pipetta nyomógombját teljesen (ütközésig) lenyomja, és azt lenyomva tartva kihúzza a pipettát a sorvezetőből. Ne engedje el a pipetta nyomógombját, míg a hegy a gélben van, különben a pipetta hirtelen visszaszívja az oldatot és a pipetta belseje elszennyeződhet! Ezután távolítsa el a pipettahegyet, vegyen elő újat és folytassa a minták, illetve a Kaleidoscope marker oldat beadagolását az eltervezett rendben. Ha készen van, vegye le a műanyag sorvezetőt a kazetta tetejéről, öblítse le desztillált vízzel és tegye a fiókba.

Pattintsa fel ezután az elektroforézis kád fedelét a hozzá erősített kábelekkel együtt a polarításra ügyelve. A piros (+, pozitív) elektróda a piros kábelhez kell hogy csatlakozzon, aminek másik végét az elektroforézis tápegység pozitív pólusú aljzatába kell dugni; a fekete kábelrel értelemyszerűen a tápegység negatív pólusához kell csatlakozni. ***A tápegység használatakor nagyon körültekintően járjon el, a nagyfeszültség alatt lévő berendezés fém érintkezőihez, kábeleikhez semmiképpen ne érjen hozzá kézzel az áramütés veszélye miatt, és ne okozzon zárlatot sem! A működés problémáit vagy a kábelek sérüléseit jelezze a gyakorlatvezetőnek!*** A tápegységet kikapcsolt állapotban dugaszoljuk a hálózati aljzatba, állítsunk be 200 V feszültséget, majd kapcsoljuk be a főkapcsolóval. Az elektroforézis ekkor megkezdődik, amelyet az oldat enyhe pezsgése, buborékolása is jelez. Az előrehaladást a kék színű minta és marker frontok mozgása jelzi. ***A bekapcsolt berendezést soha ne hagyja felügyelet nélkül!*** A futtatás ideje 30 perc, amelyet stopperrel mérhet. Az idő letelte után kapcsolja ki a tápegységet, húzza ki azt a konnektorból, és vegye le a kád fedelét.

Az elektroferogram előhívása. A marker oldatban lévő fehérjék előre színezettek, ezért ennek elektroferogramja a futtatás után (és alatt) azonnal látható. A többi sáv azonban szintelen, ezért azokat festékkoldattal „elő kell hívni”. Ehhez a kesztyűt viselve vegye ki a futatókád belsejéből a keretet, távolítsa el abból a pufferooldatot, majd vegye ki a kazettát (ehhez ki kell lazítani a szorító füleket), és helyezze azt egy papír törölkendőre a rövidebb lemezzel felfelé. Miután lecsöpögött a kazetta, az éles késsel vágja el a két lemezt összerögzítő műanyag fóliát a lemezek oldalsó széleinél, majd nagyon óvatosan — nehogy elszakítsa a gél — feszítse szét ujjal vagy a spatulával a két lemezt egymástól (hajtsa oldalra a felső lemezt); a gél el fog válni az egyik lemeztől. A gél a rátapadt lemezzel együtt (vagy csak a gél magát) tegyük át óvatosan a hasonló méretű műanyag homorú festőtálcába, ahol legalább egy részlet desztillált vízzel óvatosan öblítsük le róla a futató oldat maradványait. A gél kezelése során használja a mellékelt műanyag csipeszt; ennek nagy fogófelülete kíméli a gél, de mindenképpen igen óvatosan mozgassa azt. A festőtálcát benne a géllal tölts meg egyszer használatos Coomassie Blue festékkoldattal (a kesztyűt érdemes viselni). A festést legalább egy órán keresztül kell végezni, miközben az edény billegtetésével óvatosan kevergetheti a folyadékot. Az idő letelte után a festéket öntse ki, a gél alaposan öblítse le desztillált vízzel, majd az enyhén kékes színű gél egy tiszta, desztillált vízzel megtöltött

festőtálcába helyezze át az előhívás befejezése céljából. Ezen utolsó, alapos kimosási fázis során jelennek majd meg a kékes színű mintasávok; ha ezek megjelennek, az előhívás befejeződött. Ez azonban akár több órát is igénybe vehet, ezért elképzelhető, hogy ezt a tálcát éjszakára félre kell tennie (*az elhelyezésre vonatkozóan kérje gyakorlatvezetője tanácsát*) és az elektroferogramhoz csak másnap reggel jut hozzá. Ha a gél előhívása kész, öntse le róla a vizet, és óvatosan tegye azt át egy átlátszó műanyag tasakba, majd fénymásolja le. A fénymásolatot kell kiértékelnie és beragasztania a füzetébe.

Az mérési adatok kiértékelése. A kapott elektroferogramot az **1. ábráról** leolvasható adatok és az **1. táblázat** adatai alapján értékeli ki. Az **1. ábrán** a Kaleidoscope marker komponenseinek (sávjainak) fel van feltüntetve a tömege. Ez alapján a jellegzetesebb mintasávok tömege is megbecsülhető. Az interpoláció során vegye figyelembe, hogy az egyes sávok által megtett távolság a móltömeg logaritmusaival arányos. Ha a gyakorlatvezető erre külön utasítást ad, akkor az ismert tömegű marker sávok futási távolságát vonalzóval milliméter pontossággal a zsebsor szélétől lemérve és azt a sávok tömegének tízes logaritmusaiban függvényében ábrázolva kalibrációs egyenest vehet fel, amelyről az ismeretlen minta sávok (fehérjekomponensek) tömege pontosabban leolvasható.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- A felvett elektroferogram fénymásolata
- A kiadott mintákban talált fehérjék tömeg-összetétel szerinti közelítő jellemzése
- A minták fehérje komponenseinek közelítő minőségi azonosítása

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Fogalmazza meg, mit értünk az elektroforézis jelensége alatt!
2. Mi a szerepe az elektroforetikus futtatás közegének (mátrix)?
3. Milyen közeg (mátrix) típusokat ismer és azt milyen mintákhoz alkalmazzuk?
4. Hogyan épül fel egy függőleges elrendezésű gél-elektroforézis berendezés?
5. Mekkora tömegnek felel meg 1 Dalton?
6. Mekkora a gél-elektroforézisben szokásosan vizsgált fehérjék és nukleinsav-részletek tipikus tömege Daltonban?
7. Mi a fehérjék a gél-elektroforézis előtti mintaelőkészítésének lényege, főbb lépései?
8. Mit értünk SDS-PAGE elektroforézis alatt?
9. Mitől függ, hogy mekkora feszültséget és futtatási időt alkalmazunk a gél-elektroforézis során? Mi a futtatási idő és feszültség jellemző értéke?
10. Hogyan, milyen reagenssel tesszük láthatóvá az elektroferogramot?

KOMPLEXOMETRIÁS TITRÁLÁS SPEKTROFOTOMETRIÁS VÉGPONTJELZÉssel

A GYAKORLAT CÉLJA: Pásztázó rendszerű spektrofotométer alkalmazása komplexometriás titrálás végpontjelzésére. Cu(II) ionok meghatározása EDTA mérőoldat segítségével.

A MÉRÉSI MÓDSZER ALAPELVEI

Az ultraibolya (UV, $200\text{ nm} \leq \lambda \leq 400\text{ nm}$) ill. látható (VIS, $400\text{ nm} \leq \lambda \leq 800\text{ nm}$) fény elnyelésekor (abszorpciójakor) a molekulák elektroneloszlása megváltozik: kötő, lazító vagy nemkötő elektronjaik kisebb energiájú pályákról nagyobb energiájúakra ugranak át, azaz gerjesztődnek. Az ilyen elektronátmenetek tanulmányozásával foglalkozó spektroszkópiai módszert elektrongerjesztési (vagy elektron-) spektroszkópiának is nevezik. Egy molekula azon részleteit, amelyekben az elektronátmenetek létrejönnek (azaz elnyelik a fényt), *kromoforoknak* nevezzük. Azt az energiatartományt, amelynél egy adott kromofor elnyel, elnyelési sávnak nevezzük, ennek helye a spektrumban (vagyis a hozzá tartozó elektronátmenet energiája) elsősorban a kromofor anyagi minőségétől függ, de azt a kromoforral kölcsönhatásban levő egyéb csoportok is befolyásolják.

Amikor egy anyag vizes oldatának fényelnyelését ábrázoljuk a besugárzó fény energiájának (hullámhosszának) függvényében, az ún. *abszorpciós spektrumot* kapjuk. Az abszorpciós spektrum mind minőségi, mind mennyiségi információkat hordoz, emiatt az analitikai kémia egyik leggyakrabban használt módszere. Ha besugárzunk egy oldatot egy I_0 intenzitású, adott hullámhosszúságú (monokromatikus) fénysugárral, annak intenzitása a fény abszorpciója miatt lecsökken I -re. A fényelnyelést egy mértékegység nélküli mennyiség, az *abszorbancia* jellemzi, ami definíció szerint

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

Szokás még a fényelnyelést a *transzmittanciával* (más szóval transzmisszióval, T) is jellemezni, amely a minta fényáteresztő képességére jellemző, és az átengedett valamint a beeső fény intenzitásának hányadosaként szokás kifejezni (egyes esetekben százalékban):

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

Tekintsünk egy olyan oldatot, amelyben csak *egyfajta* fényt abszorbeáló anyag van jelen. Az anyag koncentrációja (c) és az adott λ hullámhosszúságú sugárzásra mért abszorbancia (A_λ) közötti összefüggést a *Lambert-Beer törvény* írja le, amely szerint

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot l$$

ahol l a *rétegvastagság* (ez a mérések többségében 1 cm), és ε_λ az adott kromoforra jellemző, az alkalmazott hullámhossztól függő mennyiség, az ún. *moláris abszorbancia*, az egységnyi (1 mol/L) koncentrációjú oldat egységnyi (1 cm) rétegvastagságnál mért abszorbanciája. A Lambert-Beer törvény érvényességi határain belül az abszorbancia *additív tulajdonság*, amely a vizsgált hullámhossznál az egymás mellett előforduló komponensek abszorbanciáinak összegeként adódik. Tehát n darab fényelnyelő komponenst tartalmazó oldatra

$$A_\lambda = l \cdot \sum_{i=1}^n \varepsilon_{\lambda i} c_i$$

ahol $\varepsilon_{\lambda i}$ az i -edik, c_i koncentrációjú komponens moláris abszorbanciája az adott hullámhossznál. Abszorbanciamérés alapján, a moláris abszorbancia és a rétegvastagság ismeretében a Lambert-Beer törvény alkalmazásával a kromofor koncentrációja közvetlenül is meghatározható. Fontos megemlíteni, hogy a törvény kizárólag híg oldatokra ($c < 10^{-3}$ mol/L) érvényes, töményebb oldatokra csak módosításokkal alkalmazható (pl. a törésmutató változását figyelembe kell venni). Eltéréseket okozhatnak még a törvénytől a kromofor különböző kémiai reakciói (pl. önasszociáció, protonálódási vagy komplexképződési egyensúlyok), valamint az oldószercsere is.

Az abszorpciós spektrofotometria gyakorlata. Az abszorpciós spektrofotométerek legfontosabb alkotóeleme egy olyan fényforrás, amely a teljes mérési (UV vagy VIS) hullámhossztartományt lefedő folytonos („fehér fényt”) sugároz ki. Ezt a fényt alkalmas optikai eszközzel (pl. prizma vagy rács segítségével) összetevőire bontjuk, majd egy kiválasztott hullámhosszúságú nyalábját a mintatartóban elhelyezett mintára irányítjuk. A mintaoldatot üvegből, műanyagból vagy kvarcból készült edényben (*küvettában*) helyezzük el. Az UV tartományba eső spektrumok felvételéhez szükséges a kvarcküvetta alkalmazása, mert a más anyagból készült küvetták maguk is elnyelik az UV-fényt. A küvettán keresztülhaladt fénysugarat egy detektorra (fotocella, fotoelektron-sokszorozó) irányítjuk, amely a fényintenzitással arányos elektromos jelet szolgáltat.

Az abszorpciós spektrofotometriás mérés során a beeső fény intenzitását az oldatban való abszorpció mellett a szóródás és visszaverődés is csökkenti. Utóbbiaknak a mért jelhez való hozzájárulását a mérés pontossága érdekében állandó értéken kell tartani vagy elhanyagolhatóvá kell tenni. Ezért pl. a mérés során ügyelni kell arra, hogy a kűvetta azon oldalai, amelyen a méréshez használt fénysugár keresztülhalad, a lehető legtisztábbak legyenek. További hibaforrás, ha az optikai felületnek a beeső fénysugárral bezárt szöge mintáról mintára változik (nem áll függőlegesen a kűvetta), ami változó mértékű visszaverődést és ezzel a beeső fénysugár intenzitásában ingadozásokat okoz. Általában elkerülendő még az is, hogy a mérendő oldat csapadékos legyen vagy kolloid részecskék legyenek benne, ez ugyanis úgynevezett *alapvonaeltolódást* (az abszorpciós spektrum konstans értékkel való pozitív irányú eltolódását) eredményezi. Bármely hullámhosszon is hajtjuk végre a mérést, nem várható, hogy ott kizárólag a célmolekula kromoforjának fényelnyelése okozzon csökkenést a beeső fény intenzitásában: az oldószernak és magának a kűvettának is van valamennyi „saját” elnyelése. Az ezek által okozott fényvesztéséget mindig korrekcióba kell venni. Ezt egy úgynevezett *vakoldat* segítségével tesszük meg, amelyben a kromoforon kívül minden, a mérendő mintában is jelenlevő komponens megtalálható. Ha a vakoldat fényelnyelését regisztráljuk, és a mintaoldat fényelnyeléséből azt levonjuk, akkor az így kapott (különbségi) spektrum már tisztán csak a kromoforra lesz jellemző, és a kapott (ún. háttérkorrigált) abszorbancia pedig csak a kromofor koncentrációjától fog függeni.

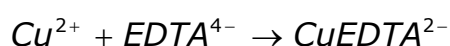
Az abszorpciós spektrofotometriás mérések során a mintába belépő és abból kilépő fény intenzitásának arányát mérjük. Kis abszorbanciáknál a belépő és az áteresztett fény intenzitása között kis különbség miatt ($I_0 \approx I$), míg nagy abszorbanciáknál az áteresztett fény intenzitása kicsiny volta miatt ($I \approx 0$) jelentős lehet a mért abszorbancia értékek pontatlansága. Korábban, a mechanikus felépítésű spektrofotométerek korában ezért elfogadott szabály volt, hogy a spektrofotometria legmegbízhatóbban (kb. 1 relatív % pontossággal) akkor használható, ha a mért abszorbanciák 0,3 és 0,6 érték közé esnek. A modernebb (elektromos/digitális) spektrofotométereknél ugyanez a $0,05 \leq A \leq 2$ tartományban is elérhető. Mindezek miatt tanácsos méréseinket a koncentrációtartomány, a méréshez használt hullámhossz vagy a rétegvastagság alkalmas megválasztásával úgy megtervezni, hogy a mért abszorbanciaadatok az optimális tartományba essenek.

Mennyiségi elemzés spektrofotometriás módszerrel. UV-látható spektrofotometria alkalmazásával csak olyan anyagok mérhetők, amelyek a $200 \text{ nm} \leq \lambda \leq 800 \text{ nm}$ tartományban fényt nyelnek el. Amennyiben a meghatározandó anyag nem nyeli el fényt, az valamilyen szelektív reakcióval általában fényelnyelővé tehető. Például a $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ vagy $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ aquoionok csak nagyon gyenge fényelnyelést mutatnak a látható hullámhossztartományban, de színessé tehetőek megfelelően megválasztott komplexképzővel. Az ismeretlen oldat koncentrációjának pontos meghatározásához először mindig ki kell választani egy olyan hullámhosszat, amelyen a mintának értékelhető fényelnyelése van. Ezt a hullámhosszat általában úgy választjuk meg hogy az a célmolekula spektrumának valamelyik *abszorpciós maximumában* legyen.

Az UV-látható spektrofotometriát kétféle módon lehet kvantitatív analitikai célokra felhasználni. A *közvetlen spektrofotometriás koncentrációmeghatározás* során a meghatározandó komponens koncentrációját közvetlenül a mért abszorbanciából, a Lambert-Beer törvény alkalmazásával is kiszámíthatjuk, ehhez azonban szükséges a moláris abszorbancia ismerete. Ennek hiányában ún. kalibráló oldatsorozat segítségével kell a mérendő komponens adott hullámhosszon mérhető abszorbanciájának koncentrációfüggését megállapítani. Ezt követően az analizálandó oldat mérését a fentiekkel teljesen azonos módon elvégezzük, majd a kalibrációs görbéről (egyenesről) egyszerűen leolvashatóvá válik az ismeretlen oldat koncentrációja..

A spektrofotometria alkalmas különböző *titrálások végpontjelzésére* is (*közvetett koncentrációmeghatározás*). A módszer alkalmazhatóságának feltétele, hogy a titrálás során (vagy a végpont előtt vagy a végpont után) a meghatározandó rendszer fényelnyelése (színe) eltérő legyen. Számos olyan sav-bázis, redoxi ill. komplexometriás titrálás létezik, amely elegendő tesz ennek a feltételnek. Pl. oxálsav KMnO_4 oldattal történő titrálása során a végpont előtt az oldat színtelen, míg a végpont után a feleslegben megjelenő MnO_4^- ionok intenzív lila színe vizuálisan is észlelhető az oldatban. Ha a titrálás során a MnO_4^- ion abszorpciós maximumának megfelelő hullámhosszon mérjük az oldat abszorbanciáját a hozzáadott KMnO_4 mérőoldat fogyásának függvényében, a végpont előtt zérus (vagy közel zérus) abszorbanciákat kapunk. A végpontot követően az abszorbancia rohamosan növekedni kezd. Az így kapott függvényen megjelenő töréspont egyúttal a titrálás végpontja is.

Egy másik példa a Cu^{2+} ionok EDTA mérőoldattal való titrálása, ezt a mérést fogja a jelen gyakorlaton is végrehajtani. Egy Cu^{2+} ionokat tartalmazó híg vizes oldat közismerten halványkék színű. Ennek eredményeként a $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ aquoionok oldatában a látható tartomány „végén”, 760 nm körüli maximummal rendelkező széles abszorpciós sáv jelenik meg a spektrumon. EDTA mérőoldat hozzáadásakor az alábbi reakció játszódik le:

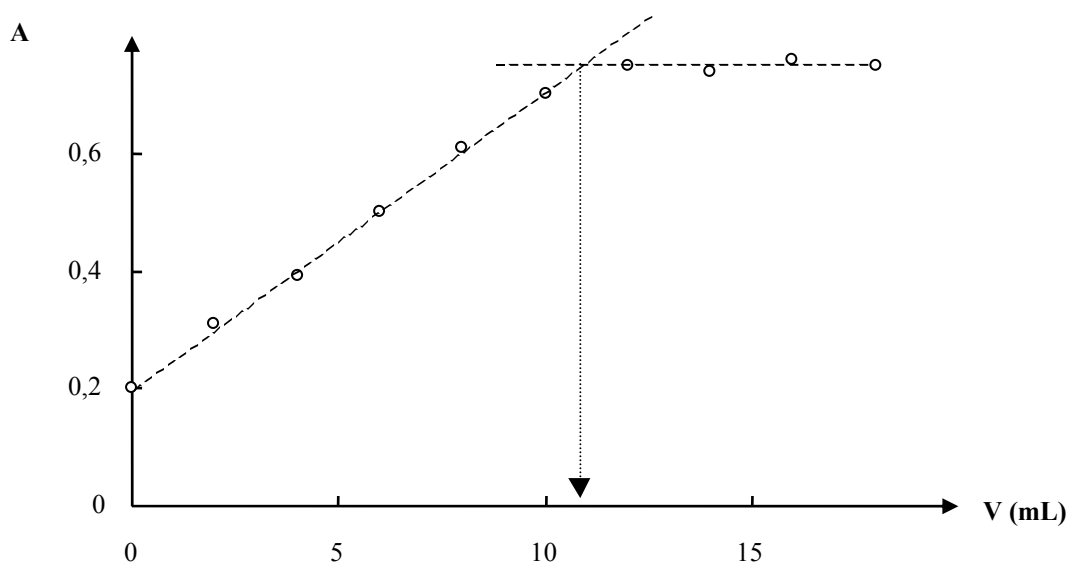


A képződő komplex nagy stabilitása miatt ($\log K_{\text{CuEDTA}} = 18,7$) a reakció viszonylag széles pH-tartományban a fenti 1:1 sztöchiometria szerint, kvantitatíven lejátsszódik. A CuEDTA^{2-} komplex mélykék színű és a látható tartományban 710 nm körül mutat abszorpciós maximumot. A CuEDTA^{2-} komplex tehát a $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ aquoionokhoz képest alacsonyabb hullámhosszakon abszorbeál. Az ilyen spektrális eltolódást (vagyis színváltozást) *auxokróm eltolódásnak* nevezzük (Megjegyzendő, hogy a magasabb hullámhosszak felé való spektrális eltolódást *batokróm eltolódásnak* nevezzük). A komplexképződéssel kapcsolatos színváltozás analitikai célokra könnyen felhasználható. Ha ábrázoljuk egy Cu^{2+} tartalmú oldat EDTA mérőoldattal történő titrálása során a CuEDTA^{2-} komplex elnyelési maximumán mért, hígulással korrigált abszorbanciákat a mérőoldat fogyásának függvényében, az **1. ábrán** bemutatott titrálási görbét kapjuk.

A hígulással korrigált abszorbanciákat a következő képlet alapján számíthatjuk ki:

$$A = A_{\text{mért}} \cdot \frac{(V_0 + V_i)}{V_0}$$

ahol V_0 a kezdeti, V_i pedig az i -edik titrálási pontig összesen hozzáadott térfogatot jelöli.



1. ábra. A hígulással korrigált abszorbancia a mérőoldat fogyásának függvényében egy Cu^{2+} tartalmú vizes oldat EDTA mérőoldattal történő titrálása során.

A $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ aquoionoknál intenzívebb elnyelésű CuEDTA^{2-} részecske a titrálás során képződik, így a mért abszorbancia a hozzáadott mérőoldat térfogatával lineárisan növekszik. Ez a növekedés egészen addig folytatódik, amíg az összes szabad Cu^{2+} el nem reagál az EDTA-val. Mivel az adott hullámhosszon a szabad (nem komplexált) EDTA nem mutat fényelnyelést, a végpont után (tehát EDTA felesleg hozzáadás hatására) az oldat fényelnyelése már nem változik, az abszorbancia közel állandó értéket vesz fel. A kapott titrálási görbe töréspontjához tartozó EDTA fogyás értelemszerűen a titrálás ekvivalenciapontja.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

0,02 M EDTA mérőoldat (a pontos hatóértéket jegyezze fel!)
desztillált víz

1 db 25 cm^3 -es manuális buretta
2 db 100 cm^3 -es főzőpohár (a titráláshoz)
1 db 20 cm^3 -es hasas pipetta (az ismeretlen oldat beméréshez)

1 db 50 cm³-es osztott pipetta (desztillált víz beméréséhez)
1 db Pasteur pipetta gumilabdacsral (a kűvetta feltöltéséhez és kiürítéséhez)
2 db 1 cm-es műanyag kűvetta
1 db pipettázó labda
papírtörő

Jenway 6405 típusú, pásztázó spektrumfelvételtre alkalmas UV-Vis spektrofotométer
Radelkis OP951/1 típusú mágneses keverő keverőrúddal

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

Előkészítés. Kapcsoljuk be a spektrofotométert (Jenway 6405) a műszer hátoldalán található főkapcsolóval. Ezek után a spektrométer kijelzőjén nyomon követhető, amint a műszer önellenőrző rutinjai rendre lefutnak. Néhány perc múlva a műszer üzemmész állapotba kerül, amit a főmenü („**Main menu**”) képernyőn való megjelenése jelez. A menüben öt üzemmód közül lehet választani a tasztatúra kurzornylai és „↵” nyomógombja segítségével: normál spektrofotometria („**Photometrics**”), spektrumfelvétel („**Spectrum**”), több hullámhosszon történő spektrofotometria („**Multi wavelength**”), idő függvényében történő spektrofotometriás mérések („**Kinetics**”) és mennyiségi meghatározás („**Quantitation**”). Érdemes még megfigyelnie a képernyő jobb oldalán mindig látható ikonokat: a két izzólámpa-szerű ikon a volfrám (Vis) és a deutérium (UV) lámpa működését jelzi, míg egy keretben megjelenő szám (pl. **5**) azt mutatja, hogy a motorosan mozgatható küvettatartó éppen melyik pozíciójában található (*a küvettartó szabad mozgását semmilyen körülmények között ne akadályozza, és a meghajtó fogasszíjat is óvja a vegyszerektől, különben a meghajtó szerkezet károsodik!*). Jelen gyakorlat során nem kell mozgatnia a küvettatort, ezért figyelje meg a fenti kijelzést, és az annak megfelelő számozott pozícióba helyezze majd mindig a küvettáját. Ha a küvettatartó mozgatása valamiért mégis szükséges lenne, akkor a pozíció a gyakorlatvezető segítségével akár a billentyűzet számgombjai, vagy a „**Setup**” menü „**Accessory setup...**” almenüjében a „**Multi-position cell changer**” opció alatt adható meg.

A tasztatúra további hasznos gombjai: a „**Goto**” feliratú gomb segítségével normál spektrofotometriás üzemmódban közvetlenül beállíthatjuk a kívánt mérési hullámhosszat, a „**Cal**” gombbal kalibrációt hajthatunk végre az aktuális beállításokkal, míg a nyomtatót ábrázoló gombbal kinyomtathatjuk a képernyőtartalmat (amennyiben egy alkalmas nyomtató csatlakoztatva van). A küvettatartó készülék jobb oldalán található fedélét természetesen a mérések ideje alatt mindig csukva (lehajtva) kell tartania.

A lehetséges üzemmódok közül most a spektrumfelvételt fogja alkalmazni, ezért válassza a főmenüben a „**Spectrum**” opciót. A választott üzemmód képernyőképe mindig olyan, hogy annak alsó sorában egy helyi menü található, amelyben a jobb és bal kurzornylakkal navigálhat. Most a „**Setup**” almenüt válassza ki és ellenőrizze, hogy a következő beállítások vannak-e érvényben (ha szükséges, korrigálja azokat a kurzornylak és

a „↵” nyomógomb, esetleg a számgombok segítségével): „**Measure: Absorbance**” (abszorpciós spektrum felvétele), „**Start wavelength: 500 nm**” (spektrumpásztászási tartomány eleje), „**End wavelength: 1100 nm**” (spektrumpásztászási tartomány vége), „**Scan interval: 5 nm**” (spektrumfelvétel hullámhossz-felbontása), „**Storing warning messages: ON**” (figyelmeztető üzenetek tárolása bekapcsolva). Az almenüből nyíló további almenük közül csak a „**Record range**” és a „**Repeat scan time**” menük tartalmát kell ellenőriznie. Az előbbi almenüben fontos beállítások: „**Noise filter: OFF**” (a műszer ne szűrje ki a spektrum kis intenzitású csúcsait) és „**Auto re-scale: OFF**” (a felvett spektrumot ne automatikus méretezéssel rajzolja ki a képernyőre). A másik („**Repeat scan time**”) menüben azt kell ellenőriznie, hogy az „**Auto repeat scan: OFF**” beállítás (nem akarjuk a spektrumot automatikusan újra és újra felvetetni) és az „**Y-axis min: 0**” valamint „**Y-axis max: 0.5**” értékek vannak-e érvényben.

A titrálás végrehajtása. A 100 cm³-es mérőlombikban kapott ismeretlen oldatból mérjen be egy pontosan 20,00 cm³-es oldatrészletet egy 100 cm³-es főzőpohárba a hasas pipettával, majd adjon hozzá 30 cm³ desztillált vizet az osztott pipettával. Az oldatot kevertesse mágneses keverővel. A két tiszta műanyagküvetta egyikét a Pasteur pipetta segítségével töltsse fel a titrálandó oldattal, a másikat töltsse fel desztillált vízzel (*a küvettákat mindig a műszerből kivéve, és ne színültig, hanem csak kb. 2/3 magasságukig töltsse fel!*). Emelje fel a spektrofotométer mintatartójának a fedelét és helyezze be a desztillált vizes („vakoldat”) küvettát a küvettatartó megfelelő pozíciójába, majd hajtsa le a fedelet. A spektrum felvételét a „**Spectrum**” mérési üzemmódban lévő spektrofotométeren azzal kell kezdenie, hogy felveszi az alapvonalat; ehhez válassza ki a képernyő alsó menüsorából a „**Baseline**” parancsot (ezt csak egyszer, a legelső spektrumfelvétel előtt kell elvégezni). Ha ez befejeződött, az almenü ismét feltűnik. Cserélje ki ekkor a küvettát a mérendő oldatot tartalmazóra és a „**Scan**” parancs kiválasztásával vegye fel annak spektrumát. Szükség esetén a spektrum felvétele megszakítható az „**Abort**” paranccsal.

A felvett spektrum megjelenik a képernyőn. A spektrumban egyetlen elnyelési sávot (csúcsot) kell látnia. A spektrumcsúcs hullámhosszát és magasságát (abszorbancia maximumát) fel kell jegyeznie. Ehhez elő kell hívnia a képernyőre egy kurzort („**Cursor**” parancs az alsó sorbeli menüben), amelyet jobbra és balra mozgathat; a kurzor helyén mért adatokat a jobb felső sarokban fogja mindig látni. A kurzort a „↵” gomb megnyomásával tüntetheti el.

Vegye ki ezek után a mérendő mintát tartalmazó küvettát a küvettatartóból és tartalmát a Pasteur pipetta segítségével **maradék nélkül** vigye át a titrálandó oldatba. Figyelem, nagyon ügyeljen arra, hogy az egyes spektrumfelvételek közötti manipulációk során a lehető legminimálisabb anyagvesztés lépjen fel! Ezután az EDTA mérőoldattal feltöltött bürettából adjon kb. 1-1,5 cm³-es mérőoldatrészletet a titrálandó oldathoz. Az egyes spektrumok felvétele előtt a mérendő oldattal többször öblítse át a küvettát azért, hogy a titrált oldat (a főzőpohárban) és a spektrofotométerben levő oldat (a küvettában) azonos összetételű legyen. A küvettába töltött oldatokat mindig töltsse vissza a titrálandó oldatba. 2-3 átöblítést követően töltsse fel a küvettát és vegye fel az oldat spektrumát. Folytassa a titrálást mintegy

16-18 cm³-es mérőoldatfogyásig, miközben minden mérőoldatrészlethez tartozó spektrum csúcsának hullámhosszát és csúcsabszorbanciáját jegyezze fel táblázatos formában. A titrálást kétszer végezze el, a második titrálás során az ekvivalencia pont környékén alkalmazzon finomabb adagolást kb. 0,50 mL.

Ismeretlen réz(II) koncentráció meghatározása. Ábrázolja az összetartozó fogyás és a hígulással korrigált abszorbancia értékeket grafikusán. Egyenesillesztéssel (grafikusán vagy numerikusán) határozza meg a titrálási görbe töréspontját. A töréspont alapján számítsa ki az ismeretlen törzsoldat Cu²⁺ tartalmát és a koncentráció szórását.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Két titrálási görbe (a mért oldatok spektrumcsúcsának abszorbanciája az EDTA mérőoldat fogyásának függvényében) táblázatosan és grafikusán megadva
- Az ismeretlen Cu²⁺ törzsoldat koncentrációja mg/dm³ és mol/dm³ egységekben és ezen adatok szórását.

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mi az abszorbancia és a transzmittancia definíciója és mi a kettő közötti összefüggés?
2. Ismertesse a Lambert-Beer törvényt és nevezze meg a benne szereplő mennyiségeket és dimenziójukat!
3. Melyek a Lambert-Beer törvény érvényességének határai, soroljon fel eseteket, amikor a törvénytől eltérések lehetnek!
4. Ismertesse a direkt spektrofotometriás koncentrációmeghatározás elvét, kivitelezését és alkalmazásának feltételeit!
5. Milyen esetekben használható a spektrofotometriás végpontjelzés a térfogatós analízisben?
6. Vázolja fel és elemezze az oxalát ionok savas közegben KMnO₄-tal történő titrálása során kapott spektrofotometriás titrálási görbét!
7. Vázolja fel és elemezze a Cu²⁺ ionok EDTA-val történő komplexometriás titrálása során kapott spektrofotometriás titrálási görbét!
8. Ismertesse a Cu²⁺ ionok EDTA-val történő komplexometriás titrálásának spektrofotometriás végpontjelzéssel történő végrehajtásának legfontosabb elvi és technikai lépéseit!
9. Egy 250 cm³ térfogatú és 0,24 mg rézet tartalmazó, Cu-komplex (1:1) oldat 1,0034 cm-es küvettában mért abszorbanciája 0,282. Számítsa ki a moláris abszorpciós koefficiens és a transzmittancia értékét!
(a Cu móltömege: 63,54 gramm/mol;
a helyes megoldás: 18602 dm³·mól⁻¹·cm⁻¹ és 0,522)

10. Fe(III) ionok oldatát titráljuk azonos koncentrációjú Sn(II) oldattal. A titrást spektrofotometriásan (olyan hullámhosszon, amelyen csak a Fe(III) ionok abszorbeálnak) és potenciometrikus úton is követjük. Számítsuk ki a végpontban az abszorbanciát, valamint a Pt elektród és egy kalomel elektród közötti feszültséget! ($E^{\circ}_{\text{Fe(II)/Fe(III)}} = 0,772 \text{ V}$; $E^{\circ}_{\text{Sn(II)/Sn(IV)}} = 0,154 \text{ V}$; $E_{\text{tel. kalomel}} = 0,242 \text{ V}$; a helyes megoldás: 0 és 0,118 V)

MŰANYAGOK AZONOSÍTÁSA

A GYAKORLAT CÉLJA: Az infravörös spektroszkópia módszerének tanulmányozása és alkalmazása műanyagok minőségi azonosítására, más kiegészítő vizsgálatokkal együtt.

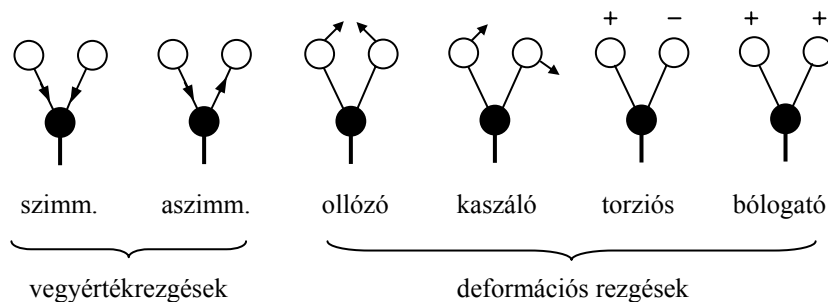
A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

Egy anyagi rendszerben nemcsak a molekulák egésze végez haladó mozgást, hanem a molekulák atomjai és atomcsoportjai egymáshoz képest is állandó mozgásban vannak. Ha a molekulákat mechanikai modellként a kémiai kötések mentén rugókkal összekötött golyók együtteseként képzeljük el, a rugók erejét arányosnak feltételezhetjük a kémiai kötés erősségével (pl. a C=C kétszeres kötésnek megfelelő rugó erősebb a C-C egyszeres kötésénél, stb.), a golyók tömegét pedig vehetjük az általuk szimbolizált atomok tömegével arányosnak. Egy ilyen modell — miként egy valódi molekula is — sokféle belső mozgást végezhet: foroghat az egyes kötéstengelyek körül, rezeghet a kötések mentén vagy egy atomhoz kapcsolódó másik két atom egymáshoz periodikusan közeledve ollózó mozgást végezhet, stb. Minden mozgásforma az energiatárolás egy-egy módjának (*szabadsági fok*) tekinthető és mindegyik sajátos frekvenciával rendelkezik, amellyel kívülről besugározva a molekulát, az abszorbeálja a fényt és vonatkozó részmozgásának amplitúdója (ami a fizikából ismeretes módon a periodikus mozgások energiájával függ össze) növekedni fog. A besugárzó fény intenzitásának növelésével ez fokozódik; extrém esetben a kémiai kötés elszakad.

Elméleti úton megmutatható, hogy egy N atomból álló molekula a haladó mozgás mellett legfeljebb három független forgástengely mentén végezhet forgómozgást és összesen $3N-6$ különböző rezgésformát produkálhat, amelyeket *normálrezgések*nek nevezünk. A normálrezgéseket két fő csoportba soroljuk: a *vegyértékrezgések* a molekula egyes kötéseinek mentén való (annak megnyúlásával-összehúzódásával járó) rezgéseket jelentik, míg a *deformációs rezgések* a molekula kötésszögeinek megváltozását okozzák. Az **1. ábra** példaként bemutatja a =CH₂ (metilén) csoport normálrezgéseit.

A molekulák forgásállapotai és normálrezgései az infravörös (IR) tartományba eső elektromágneses sugárzással gerjeszthetők. Ebből következően az IR tartományban felvett abszorpciós spektrumok a molekulák forgás- és rezgésállapotairól szolgáltatnak információkat. Fontos megjegyezni azonban, hogy az infravörös színpíven csak azok a sávok fognak megjelenni, amely energiához tartozó intramolekuláris mozgásállapot-változás a

molekula dipólusmomentumát megváltoztatja (*kiválasztási szabály*). A forgási és rezgési mozgásállapotok eltérő hullámhosszúságú infravörös fénnel gerjeszthetők. A forgási színek a 50-300 μm hullámhosszúságú tartományban, a rezgési színek a 2,5-50 μm tartományban, míg a rezgési-forgási (mindkét mozgásállapot megváltozását tükröző) színek a 0,8-2,5 μm tartományban keletkeznek.

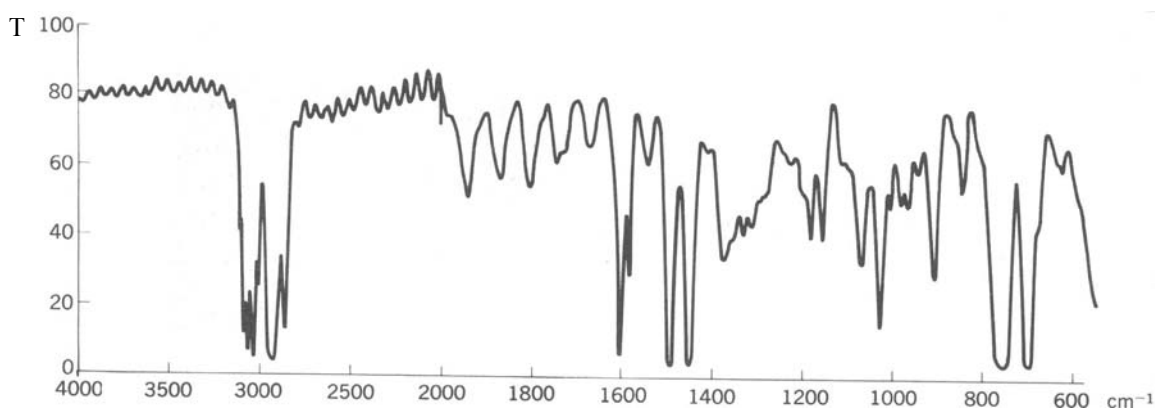


1. ábra. A metilén ($=\text{CH}_2$) csoport vegyérték- és deformációs rezgései

Bár az infravörös színek kvantitatív információt is hordoz, azt elsősorban kvalitatív analitikai célokra használjuk. A szerves, illetve többatomos szervesetlen molekulák azonosítására, jelenlétük kimutatására és esetleg új vegyületekben az atomok kapcsolódási sorrendjének meghatározására használjuk. Ezekre az alkalmazásokra az adja a lehetőséget, hogy egyes atomcsoportokhoz (pl. funkciós csoportok) vagy kötéstípusokhoz tartozó, az infravörös színekben megjelenő sávok helye nem változik jelentősen akkor sem, ha a molekularészlet környezete megváltozik. Ilyen jellemző sávok (ún. *csoportfrekvenciák*) például a C-H vegyértékrezgések a $2850\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (az IR spektroszkópiában praktikus okokból kifolyólag elterjedt a *hullámszám*, mint a fény hullámhosszát jellemző mennyiség, ami a cm-ben kifejezett hullámhossz reciproka) tartományban jelennek meg, a $\text{C}\equiv\text{C}$ hármas kötéseknek megfelelő sávok az $2000\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$ tartományban, míg a $\text{C}=\text{C}$ kettőskötéseké az $1540\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$, és így tovább (részletesen lásd az **1. táblázatot**). A $650\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ közötti IR spektrumrészlet általában igen bonyolult, ezért azt arra használják, hogy az adott molekulát ujjlenyomatszerűen azonosítsa.

Az infravörös spektroszkópia gyakorlati alkalmazása során nagy körültekintést kíván a minta előkészítése, a mérőcella kiválasztása. A gondot az okozza, hogy pl. egy mintaoldat esetében értelemszerűen az oldószer, a minta mérendőn kívül jelenlévő egyéb komponensei, sőt a mintacella anyaga maga is elnyelést mutathat az IR spektrum egy rá jellemző részén, ami a mérendő komponens ott előforduló sávjainak megfigyelését zavarhatja. A mérőcella anyagának ráadásul mechanikailag szilárdnak és kémialag inertnek is kell lennie. Mindez megfontolást igényel a mérési körülmények megválasztásakor. A mérőcella ablakait gyakran készítik vékony alkálisó kristályból, kvarcból vagy polietilénből (pl. a KBr $400\text{--}40000\text{ cm}^{-1}$, a kvarc $2700\text{--}62500\text{ cm}^{-1}$, a polietilén $33\text{--}50625\text{ cm}^{-1}$ hullámszám tartományban használható).

Gázhalmazállapotú mintákhoz, amelyek fényelnyelése kicsiny, a lehető leghosszabb mérőcellákat használják, hogy minél érzékenyebb mérés legyen elvégezhető. Egyes esetekben nagyon hosszú cellára lenne szükség, ezért úgy járnak el, hogy tükrökkel a fényt sorozatos visszaverődésre kényszerítik, amivel akár 150 méteres tényleges, mérőcellában megtett fényputat is létre lehet hozni. Ez ppm koncentrációjú szennyezések kimutatását is lehetővé teszi például füstgázokban. Folyékony minták esetében olyan oldószert kell választani, ami nem zavarja a mérést saját elnyelésével; a leggyakrabban széntetrakloridot és széndiszulfidot használnak ($1333\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ és $650\text{--}1333\text{ cm}^{-1}$ közötti mérésekhez). A szilárd mintákat finomra porítják, majd kevés KBr porral összekeverik és nagynyomású sajtóban pasztillákra sajtolják. Lényeges, hogy a pasztilla víztartalma minimális legyen. A legkönnyebben természetesen egy darabból álló, tömb vagy lemez alakú szilárd minták, pl. műanyagok (**2. ábra**) vizsgálhatók az IR módszerrel, amelyek mérése lényegében semmilyen előkészítést nem igényel.



2. ábra. Egy polisztirol műanyagfilm transzmissziós infravörös színeképe

A gyakorlat során a kiadott ismeretlen, homogén összetételűnek tekinthető műanyag (pl. hulladék) minták típusát az infravörös spektrum illetve kiegészítő vizsgálatok révén fogja meghatározni. Az IR spektrum értelmezéséhez használja az egyes műanyagokra jellemző ismétlődő molekulárszleteinek táblázatát (**1. táblázat**) és a karakterisztikus frekvenciák listáját (**2. táblázat**). A műanyagokra — sok egyéb paraméter mellett — jellemző lágyuláspontjuk, sűrűségük, az égetés vagy pirolízis során való viselkedésük is (**3-4. táblázat**). Ezen vizsgálatok közül most az égetési és a pirolízis tesztet fogja elvégezni.

1. táblázat. Egyes műanyagokra jellemző, ismétlődően előforduló molekularészletek

Kémiai elnevezés	Ismétlődő csoport	Rövidítés, kereskedelmi név
Polietilén	-CH ₂ -CH ₂ -	PE
Polipropilén	-CH ₂ -CH(CH ₃)-	PP
Polibutén-l	-CH ₂ -CH(CH ₂ -CH ₃)-	PB, Duraflex
Poliizobutilén	-CH ₂ -(CH ₃)C(CH ₃)-	PIB, Vistanex
Polisztirol	-CH ₂ -CH(Ar)-	PS, Styron, Edistar
Poli(vinil-klorid)	-CH ₂ -CH(Cl)-	PVC, Duran, Vestolit
Poli(vinilidén-klorid)	-CH ₂ -CCl ₂ -	PVDC, Ixan, Saran
Poli(tetrafluor-etilén)	-CF ₂ -CF ₂ -	PTFE, Teflon, Halon, Fluon
Poli(trifluoro-kloro-etilén)	-CF ₂ -CF(Cl)-	PCTFE, Teflon, Neoflon
Poli(vinil-fluorid)	-CH ₂ -CH(F)-	PVF, Tedlar, Kynar
Poli(akril-nitril)	-CH ₂ -CH(CN)-	PAN, Barex
Poliakrilát	-CH ₂ -CH(COOR)-	Poliakrilát
Poli(metil-metakrilát)	-CH ₂ -C(CH ₃)(COOCH ₃)-	PMMA, Plexiglas, Acrylite
Poli(oxi-metilén)	-CH ₂ -O-	POM, Delrin, Celcon, Ultraform
Poli(fenilén-oxid)	-Ar(CH ₃)(CH ₃)-O-	PPO/PPE, Prevex, Luranyl
Policarbonát	-Ar-C(CH ₃)(CH ₃)-O-CO-O-	PC, Lexan, Makrolon
Polietilén-tereftalát	-CH ₂ -CH ₂ -O-CO-Ar-CO-O-	PET, Petra, Dacron, Valox
Polibutilén-tereftalát	-(CH ₂ -CH ₂) ₂ -O-CO-Ar-CO-O-	PBT, Tenite, Celanex
Nylon 6	-NH(CH ₂) ₅ CO-	PA 6
Nylon 6,6	-NH(CH ₂) ₆ NH-CO(CH ₂) ₄ CO-	PA 66, Zytel, Ultramid
Nylon 6,10	-NH(CH ₂) ₆ NH-CO(CH ₂) ₈ CO-	PA 610, Amilan, Ultramid
Nylon 11	-NH(CH ₂) ₁₀ CO-	Rilsan B
Nylon 12	-NH(CH ₂) ₁₁ CO-	PA 12, Vestamid, Rilsan A
Poliszulfon	-Ar-(O=S(=O)-Ar-O-	PSU, PES, Ultrason, Vietrex
Poli(vinil-acetát)	-CH ₂ -CH(O-CO-CH ₃)-	PVAC, Vinylite
Poli(vinil-akohol)	-CH ₂ -CH(OH)-	PVAL, Vinex
Poli(vinil-éter)	-CH ₂ -CH(OR)-	Lutonal
Szilikon	-(R-)Si(-R)-O-	SI, Silastic, Baysilone
Kazein	-NH-CO-	Kazein

2. táblázat. Néhány atomcsoport fontosabb karakterisztikus hullámszáma

Kötéstípus	Hullámszám (cm ⁻¹)
O-H	3700-2500
N-H, H-N-H	3500-3200
C-H	3300
C-H	3150-3000
C-H	3100-3010
C-H	2970-2840
S-H	2600-2550
Si-H	2300-2100
N=C=O	2270
C=N	2270-2240
C=C	2270-2100
N=N=N	2170-2130
C=C=C	1960
C=O	1870-1540
C=C	1690-1590
C=C	1610-1500
N=N	1640-1570
C=N	1690-1470
N-H	1640-1510
O=C-O	1620-1540
O-N=O	1670-1610
O÷N÷O	1650-1500
C-H	1490-1340
CH ₃	1430-1280
CH ₃	1390-1360
O-H	1450-1210
O=C-O	1420-1300
C-N	1420-1020
C-O	1430-1050
C-N=O	1410-1310
N-N=O	1410-1310
C-F	1410-1000
O=S=O	1350-1300
N=N=N	1340-1180
P=O	1300-1200
C-O-C	1270-1230
C-O-C	1200-1050
C=S	1200-1050
C-O-C	1150-1050
P-O-C	1230-1000
Si-O	1100-1000
O=S=O	1160-1140
C=C=C	1060
C-H	1000-690
O-H	900-850
C-H	900-690
P-O-P	970-930
P-F	900-800
C-O-O-C	890-820
C-Cl	780-560
S-S	540-500

3. táblázat. A különféle műanyagok viselkedése az égetési próba során

Éghetőség	A láng tulajdonsága	A gőzök szaga, jellege	Műanyag
nem éghető	-	irritáló, HF-szerű	szilikon, PTFE, poli(trifluor-klór-etilén), poliimid
nehéz meggyújtani, és a lángból kivéve az égés abbamarad	fényes, kormozó	fenol, formaldehid	fenolgyanta
	fényes, sárga láng	ammónia, formaldehid	amino gyanta
	zöld szegélyű	HCl-ra emlékeztető	klórozott gumi, PVC, poli(vinilidén-klorid)
	felvillanó, kormozó	-	polikarbonát
	sárga, szürke füst	-	szilikongumi
	narancssárga láng, kék füst	égő szarura emlékeztető	poliamid
a lángban jól ég, és az égés folytatódik a lángból való kivétel után is	fényes, kormozó	édesekés, földgáz	polisztirol
	sötétsárga, kissé kormozó	ecetsav	poli(vinil-acetát)
	sötétsárga, kormozó	égő gumi szaga	gumi
	fényes, kék középpel	édesekés, gyümölcs-szerű	poli(metil-metakrilát)
	kékes	formaldehid	poli(oxi-metilén)
	sötétsárga	ecetsav	cellulóz-aceto-butirát
	fényes zöld, szikrázó	ecetsav	cellulóz-acetát
	narancssárga	égő papír	cellulóz
	fényes, lobogó	nitrogén-oxid	cellulóz-nitrát
	sárga	fenol, égő papír szaga	fenolgyanta
A lángban ég, de a lángból kivéve az égés egyre lassabb, esetleg abbamarad	fényes, bomló anyag	irritáló, torkot kaparó	poli(vinil-alkohol)
	narancssárga-sárga színű	égő gumi szaga	polikloroprén
	narancssárga, kormozó	aromás	polietilén-tereftalát
	sárga, kék szegéllyel	csípős (izocianát)	poliuretán
	sárga, kék középpel	paraffin	polietilén, polipropilén
	fényes, kormozó	csípős	poliészter gyanta
	sárga	fenol	epoxi gyanta

4. táblázat. A különféle műanyagok viselkedése a pirolízis tesztben

Erősen savas, pH= 0,5 - 4	Gyengén savas, pH = 5 - 5,5	Enyhén lúgos, pH= 8 - 9,5
Halogéntartalmú műanyag	Poliolefin	Poliamid
Poli(vinil-észter)	Poli(vinil-alkohol)	ABS polymer
Cellulóz-észter	Poli(vinil-acetát)	Poli(akril-nitril)
PET	Poli(vinil-éter)	Fenol és Krezol gyanták
Poliuretán	Sztirol polimer	Amino-gyanták
Telítetlen poliészter gyanta	Poli(metil-metakrilát)	
Vulkánfibre	Poli(oxi-metilén)	
Poli(alkilén-szulfid)	Polikarbonát	
	Szilikon	
	Fenolgyanta	
	Epoxi gyanta	
	Térhálósított poliuretán	

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

- 1 db fémcsipesz (az égetési teszthez)
- 3 db kémcső (a pirolízis teszthez)
- 1 csomag univerzál indikátorpapír (a pirolízis teszthez)
- 1 csomag háztartási vatta vagy kevés papírtörő (a pirolízis teszthez)
- 1 db borszesz égő (a pirolízis teszthez)
- 1 db kémcső fogó (a pirolízis teszthez)
- 1 db spriccflaska desztillált vízzel
- 1 db kémcsőállvány
- 1 db védőszemüveg vagy védőálarc

Spektromom 2000 típusú infravörös spektrométer

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK LEÍRÁSA

Az infravörös spektrum felvétele. A Spektromom 2000 típusú IR spektrométer használata a következő módon történik. A műszer bekapcsolásához előbb a „**Mains**”, majd az „**Operation**” kapcsolót is fel kell kapcsolnunk (ezek jelzőlámpája felgyullad); a készüléknek kb. 30 perc bemelegedési időre van szüksége. A spektrométer, amit használni fog, nem a legmodernebb készülék, ezért annak mérés előtti beállításával a szokásosnál egy kicsit többet kell majd foglalkoznia.

A mérés előkészítéséhez az íróműbe kell helyezni az író tollat, és új regisztráló papírt kell elhelyezni a dobon. A dobon a papírt a rugós leszorító lemezekkel úgy kell rögzítenie, hogy a dobon látható színes csík egy vonalba kerüljön a papíron látható csíkkal. A „**Scan**” kapcsolót „**Stop**” állásba kell helyezni, majd a regisztráló dobót kézzel a kiindulási helyzetbe forgatni.

A gyakorlat elején ellenőriznie kell az erősítést is, és ha szükséges, állítania kell annak mértékén. Ehhez a „**Scan**” kapcsoló „**Stop**” állás mellett a dobót kézzel 1000 cm^{-1} -re állítja, majd az „**Energy**” gombot az „**1**” fokozatra forgatja. Az író tollat a 90% értékre szabályozza a „**100%**” gombbal. A fényútba ekkor egy papírlapot tol be annyira, hogy az író toll kitérése tovább csökkenjen, kb. 80%-ra. Kihúzva a papírlapot az író műnek vissza kell állnia a 90%-os értékre. Ha az író mű túllendül, ingadozik, úgy csökkenteni kell az erősítést a „**Gain**” gombbal. Ha az író mű túl lassan mozog, akkor növelni kell az erősítést. Az erősítés beállítása után azt ismét 100%-ra szabályozunk a „**100%**” gombbal.

Mindezek után vegye fel a kiadott műanyag fólia vagy lemez minták IR spektrumát a következőképpen: helyezze a minta egy alkalmas darabját a fényútba (pl. egy papírkeretre való erősítés után), állítsa a regisztráló papír dobját 5000 cm^{-1} -re, az energia gombot pedig forgassa „**1**” állásba. 15 perces felvételi sebességre kapcsolunk, 5-10 s múlva az író tollat a regisztráló papírra engedjük. Minden felvételt új papírra rögzítsünk, amelyet gondosan

feliratozunk. Ha a műanyag minta fényelnyelése túl nagy lenne, úgy célszerű azt óvatosan melegítve nyújtással vékonyítani; ha túl kicsi a fényelnyelés, több réteget helyezünk egymásra és így vegyük fel a spektrumot ismét.

Égetési teszt. Fémcsipesszel alacsony hőmérsékletű gázlángba tartjuk a vizsgálandó műanyag egy darabját. Megfigyeljük, hogy az könnyen gyullad-e meg, milyen színű lánggal ég, égéstermékének van-e valamilyen jellegzetes szaga, majd a lángból kivéve folytatódik-e az égés. *A kísérletet vegyi fülke alatt végezzük, védőszemüveg vagy védőálarc használata mellett,* gondolva az esetleges elcseppenő, szétfröccsenő anyag veszélyére is. A tapasztalatokat vessük össze a **3. táblázatban** leírtakkal.

Pirolízis teszt. Egy száraz kémcsőbe kis műanyag darabkát helyezünk. A kémcső szájához desztillált vízzel nedvesített univerzál indikátorpapír csíkot erősítünk oly módon, hogy a kémcső száját egy alkalmas méretű benedvesített vatta-dugóval lazán ledugózzuk. *Vegyi fülke alatt, védőszemüveg vagy védőálarc használata mellett* a kémcsövet kémcsőfogóba rögzítve lassan, enyhén melegíteni kezdjük gázlángba tartva. A melegítés közben figyeljük az indikátorpapír színváltozását. A pirolízis gáztermékeinek vízben való oldódásakor előálló pH alapján a műanyag típusa valószínűsíthető (lásd **4. táblázat**). Ügyeljen arra, hogy elegendő minta mennyiséggel végezze el a próbát, mert ha túl kevés pirolízisgáz képződik, az indikátorpapír esetleg nem vált színt.

Kiértékelés. A műanyag mintákra vonatkozó minden megfigyelést – amelyek közé tartoznak a vizuális és mechanikai jellemzők is — gondosan jegyezzen fel a füzetébe, mert ezek jelentősen segíthetik az eredményes azonosítást. A felvett IR spektrumok domináns, legintenzívebb elnyelési sávjait feliratokkal azonosítsa a spektrumokon. Az ismeretlen minták minőségi azonosítását segítő a gyakorlatvezetője rendelkezésére fog bocsátani egy szűkített listát a szóba jöhető műanyag típusokról. Eredményeit indokolja meg alaposan.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- A felvett IR spektrumok fénymásolata vagy eredetije, a domináns elnyelési sávok azonosításával
- A vizuális és kísérleti megfigyelések részletes leírása
- A kiadott ismeretlen műanyag minták minőségi azonosítása

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Mit nevezünk normálrezgéseknek?
2. Mit nevezünk vegyérték rezgéseknek?
3. Mit értünk deformációs rezgések alatt? Soroljon fel ezekre példákat!
4. Mi az infravörös spektroszkópia kiválasztási szabályának lényege?
5. Mit jelent a csoportfrekvencia fogalma?

6. Definiálja, mit értünk hullámszám alatt!
7. Milyen megfontolásokat tesz a mérőcella anyagának kiválasztása és a minta előkészítése során infravörös spektroszkópiai mérés előtt?
8. Mit tehet, ha túl nagy a minta fényelnyelése (pl. vastag műanyag darab), vagy túl kicsi a minta fényelnyelése (pl. gázminta esetén), hogy felvehesse az IR spektrumot?
9. Hogyan változik az egyes, kettes, hármas szén-szén kötés csoportfrekvenciájának hullámszáma a kötéserősséggel (nő vagy csökken)? Miért?
10. Milyen jellemzői alapján azonosíthatja a PVC műanyagot?

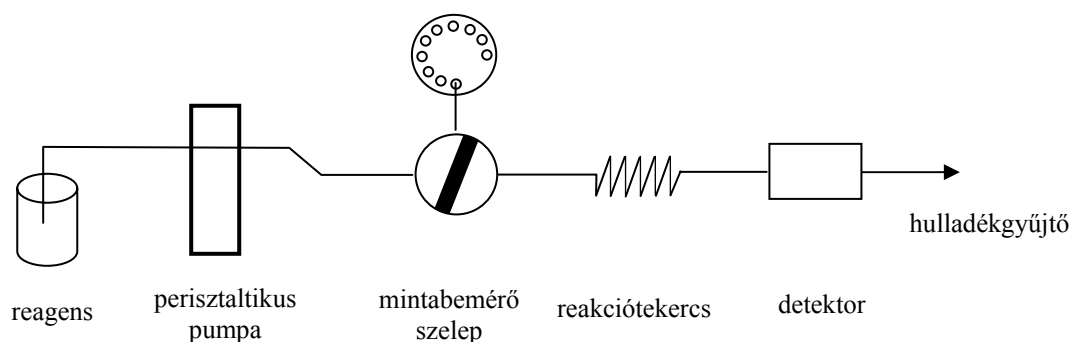
ÁRAMLÁSOS RENDSZERŰ AUTOMATIKUS ANALIZÁTOR

A GYAKORLAT CÉLJA: Az áramlász rendszerű automatikus analizátor megismerése és alkalmazása nitrit és/vagy nitrát ionok mennyiségi meghatározására vízmintákból.

A MÉRÉSI MÓDSZER ELVE

Könnnyen belátható, hogy az analitikai eljárások többségének ismétlődő feladatai — különösen a műszeres analitikai eljárásoké — viszonylag egyszerűen automatizálhatóak. A számítógépes műszervezélés és mérésadatgyűjtés ma már mindennapos megoldás — alkalmas mechanikai és elektronikai eszközök segítségével azonban a mintaelőkészítés feladatai (pl. szűrés, elválasztási műveletek, dúsítás, stb.) is automatikusan vagy minimális operátori beavatkozással kivitelezhetők. Az ilyen megoldások előnyei nyilvánvalók; az analízis gyorsabbá, reprodukálhatóbbá, objektívebbé (pontosabbá) és sok esetben olcsóbbá is válik. Kellően érzékeny detektorok alkalmazásával a rendszer elemei akár miniaturizálhatóak is, ami a szükséges mintamennyiséget és reagensigényt drasztikusan csökkenti. Természetes azonban, hogy az ilyen automatikus berendezések leginkább a standardizált, rutin feladatok elvégzésére használhatóak. Számos, analitikai eredményeket igénylő gyakorlati területen, mint például a klinikai, mezőgazdasági és környezetvédelmi analízis területén, az ilyen automatikus analizátorok iránt az igény évtizedek óta jelentős és évről-évre rohamosan növekszik.

Ezt az igényt igyekeznek kielégíteni az *áramlász rendszerű analizátorok* (FIA, Flow Injection Analysis), amelyekkel leginkább folyadékminták kezelhetők. Nem véletlen, hogy folyadékminták kezelésére terveztek először ilyen automatikus analizátorokat, hiszen a folyadékok csöveken keresztül perisztaltikus pumpákkal szállíthatók, adagolásuk automatikus szelepekkel egyszerűen megvalósítható, a minta reagensekkel való elegyítése könnyen megoldható, a minta mérése átfolyós rendszerű detektor cellákban kivitelezhető, stb. Egy egyszerű rendszer koncepcióját az alábbi ábra mutatja be (**1. ábra**).

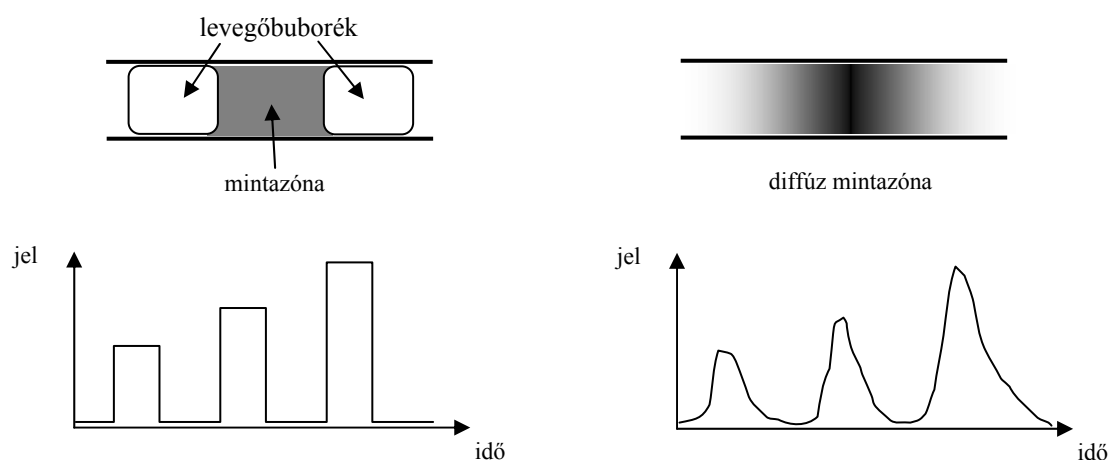


1. ábra. Egy áramlásos rendszerű automatikus analízátor általános felépítési sémája

Amint az ábrán is látható, a rendszer felépítése nagymértékben hasonló a HPLC rendszerekéhez; a legfontosabb eltérést a kisnyomású (perisztaltikus) pumpa valamint a kolonna helyett egy reakciótekercs használata jelenti. Az analízátorban a pumpa segítségével egy megfelelő reagenst áramoltatunk folyamatosan a detektoron keresztül. A mintát egy – pl. forgótányéros működési elvű — automatikus mintaváltó adagolja a reagens áramlásba egy szelepen át; ez a szelep leggyakrabban a folyadékkromatográfiából ismert hatutas adagoló szelep, megfelelő méretű mintahurokkal ellátva. A mintaoldat és a reagens keveredését és a reakció lejátszódását elősegítendő a folyadék egy reakciótekercsen (ez lényegében nem más, mint egy hosszabb csőszakasz tekercsszerűen felcsévélve) áthaladva jut a detektorba, majd onnan a hulladékgyűjtő edénybe. Detektorként elvben mindenfajta szelektív HPLC detektor (pl. spektrofotometriás, fluorimetriás, tömegspektrometriás, stb.) vagy potenciometriás, atomspektroszkópiás mérőberendezés használható, egyszerűsége miatt azonban leggyakrabban egy UV/Vis spektrofotometriás mérőcella használatos. Ekkor az alkalmazott reagens is egy színekfejlesztő reagens; a detektoron áthaladó színes mintazóna alkalmas hullámhosszon mért fényelnyelése szolgáltatja a hasznos jelet. Természetesen nemcsak egyetlen, hanem többféle reagens használatát igénylő analitikai módszer is megvalósítható; ilyenkor reagensenként külön pumpát, de méginkább egy közös tengelyű többcsatornás perisztaltikus pumpát használunk a folyadékok továbbítására és igény esetén a rugalmas pumpacsövek átmérőjének változtatásával biztosíthatjuk az elegyedő reagens megfelelő térfogatarányát. A reagens keveredését minden T vagy Y alakú csötoldal után egy-egy reakciótekerccsel kell segíteni. Bonyolultabb rendszerek esetén akár katalizátorok, gáz/folyadék szeparátorok, stb. is beiktathatók a csőhálózatba, amelyet angol szakkifejezéssel *manifold*-nak nevezünk. A teljes rendszer működését (pumpasebesség, szelep működtetése, mintaváltó irányítása, stb.) természetesen mindig egy számítógépprogram vezérli és egyúttal gyűjti a mérési adatokat is. A mérési folyamat ütemezése és a csőszakaszok hosszának/átmérőjének méretezése nagyon fontos, hiszen pl. pontosan kell tudnunk, hogy mikor kerül a mintazóna a detektorba, megfelelő reakcióidőt kell biztosítanunk, stb. Érzékeny

detektálás és optimalizált rendszer esetében a mérési sebesség többszáz minta is lehet óránként, a mintaigény pedig mindössze néhány mikroliter.

A leírthoz hasonló áramlásos analizátorokban a mintazóna csőben való előrehaladása során bekövetkező diffúzió miatt az analitikai jel (pl. a kromofor abszorbanciája) nagysága időben változó lesz ugyanúgy, mint a HPLC technikában. Ezeket az analizátorokat *injektálós rendszerű* áramlásos analizátoroknak nevezzük. Egy másik megoldásban a mintazónát levegő buborékokkal határolják, miáltal is az nem tud majd a szét diffundálni a folyadék áramlása során. Bár ez utóbbi, *szegmentálós rendszerű* áramló analizátorok mechanikailag némiképpen bonyolultabbak, azonban itt az analitikai jel nagysága a mintazóna teljes hosszában (időben) előnyösen állandó. Az elmondottakat a **2. ábra** illusztrálja.

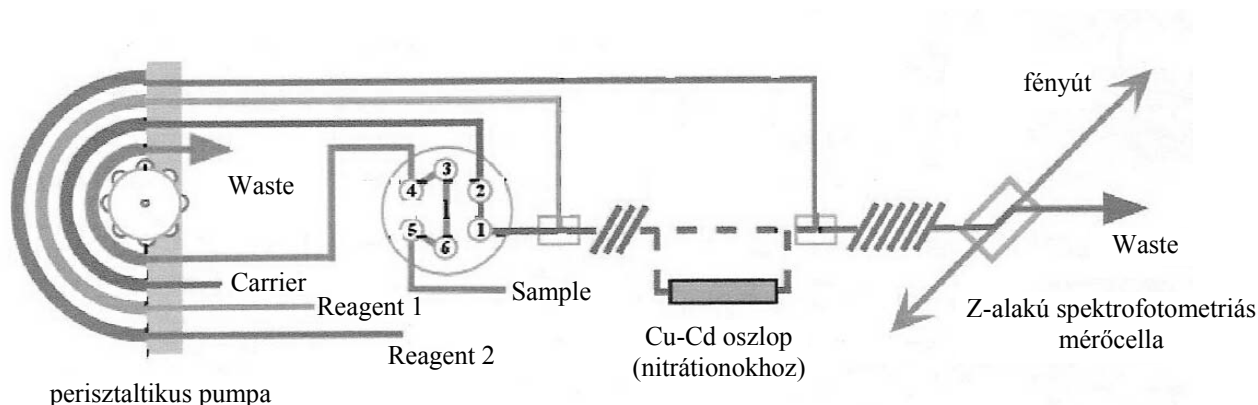


2. ábra. A mintazóna és az analitikai jel viselkedése egy szegmentálós rendszerű (balra) és egy injektálós rendszerű (jobbra) analizátor esetén

Könnyen belátható, hogy a FIA nem önálló, újszerű analitikai módszer, hiszen a mérendő komponens meghatározása egy már jól bevált műszeren és annak ismert kémiai mintaelőkészítési lépésein alapul. A FIA lényegében egy automatikus mintakezelési/előkészítési koncepció, amely eredményesen alkalmazható a műszeres analízis számos területén. Az általános alkalmazhatósággal kapcsolatban gondoljuk el, hogy például egy lángatomabszorpciós spektrométerhez kapcsolva egy alkalmas FIA manifoldot elérjük, hogy: 1) viszkózus vagy az egyéb alkotóelemeket nagy koncentrációban tartalmazó minták is könnyebben kezelhetők, hiszen azok így csak rövid ideig terhelik a porlasztót/égőfejet, míg az idő nagy részében a reagens áramlás öblítő hatást fejt ki, 2) a mintaváltási idő meggyorsul, hiszen nem kell a minta bemosására/kimosódására hosszú időt várni (a következő minta már beinjektálható, amikor az előző minta még a porlasztó felé halad a csővezetéken keresztül), 3) a mérendő komponens megfelelő kémiai átalakítása révén a kimutatási határok jelentősen csökkenthetők (gondoljon pl. a hidridképző félfémes elemek hidridjeiké való konvertálására, vagy a higany mérésére gőzállapotban a higanyvegyületek redukciója után, stb.). A teljesen automatikus, rutin mérőrendszerek és sokoldalú detektor esetében természetesen az is

kivitelezhető, hogy a „manifold” a műszer egy cserélhető kazettájában (moduljában) foglaljon helyet, ami így könnyen, gyorsan kicserélhető, ha más komponens mérésére van szükség.

A jelen gyakorlat során nitritionok mennyiségi meghatározását fogja elvégezni egy FIA rendszerrel. A FIA rendszer injektálós rendszerű, detektora egy olyan száloptikás spektrofotométer, amely a teljes UV/Vis elnyelési spektrumot képes rögzíteni. A manifold felépítését a **3. ábra** mutatja be. Az ábrán és a berendezésen látható angol jelölések magyar fordítása a következő: minta (Sample), hulladék (Waste), vivőközeg (Carrier), 1-es és 2-es reagens (Reagent 1, Reagent 2).



3. ábra. A gyakorlaton használandó manifold felépítése. Az adagolószelep töltő állásban látható.

A meghatározás kémiai alapelve röviden a következő: a mintabeli nitritionok reakciója szulfanilamiddal és N-1-naftil-etiléndiammin-dihidrokloriddal (röviden NEDDHC) intenzív lila színű azofestéket ad, amely fényelnyelésének maximuma 540 nm-en mérhető (ez a színekfejlesztő reagensanyag a 2-es reagens). Nitrátionok meghatározása oly módon lehetséges, hogy azokat előzetesen egy Cu-Cd tartalmú oszlopon katalitikusan redukáljuk – következésképpen egy ilyen oszlop jelenléte esetében a mért koncentráció a nitrit- és nitrátionok együttes koncentrációja lesz. Mivel a meghatározást fémionok zavarhatják, ezért célszerű a mintát a színekfejlesztő reagenssel való érintkezés előtt komplexképző reagenssel reagáltatni, amely maszkírozza a fémionokat. A jelen módszerben erre ammónium kloridos EDTA oldat szolgál (1-es reagens). A minta esetleges higany és tioszulfátion-tartalma károsítja a Cu-Cd katalitikus oszlopot, amely hasznos felületét olajos szennyeződések megtapadása is csökkenti. A mintában nagyobb szemcsék illetve zavarosság jelenléte a spektrofotometriás mérés pontosságát befolyásolja, ezért a minta szűrése javasolható. Természetesen a minta mátrixának nem lehet számottevő fényelnyelése 540 nm-en. A vivőközeg desztillált víz. A mérési eljárás nitrátionok meghatározására a kb. 3-715 μM tartományban, nitritionok meghatározására a kb. 1-140 μM tartományban képes. Pontossága $\pm 2\%$, mérési sebessége kb. 100 minta óránként.

SZÜKSÉGES ANYAGOK, ESZKÖZÖK ÉS MŰSZEREK

alt. minőségű KNO_2 (a kalibráló oldatok készítéséhez)
250 mL 3 mM EDTA/1,6 M NH_4Cl oldat pH=8,5-ra beállítva NaOH-dal (1-es reagens)
250 mL 4 mM NEDDHC/0,25 M szulfanilamid/1 M H_3PO_4 (2-es reagens, sötét edényben!)
desztillált víz (vivőközegként és oldatkészítéshez, gáztalanítva)

2 db 50 mL-es főzőpohár (a só mérlegeléséhez és a pipetázás segítésére)
8 db 50 mL-es mérőlombik (a törzsoldat, a kalibráló oldatok és az ismeretlenek számára)
1 db pipetta 0,1-1 mL térfogatok kiméréséhez (állítható digitális vagy üveg)
3 db 250 mL-es Erlenmeyer lombik (a vivőközeg, és az 1-es és 2-es reagens tárolására)
1 db 500 mL-es Erlenmeyer lombik (a hulladék tárolására)
eldobható műanyag transzfer pipetták (a mintaváltó tubusainak feltöltésére)

FIALab 2500 típusú FIA rendszer nitrit vagy nitrit/nitrát manifolddal (plexi keretben)
SAMP 3000 típusú forgótányéros automatikus mintaváltó mintatartó tubusokkal
Ocean Optics USB 2000 típusú UV/VIS száloptikás spektrométer volfrám lámpával
Vezérlő számítógép szoftverrel és nyomtatóval

AZ ELVÉGZENDŐ FELADATOK ÉS A FELHASZNÁLANDÓ MŰSZEREK KEZELÉSÉNEK LEÍRÁSA

A rendszer üzembehelyezése. A mérőhelyen a következő részegységeket találja meg: a komplett manifoldot (perisztaltikus pumpával, motorizált hatutas mintaadagoló szeleppel és Z-alakú átfolyós spektrofotometriás küvettaival) tartalmazó központi FIALab 2500 modul; a SAMP3000 típusú forgótányéros automatikus mintaváltót; egy száloptikás spektrométert különálló fényforrással; valamint a rendszert vezérlő számítógépet. Először kapcsolja be a mérőhely elektromos elosztóján található kapcsolót (FIA feliratú) – ezzel áram alá helyezte az összes részegységet. Kapcsolja be a számítógépet és annak monitorát is az előlapjukon található bekapcsoló gombokkal. Ezek után ellenőriznie kell, hogy a **3. ábrán** is látható manifold megfelelően össze van-e kapcsolva a részegységekkel és a folyadéktároló edényekkel. Sorban a következőket ellenőrizze: az egyik kék színű száloptikás flexibilis fénykábel a spektrométert (fekete színű, zsebszótár méretű fémdoboz) a Z-cella egyik csatlakozójával van összekötve, míg a másik fénykábel a fényforrást (kék színű, hasonló alakú fémdoboz) köti össze a cella másik csatlakozójával. A „Waste” feliratú két zöld színű műanyag kapilláris a hasonló feliratú üres hulladéktároló edénybe (nagy méretű Erlenmeyer lombik), míg a „Sample” feliratú kapilláris a „Carrier/vivőközeg” feliratú edénybe (250 mL-es Erlenmeyer lombik) vezessen. A három darab 250 mL-es Erlenmeyer lombikot feliratuknak megfelelően tölts fel a polcon megtalálható oldatokkal — a „Carrier/vivőközeg” feliratú edénybe desztillált vezet kell töltenie. A „Carrier”, „Reagent 1” és „Reagent 2” feliratú kapillárisokat ezek után dugja bele az azonos feliratú edényekbe. Szorítsa rá a

perisztaltikus pumpa forgórészére a rugalmas csöveket is az erre szolgáló fémbilincssel. Amennyiben rendben találja a központi FIA modult, az automatikus mintaváltót és a spektrométert a számítógéppel összekötő elektromos kábelek csatlakoztatását is (ezeknek rendre a számítógép COM1, COM2 és egyik USB portjához kell kapcsolódnia), akkor a rendszer mérésre kész állapotban van.

A feladat leírása és az oldatok elkészítése. Feladata – ha gyakorlatvezetője másképpen nem utasítja – az lesz, hogy oldatminták ismeretlen nitrition tartalmát meghatározza. A feladat elvégzéséhez először egy 1 g/L koncentrációjú KNO_2 törzsoldatot kell elkészítenie egy 50 mL-es mérőlombikban, pontos beméréssel. Részfeladatként meg kell határoznia ennek a KNO_2 törzsoldatnak a sűrűségét is mérlegeléssel, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ egységekben; ezért ne feledje el a tiszta és cseppmentesen száraz üres mérőlombik tömegét is lemérni. A törzsoldatból ezek után a pipetta segítségével a többi mérőlombikban állítson elő kalibráló sorozatot 1, 2, 5 és 10 ppm koncentrációjú tagokkal (vakoldatként a desztillált vizet használja majd). Bánjon takarékosan a törzsoldattal, mivel azt ezután le kell adnia a gyakorlatvezetőjének, aki abból három jelzett 50 mL-es mérőlombikban kiadja az ismeretlen oldatokat. A mérőlombikok tartalmát töltsse fel desztillált vízzel és alaposan rázza össze.

A rendszer előkészítése mérésre. Fordítsa figyelmét először a mintaváltó felé. Ezt óvatosan kezelje, mert érzékeny és drága berendezés – *ha bizonytalan, kérjen segítséget!* Húzza fel a mintaváltó karját ütközésig. Vegye le a forgótányért (rotort) és helyezze maga elé az asztalra, majd vegye elő elő annak mintatartó tubusait, és a tubusokkal töltsse fel a rotor mind a 16 pozícióját (a nyíl irányát követve, a ponttal megjelölt első pozícióból kiindulva). A méréshez szükséges tubusok száma attól függ, hogy azok milyen térfogatúak; míg 1-2 mL térfogatúak esetén minden párhuzamos méréshez külön tubusra van szükség, a nagyobb (pl. 4 mL-es) tubusok elegendő oldatot tudnak tárolni mintánként 2-3 párhuzamos méréshez. Itt feltételezzük a kis térfogatú tubusok használatát – ha nem ilyen tubusai vannak, akkor kérje a gyakorlatvezetője segítségét a mintafájl (lásd később) módosításához. Az összesen 16 tubusból 2-2 jut az egyes kalibráló oldatok, illetve az egyes ismeretlen oldatok részére. Töltsse fel a tubusokat teljesen a megfelelő oldatokkal a műanyag transzfer pipetták segítségével (az esetleg kicsordult oldatot ne feledje el felitatni!). Az első két pozícióba desztillált vizet, a második kettőbe az 1 ppm-es oldatot, a harmadik kettőbe a 2 ppm-es oldatot, stb. tegye, végül az ismeretlen oldatokat is töltsse be párosával, megjegyezve, hogy melyik ismeretlen melyik pozícióba került. Ezek után helyezze vissza a rotort a mintaváltóra – ügyeljen arra, hogy a rotor fenékrészén (alulról látható) vájatba szorosan illeszkedjen a mintaváltó fekete műanyag meghajtó karja. Ezek után a rotort a helyén forgassa úgy, hogy a fém kapilláris éppen az első pozíció felett legyen, majd a mintaváltó kapillárist tartó karját süllyessze le annyira, hogy a kapilláris majdnem leérjen az első pozícióban lévő tubus aljára (kb. 1 mm-rel a fenék felett álljon). A rotor szoros rögzülése a helyén és a fém kapilláris megfelelő pozíciója kritikus a mintaváltó helyes működése szempontjából, ezért azok helyességét ellenőrizze még egyszer.

A FIA rendszer működését egy összetett, angol nyelvű számítógépes szoftver irányítja. A szoftver működtetéséhez MS Windows kezelői ismeretekre és alapszintű szakmai angol nyelvtudásra van szükség. Indítsa most el a fő szoftvert a számítógépen az egérmutatóval a

„**Fialab 5**” ikonra való kettős kattintással. A szoftver elindul és megjelenik egy ikonsor ("FIALab for Windows 5.0"); ezek az ikonok jelképezik a berendezés egyes moduljait (pl. „**Autosampler**”= automatikus mintaváltó, „**Spectrometer**”= spektrométer, „**Fialab**”= központi modul a perisztaltikus pumpával és szeleppel, stb.). Az egyes ikonokra egyet kattintva lehet az egyes modulok vezérlő alprogramjait elindítani/leállítani. Ha szükséges, gyakorlatvezetője segítségével ellenőrizze, hogy a Windows területi beállítási opciói között tizedesjelként a pont van beállítva; ez szükséges az angol nyelvű program helyes működéséhez.

Nyissa meg most az „**Autosampler**” alprogramot az ikonra kattintással. A kinyíló ablakban ellenőrizze a következő beállítások érvényességét: "**Serial port 2**" (bal felső sarokban), "**Sub-address: Comm**" és "**SAMP3000**". Az ablak bal alsó sarkában kattintson a „**Logon**” ikonra, ellenőrizze, hogy a mintaváltó fémkapillárisa az első pozícióban lévő edény aljára majdnem leér, s ha ez így van, a megjelenő kisméretű ellenőrző ablakban kattintson az „**OK**” gombra. Ezek után be kell töltenie a "**Sample definition file**"-t (mintadefiníciós fájl). Ennek a fontos ASCII fájlnek a tartalma (egy kisebb táblázat) definiálja a szoftver számára, hogy a forgótányér melyik pozíciójában milyen típusú minta van (kalibráló standard vagy ismeretlen), hány párhuzamos mérést kell végezni minden tubusból, stb. A fájl kiválasztásához nyomja meg a "**Select file**" gombot, a megjelenő tallózó ablakban pedig válassza ki a "**MINTAK.DEF**" fájlt ("Megnyitás" gomb). Ennek a fájlnek a szerkesztéséhez most kattintson az "**Edit File**" gombra. Ellenőrizze, hogy a fájl tartalma úgy néz ki, mint ahogy az az alábbi **1. táblázatban** látható:

1. táblázat. A MINTAK.DEF fájl tartalma

xxx,	1,	stdA,	0.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	2,	stdA,	0.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	3,	stdB,	1.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	4,	stdB,	1.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	5,	stdC,	2.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	6,	stdC,	2.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	7,	stdD,	5.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	8,	stdD,	5.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	9,	stdE,	10.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	10,	stdE,	10.0,	0.0,	1,	0.0
xxx,	11,	ism1,	?,	0.0,	1,	0.0
xxx,	12,	ism1,	?,	0.0,	1,	0.0
xxx,	13,	ism2,	?,	0.0,	1,	0.0
xxx,	14,	ism2,	?,	0.0,	1,	0.0
xxx,	15,	ism3,	?,	0.0,	1,	0.0
xxx,	16,	ism3,	?,	0.0,	1,	0.0

A formázást ne módosítsa, de ha a tartalomban eltérést tapasztal, azt javítsa ki (gondosan ügyeljen pont és a vessző használatára!). Az egyes oszlopok magyarázata a következő (balról jobbra): az "xxx" a forgótányér neve; az 1-16 sorszámok a pozíciót azonosítják; ezt követi a

minta neve ("std" a kalibráló mintát, "ism" az ismeretlent jelöli); a minta koncentrációja a kívánt egységben (ez itt mg/L, az ismeretleneknél pedig "?"); a várakozási idő órában a mérés kezdete előtt; ismételt (párhuzamos) mérések száma; az ismételt mérések közötti várakozási idő órában. Ha készen van az ellenőrzéssel és javítással, mentse el a fájlt ("**Fájl**" menü, "**Mentés**" parancs). Ezzel az automatikus mintaváltót előkészítette a mérésre; az „**Autosampler**” ablakot ezután lekicsinyítheti, hogy jól láthassa a fő szoftver ikonsorát.

Ezután válassza a „**Fialab**” ikont a fő ikonsorból. A megjelenő ablakban legyen első dolga a „**Logon**” gombot megnyomni. Az ablakban látja a manifold vázlatos képét. Az itt látható rajzelemek (legfőképpen a pumpa és a szelep) interaktívak, rájuk kattintva azok állapotát megváltoztathatja (a pumpa a bal oldali "**Pump speed**" rovatban beállított sebességgel elindul/megáll, a szelep vált a LOAD/INJECT állások között). Ezt az interaktív rajzot használja most arra, hogy átöblítse a rendszert. Mivel a „**Sample**” kapilláris egyelőre a desztillált vizes edényben van, ezért a képernyőn a pumpára kattintva elindulhat az átöblítés. Az öblítést folytassa 5-10 percig, időnként a képernyőn a szelep rajzára is kattintva (ezáltal a mintatartó hurok is átöblítődik). Végül az idő elteltével állítsa le a pumpát egérekattintással. Kicsinyítse le ezt az ablakot is és válassza ki a "**Spectrometer**" modul ikonját az ikonsorról.

A "**Spectrometer**" ablakban válassza a "**Spectrometer setup**" fület és itt ellenőrizze fentről lefelé haladva a következő beállításokat: "**Injection time: 10 ms**"; "**Detectors to average: 5**"; "**Samples to average: 1**", "**Sample rate: 4.0 Hz**", "**Selected spectrometer: Master**". Legyen kiválasztva az "**OODriver**", "**Use wavelength 4 as reference...**" és alul az "**Enabled**" opció. Ezekkel a beállításokkal biztosítjuk, hogy a szoftver a CCD spektrométerrel megfelelően tudjon kommunikálni. Most a "**Spectrometer graphing**" fülre kattintva visszatérhet az előző képernyőtartalomhoz, ahol szintén van mit beállítania. A bal felső sarokban látni fog négy kis rovatot, amelyek a mérési hullámhosszakokat és spektrométer csatornákat definiálják. A legfelső rovatban a "**Master**" és "**542.0**" beállításoknak, a negyedikben a "**Master**" és "**675**" beállításoknak kell lennie. Ha mindezekkel kész, nyomja meg a bal alsó sarokban a "**Logon**" ikont, ami az eddigi beállításokat tudomásul veteti a spektrométerrel és a kommunikációt leellenőrzi. Már csak az van hátra, hogy a helyes abszorbancia mérésekhez felvetesse a szoftverrel a sötét és referencia spektrumokat. Az előbbire azért van szükség, mert a manifold és a spektrofotometriás mérőcella átlátszó plexiből készül, ezért szórt fény juthat a detektorba akkor is, amikor a wolfrám fényforrás ki van kapcsolva; ezt korrekcióba kell vennie a programnak. Az utóbbi, referencia spektrum pedig nem más, mint a vak spektrum, vagyis a minta nélküli reagens/vivőközeg spektruma, amelyet szintén korrekcióba kell vennie a programnak. Ezeket a spektrumokat egyszerűen a megfelelő ikon ("**Dark**" és "**Reference**") megnyomásával fogja tudni rögzíteni; előbb vegye fel még a wolfrám lámpa kikapcsolt állapotában a "**Dark**" spektrumot, majd kapcsolja be a lámpát és pár perc várakozás után vegye fel a "**Reference**" spektrumot (*ne feledje, a lámpatest működés mindig igen forró lesz!*). Ha ezzel kész, átválthatja a kijelzést abszorbanciára ("**Absorbance**" ikon) és a "**Repeated scan**" ikon benyomása után az ablak felső részén másodpercenként kb. négyszeri frissítéssel nyomon követheti a spektrométer által mért spektrum alakulását a 200-900 nm tartományban.

A fő ikonsorból a "**Program**" ikonra kattintva kapunk egy ablakot ("Programming"), ahol a mérést vezérlő fő programot szerkeszthetjük. Ez a vezérlő program adja majd az utasításokat a mintaváltónak, adagoló szelepnek és a spektrométernek, így helyes működése nagyon fontos. Tölts be a mai gyakorlat kivitelezéséhez szükséges, előre elkészített vezérlőprogramot a bal sarokban lent megtalálható "**Open**" ikonnal; a tallózáskor válassza a "PROGRAM.FIA" fájlt. Ennek a fájlnek a képernyőn megjelenő tartalmát vesse egybe az alábbi **2. táblázatban** szereplővel. Ha kell, korrigáljon a gyakorlatvezetője segítségével.

2. táblázat. A PROGRAM.FIA vezérlő program. A felső vesszővel kezdődő sorok megjegyzések

```
' Definialjuk a programváltozatokat
Variable Define New pumpspeed
Variable Define New tdum

' Beolvassuk a mintadefiníciós fájlt
Sample Description C:\Program Files\WINFIA 5.0\mintak.def

' Beállítások a nitritionok mérésehez
if methodtype = 1 then
    Hardware Settings Wavelength 1 (nm) 542
    Hardware Settings Wavelength 4 (nm) 675
    Hardware Settings Use Wavelength 4 as Reference
    pumpspeed = 60
end if
Hardware Settings End Settings

' Az automatikus mintaválto és az adagoló szelep indítása
Next Sample
autosampler up a bit
Injection Valve Sample Load
Peristaltic Pump Clockwise(%) 60
Delay (sec) 10

' Ez a ciklus irányítja a mérést
Loop Start (#) 5000
    Injection Valve Sample Inject
    Delay (sec) .25
    Analyte New Sample
    Next Sample
    Delay (sec) .25
        Spectrometer Absorbance Scanning
        tdum = 225 / pumpspeed
        Delay (sec) tdum
        Injection Valve Sample Load
        tdum = 800 / pumpspeed
        Delay (sec) tdum
        Spectrometer Stop Scanning
        Delay (sec) 3
    if SampleID < 0 then
        Stop Program
    end if
Loop End
```

Az ellenőrzés vagy korrekció végeztével mentse el ("Save") a programot, majd zárja is be a "Programming" ablakot az "Exit" ikonnal.

A „Sample” feliratú kapillárist most vegye ki a "Carrier/vivőközeg" feliratú edényből és azt kösse össze a mintaváltó felszívó fémkapillárisával (kérje a gyakorlatvezető segítségét). A Windows tálcáján keresse meg és hívja elő ismét a "Fialab" modult, ahol a "Select method" ikonnal válassza ki az éppen most ellenőrzött vezérlő programot (PROGRAM.FIA). Ezzel a mérésre való előkészületek mind megtörténtek, a rendszer az indító parancsra vár.

A mérések kivitelezése. Amikor a "Start method" gombot megnyomja, az automatikus mérés elindul és meg sem áll mindaddig, amíg az összes mérés le nem zajlott. A mérési adatokat, illetve a folyamat előrehaladását a mintaváltón kívül a fő ikonsor "Analysis" modulján belül a "Summary" vagy „Calibration” fül alatti ablakokban kísérheti figyelemmel, főleg ha itt az "Auto refresh" és a "Show concentrations" is opciók be vannak kapcsolva. Érdemes figyelnie az átlatszó testű spektrofotometriás mérőcellát is; látnia kell majd, amikor a színes mintazóna áthalad a cellán az injektálás után néhány másodperccel. A mérési program befejeződése után a már említett "Summary" fül alatti ablakban láthatja majd az eredményeket. Jegyezze fel az összes itt szereplő adatot (a "Mean response" oszlopban a mért jelet látja, a "Concentration, fit" oszlopban pedig mért koncentrációkat). A "Calibration" fül alatti ablakban megtalálja a kalibrációs egyenes egyenletét is ("Coefficient A", "Coefficient B") ezeket is jegyezze fel. Ezek után cserélje ki a mintaváltó rotorjának minden tubusában az oldatokat frissre és futtassa le újból a mérési programot. A program elindítása előtt ne feledje el pozicionálni a mintaváltó tűjét ugyanúgy, mint az első mérési sorozat elején! Összesen három mérési sorozatot végezzen, minden eredményt jegyezzen le a füzetébe és a kért végeredményeket ezek alapján számítsa ki.

BENYÚJTANDÓ ADATOK, EREDMÉNYEK

- Az összes mért adatot tartalmazó részletes táblázat
- Az 1 g/L koncentrációjú KNO_2 törzsoldat számított sűrűsége $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ egységekben
- Az ismeretlen oldatok koncentrációi mg/L és mol/L egységekben
- A jellemző precizitás, amelyet a három egymást követő meghatározás eredményeinek relatív szórásával számíthat ki (a három ismeretlenre számított átlagos relatív szórást adja meg).

KÉRDÉSEK ÉS FELADATOK ÖNÁLLÓ FELKÉSZÜLÉSHEZ

1. Milyen jellegű analitikai mérések elvégzésére alkalmasak az áramlásos automatikus analizátorok leginkább?
2. Melyek a legfontosabb különbségek egy szegmentált és egy injektációs rendszerű áramlásos automatikus analizátor között?

3. Milyen konkrét detektortípusok alkalmazhatók egy FIA rendszerben?
4. Miért kell szelektívnek lennie a FIA detektoroknak és miért nem alkalmazható, pl. egy átfolyós konduktometriás mérőcella FIA detektorként?
5. Sorolja fel a FIA rendszerek alapvető alkatrészeit és feladatukat!
6. Mit nevezünk manifoldnak?
7. Rajzolja fel a nitritionok meghatározására alkalmas, megismert FIA berendezés vázlatát!
8. Ismerve a Fe(III) rodanidionokkal adott nagymértékben szelektív színreakcióját, vázolja fel a tanult jelölésekkel az erre alapuló FIA rendszer lehetséges felépítését!
9. Tudjuk, hogy FIA rendszerünkben egy 0,85 mm belső átmérőjű, 30 cm hosszú műanyag kapilláris köti össze a mintaadagoló szelepet a mintatartó edénnyel, a szelepből lévő mintatartó hurok térfogata pedig 50 μL . A perisztaltikus pumpa 2 mL/min sebességgel pumpálja be a mintaoldatot. Ha a minták „betöltése” során a mintatartó hurkot mindig legalább háromszoros térfogatú oldattal akarjuk átöblíteni, akkor számítsuk ki, hogy minimum hány másodperc időközönként lehet beinjektálni a mintákat? Mekkora így a mérési sebesség minta/óra egységekben?
(a helyes megoldások: 9,61 s és 374,7 minta/óra)
10. FIA rendszere spektrofotometriás detektora adatgyűjtésének ütemezését kell megterveznie. Az abszorbancia mérést abban a pillanatban célszerű elvégezni, amikor a színes mintazóna közepe a mérőcella közepén halad át. A mintaadagoló szelep átváltása (Load $\rightarrow$ Inject) után hány másodperccel következik ez be, ha tudja, hogy a perisztaltikus pumpa sebessége 1,5 mL/min, az oldatnak pedig a szeleptől a reakciótekercsen át a mérőcelláig egy 42 cm hosszú, 0,5 mm belső sugarú kapillárison kell áthaladnia? A mérőcella 10 mm hosszú és a kapillárisal azonos átmérőjű. A mintahurok térfogata 10 μL és feltesszük, hogy a diffúzió nem nyújtja meg számottevően a mintazónát.
(a helyes megoldás: 265,7 s)

ALAPISMERETEK

MÉRTÉKEGYSÉGEK ÉS DEFINÍCIÓK

SI ALAPMÉRTÉKEGYSÉGEK

Fizikai mennyiség	A mennyiség jele	Az egység neve	Az egység jele
hosszúság	l	méter	m
tömeg	m	kilogramm	kg
idő	t	másodperc	s
elektromos áram	I	amper	A
hőmérséklet	T	kelvin	K
anyagmennyiség	n	mól	mól
fényerősség	I_v	kandela	cd

FONTOSABB SZÁRMAZTATOTT MÉRTÉKEGYSÉGEK

Fizikai mennyiség és jele	Az egység neve	Az egység jele	Kifejezés SI (és más) egységekben
frekvencia (f , ν)	hertz	Hz	s^{-1}
nyomás (p)	pascal	Pa	$m^{-1} \cdot kg \cdot s^{-2}$
energia (E , W)	joule	J	$m^2 \cdot kg \cdot s^{-2}$ (= Pa·m ³)
teljesítmény (P)	watt	W	$m^2 \cdot kg \cdot s^{-3}$ (= J·s ⁻¹)
elektromos töltés (Q)	coulomb	C	s·A
elektromos feszültség (U)	volt	V	$m^2 \cdot kg \cdot s^{-3} \cdot A^{-1}$ (= J·C ⁻¹)
elektromos ellenállás (R)	ohm	Ω	$m^2 \cdot kg \cdot s^{-3} \cdot A^{-2}$ (= V·A ⁻¹)
elektromos vezetés (S)	siemens	S	$m^{-2} \cdot kg^{-1} \cdot s^3 \cdot A^2$ (= Ω^{-1})
sűrűség (ρ)	-	-	kg·m ⁻³
Celsius hőmérséklet (T)	Celsius	°C	T(kelvin) – 273,15

Példa: 1 amper áramerősség azt jelenti, hogy az elektromos vezetők egy másodperc alatt egy coulomb töltés áramlik át. 1 ohm az elektromos ellenállása egy vezetőknek, ha

azon 1 volt feszültség hatására 1 amper áramerősség folyik keresztül. 25 °C hőmérséklet azonos 298,15 K (abszolút) hőmérséklettel.

NÉHÁNY GYAKORLATI MENNYISÉG ÁTSZÁMÍTÁSA SI EGYSÉGEKRE

Fizikai mennyiség és jele	Az egység neve és jele	Átszámítás
idő (<i>t</i>)	perc (min)	= 60 s
idő (<i>t</i>)	óra (h)	= 3600 s
térfogat (<i>V</i>)	liter (L)	= 10 ⁻³ m ³
nyomás (<i>p</i>)	bar	= 10 ⁵ Pa
nyomás (<i>p</i>)	atm	= 1,013·10 ⁵ Pa
nyomás (<i>p</i>)	torr (mm Hg)	= 1,333·10 ² Pa
energia (<i>E</i>)	elektronvolt (eV)	= 1,60218·10 ⁻¹⁹ J

MÉRTÉKEGYSÉGEK TÖBBSZÖRÖSEINEK ÉS TÖRTRÉSZEINEK KÉPZÉSE

Szorzó	Előtag	Jel	Szorzó	Előtag	Jel
10 ¹⁵	peta-	P	10 ⁻¹	deci-	d
10 ¹²	tera-	T	10 ⁻²	centi-	c
10 ⁹	giga-	G	10 ⁻³	milli-	m
10 ⁶	mega-	M	10 ⁻⁶	mikro-	μ
10 ³	kilo-	k	10 ⁻⁹	nano-	n
10 ²	hekto-	h	10 ⁻¹²	piko-	p
10	deka-	da	10 ⁻¹⁵	femto-	f

Példa: MV (olvasd: megavolt)= 10⁶ V, mg (olvasd: milligramm)= 10⁻³ g= 10⁻⁶ kg, nm (olvasd: nanométer)= 10⁻⁹ m

AZ ANALITIKÁBAN HASZNÁLATOS FONTOSABB KONCENTRÁCIÓFAJTÁK

Tömegszázalék (m%, m/m%). Megadja a kérdéses komponenst tömege az elegy 100 tömegegységnyi mennyiségében. Dimenziója nincs, értéke független a hőmérséklettől.
Példa: ha egy vizes oldat 56 grammja 2,3 g Na₂SO₄-ot tartalmaz, akkor az oldat tömegszázalékban kifejezett nátriumsulfát koncentrációja a következően adható meg:
 $2,3 \text{ g} \cdot 100 / 56 \text{ g} = 4,107 \text{ m/m\%}$.

Térfogatszázalék (v%, v/v%). Megadja a kérdéses komponens térfogatát az elegy 100 térfogategységnyi mennyiségében. Dimenziója nincs, értéke függ a hőmérséklettől.

Példa: ha egy folyadékelegy 42 cm^3 -e $2,9\text{ cm}^3$ széntetrakloridot tartalmaz, akkor az elegy térfogatszázalékban kifejezett széntetraklorid koncentrációja: $2,9\text{ cm}^3 \cdot 100 / 42\text{ cm}^3 = 6,905\text{ v/v}\%$.

Vegyesszázalék (m/v%). Megadja a kérdéses komponens tömegét az elegy 100 térfogategységnyi mennyiségében. Dimenziója tömeg/térfogat, értéke függ a hőmérséklettől. *Példa: ha egy vizes oldat, amelynek 129 cm^3 térfogata $12,1\text{ mg KCl}$ -ot tartalmaz, akkor az oldat vegyesszázalékban kifejezett káliumklorid koncentrációja: $12,1\text{ mg} \cdot 100 / 129\text{ cm}^3 = 9,379\text{ mg/cm}^3$ vagy másképpen $9,379\text{ g/dm}^3$.*

Molaritás (M). Kifejezi a kérdéses komponens móljainak számát az elegy 1 dm^3 -ében. Dimenziója: $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, amelyet gyakran rövidítünk M betűvel; értéke függ a hőmérséklettől. *Példa: ha egy oldat minden 10 cm^3 -e $5,83\text{ g}$ szalicilsavat ($M_r = 138,1\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) tartalmaz, akkor az oldat molaritása: $(5,83\text{ g} / 138,1\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}) / 0,01\text{ dm}^3 = 4,221\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.*

Oldhatóság. A komponens telített oldatának koncentrációja. Leggyakrabban kétkomponensű (oldott anyag + oldószer) rendszerekre vonatkozik, dimenziója az oldott komponens halmazállapota szerint kétféle lehet. Szilárd anyagok folyadékokban való oldhatóságát az oldott anyag grammjainak száma / 100 gramm oldószer képlettel számítjuk (mértékegység: g/g). Gázoknak folyadékokban való oldhatóságára az oldott gáz normál állapotú millilitereinek száma / 1 gramm oldószer képlet használatos (mértékegység: mL/g). Értéke mindig függ a hőmérséklettől. *Példa: ha tudjuk, hogy egy szerves oldószer normál körülmények mellett ($0\text{ }^\circ\text{C}$, 10^5 Pa) 50 g grammonként legfeljebb $15,7\text{ mL}$ nitrogéngázt képes oldatban tartani, akkor ez azt jelenti, hogy a nitrogén oldhatósága ebben az oldószerben $15,7\text{ mL} / 50\text{ g} = 0,314\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$.*

Milliomodrész (ppm), milliárdodrész (ppb), billiomodrész (ppt). Ezen egységek használata a nyomanalitikában elterjedt, amikor az igen híg oldatok koncentrációjának kifejezése más egységekben nehézkes lenne. 1 ppm koncentráció azt jelenti, hogy az elegy tömegének vagy térfogatának az adott komponens egy milliomod részét teszi ki, vagyis az pl. 1 mg/kg vagy 1 nL/mL , stb. koncentrációban van jelen. Az említett esetekben dimenziója nincs — mivel azonban legtöbbször igen híg vizes oldatokról van szó, amelyek sűrűsége jó közelítéssel $1\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, ezért gyakran a kényelmes tömeg/térfogat dimenziót használják, tehát pl. mg/L . Hasonlóképpen származtatható a ppb és ppt koncentráció is (az elnevezések az angolszász irodalomból származnak: ppm= parts per million, ppb= parts per billion, ppt= parts per trillion). *Példa: az arzén ivóvízben megengedett maximális koncentrációja 10 ppb , vagyis $10\text{ }\mu\text{g/L}$.*

SZÁMOLÁSI FELADATOK AZ ALAPISMERETEK ÖNÁLLÓ GYAKORLÁSÁHOZ

1. Egy színes vegyület spektrumának maximuma 356 nm-nél található. Fejezze ki ezt a hullámhosszt km egységben!
2. Egy lemért tömeg 0,000014 kg. Fejezze ki a tömeget mikrogramm egységekben!
3. Mikor 1 mA az áramerősség?
4. Az áramerősség 63,2 mA. Hány ampernek felel ez meg?
5. Hány C töltést fogyaszt az elektrolízis, amely 100 s ideig 10 A áramerősséggel folyik?
6. Grammokban kifejezve mennyi 2 cg + 26 mg + 400 µg?
7. Hány nanogrammnak felel meg 1 cg + 20 mg + 10 µg?
8. Melyik a legkisebb tömeg a következők közül: 0,00001 g; 10^4 g; $0,1 \cdot 10^{-3}$ g; $1000 \cdot 10^{-7}$ g; 10^{-10} g; 10 µg; 10000 ng; 10^7 pg?
9. Egy 50 cm³-es lombikba 5 µL 100 ppm-es oldatot adagoltunk. A lombik jelre töltése után hány ppm koncentrációjú a lombikban lévő oldat?
10. Elektrolízisnél az anód milyen polaritású?
11. 50 mL 50 ppm-es és 50 mL 5 ppm oldatokat összeöntünk. Mennyi lesz a keletkező oldat koncentrációja ppm-ben kifejezve?
12. Egy 100 ppm-es törzsoldatból 50 mL-es mérőlombikba rendre mennyi oldatot kell pipetázni, hogy desztillált vizes feltöltés után a lombikokban 2, 4, 6, 8 és 10 ppm-es kalibráló oldatsorozatunk legyen?
13. Egy gyógyszer hatóanyagából 45,64 g áll rendelkezésre. Minden gyógyszeres tablettába 0,2 mg hatóanyagot kell csomagolni. Elméletileg hány db tablettát lehetne készíteni a rendelkezésre álló mennyiségből?
14. A 20 mg/L-es törzsoldatunkból mennyit kell kimérni egy 25 mL-es lombikba, hogy desztillált vízzel feltöltve az 1 ppm-es oldat legyen?
15. Ugyanazon vegyület egyik oldata (A oldat) 200 ppm-es, a másik oldata (B oldat) 80 ppm-es. Az A oldatból 10 mL-t mértünk a 250 mL-es mérőlombikba, majd a B oldatból is bemértünk 50 mL-t ugyanabba a lombikba, s végül desztillált vízzel jelre töltöttük. Mennyi lett a mérőlombikban készített oldat töménysége?
16. A tömény salétromsav 66 m/m %-os. Mekkora tömegű savat kell a 2000 mL-es mérőlombikba mérni ebből a savból, ha 0,05 M-os oldatot szeretnénk készíteni?
17. Adott egy 100 ppm-es oldat. Szeretnénk ebből egy 50 mL-es lombikban 2 mg/L-es oldatot készíteni. Hány mL oldatot pipetázzunk be a lombikba?
18. Egy oldat 12,5 m/m %-os töménységben tartalmazza a hatóanyagot és sűrűsége 1,25 tonna/m³. Szeretnénk ebből 1 liter 0,1 M oldatot készíteni. Hány mL oldatot mérjünk be a mérőlombikba, ha a hatóanyag relatív móltömege 125 gramm/mol?
19. Elektrolízissal az 1 L 0,001 M-os AgNO₃ oldat minden ezüstionját kiredukáljuk. Ideális esetben hány darab elektron szükséges ehhez?
20. Egy fényforrás fényének hullámhossza $\lambda = 1000$ nm. Hányszor férne rá ez a hullámhossz egy 1 cm hosszúságú szakaszra?

LABORREND ÉS BALESETVÉDELEM

A GYAKORLAT MENETE, EGYÉNI FELSZERELÉS

- A munkát párban végzik, a feladatok forgószínpadszerűen kerülnek lebonyolításra.
- A feladatok azonosítása a jegyzetben szereplő hárombetűs jel alapján történik.
- A meghatározandó mintákat (ismeretleneket) főzőpohárban, ampullában vagy mérőlombikban kapják; a minták azonosítóját mindig jegyezzék fel!
- A jegyzőkönyv négyzetrácsos, nagyalakú, nem önálló lapokból álló füzet, amely tollal vezetendő (ha valaki számítógéppel nyomtatott jegyzőkönyvet kíván vezetni, jelezze).
- A jegyzőkönyvbe minden gyakorlat előtt (még otthon) beírandó a végrehajtandó feladat rövid leírása (szinapszis: a meghatározás elve, kémiai egyenletekkel) valamint a beadandó eredmények listája, majd a feladat elvégzése után az összes mérési adat, végül a kiértékelés minden részletével együtt az eredmények.
- A napi egyéni felszerelés részei, amelyek beszerzését magának kell biztosítania: *laborköpeny*, a hivatalos *laborjegyzet*, *dolgozatfüzet* (kisméretű négyzetrácsos), *milliméterpapír* (megfelelő számban), *eszközök grafikon készítéshez* (ebből van némi közös használatú felszerelés is), *törlőrongy* (a papír törlőkendő nem helyettesíti!), *gyufa* vagy *öngyújtó*, *zsebszámológép*, *vegyszeres kanál*, *pipettázó labda*, *védőszemüveg*, *gumikesztyű*, *csipesz*. Amennyiben az egyéni felszerelés hiányos, a gyakorlat nem kezdhető meg.

A SZÁMONKÉRÉS RENDJE, OSZTÁLYZÁS

- Minden gyakorlatot el kell végezni. Pótlás csak igazolt hiányzás esetén és csak az erre kijelölt időben lehetséges.
- Minden gyakorlaton várható kisdolgozat és szóbeli kérdés(ek). Ezek témája elsősorban az aznapi gyakorlati feladat elvégzéséhez szükséges ismeretek és kapcsolódó számolási feladatok lesznek. A kisdolgozatok anyagához tartoznak még a laborjegyzetben és segédanyagokban található általános ismeretek is (pl. definíciók, balesetvédelem, stb.).
- Csak előkészített jegyzőkönyvvel és a silabuszokban szereplő kérdésekre adandó helyes válaszok ismeretében kezdhető meg a gyakorlat!

-
- Legalább egy nagydolgozat megírására is sor kerül egy előre egyeztetett időpontban. Ezek témája lényegében azonos a kisdolgozatokéval, kivéve hogy abban nemcsak az aznapi, hanem a félév (negyedév) során megismert minden gyakorlati feladathoz kapcsolódó ismeretekre vonatkozó ellenőrző kérdések, számolási feladatok szerepelnek majd.
 - Az elkészült, kiértékelte jegyzőkönyv általában a gyakorlat végén adandó be, de legkésőbb az azonos hét kijelölt napjáig. Az utóbbi esetben a labor bejárata előtti asztalon megjelölt helyre kérjük azt leadni. A leosztályozott jegyzőkönyvek másnap délután vehetők fel. Késve leadott jegyzőkönyv jegyéből összesen egy figyelmeztetés után hetente egy jegy levonása jár. Ugyanez a szabály vonatkozik a javítás után újrleadott jegyzőkönyvekre is.
 - Számolási hiba miatt kapott rosszabb jegy esetén a jegyzőkönyv újraértékelhető és a két jegy átlaga lesz a végleges jegy. Megismételt gyakorlat esetén az új jegy marad.
 - A félév végi jegy kétharmadát a feladatok jegyének átlaga adja, az egyharmadát pedig a dolgozatjegyek átlagának $\frac{2}{3}$ és $\frac{1}{3}$ súllyal számított átlaga (nagy- és kisdolgozat). Minden részátlagból (gyakorlat, kisdolgozat, nagydolgozat) is meg kell lennie a kettesnek a sikeres félévhez.
 - A gyakorlatvezetők joga a félévi összteljesítmény alapján ± 1 jegyet eltérni a fentiek szerint számított átlagtól.

A LABORATÓRIUM RENDJE

- Kötelező ismerni a következő eszközök tárolási helyét és használati módját:
 - gázcsapok, vízcsapok és elektromos főkapcsoló
 - porraloltó és tűzizuhany
 - elsősegélynyújtó felszerelés
 - munkavédelmi felszerelések
 - vegyifülke és elszívó berendezések
 - vegyszerek és segédanyagok
- Kötelező egy kulturált megjelenésű, nem műszálas, begombolható laborköpeny szabályos viselése. Köpeny nélkül vagy elfogadhatatlan megjelenésű köpenyben (szakadt, összefirkált) a munka nem kezdhető el.
- A laboreszközök feladathoz tartozó készlete, a silabusz egy példánya és esetleges példagrafikonok mindig a mérőhely fiókjában található.
- A nagyobb műszerek ki/be kapcsolásához vagy ha kérdései vannak a gyakorlat kivitelezésével/kiértékelésével kapcsolatban, kérje gyakorlatvezetője segítségét!
- Az üvegeszközök desztillált vízzel alaposan átöblítendőek gyakorlat előtt és után, a laboratóriumban mindig tartsunk rendet!
- A pipetta, pipettatálca és pipettázó labda helyes használata mindig követelmény!
- Minden rendellenességet vagy balesetet jelezni kell a gyakorlatvezetőnek!

- *Étkezni és dohányozni szigorúan tilos a laboratóriumban mindenki számára.*
Dohányozni csak a kijelölt helyen, étkezni a folyosón vagy a ruhatárban lehet.
- A laboratóriumot elhagyni (a mellékhelyiség kivételével) csak bejelentés után lehet.
- Hallgató mobiltelefonálással nem zavarhatja a gyakorlat menetét.
- A laboratóriumban fejhallgatós szórakoztató berendezések használata tilos.
- A kabátok, táskák és hasonló nagyobb tárgyak tárolására a ruhatár szolgál, amelynek ajtaját mindig tartjuk zárva. Az ajtó kulcsa a gyakorlatvezetőnél van. A laboratóriumba indokolt esetben személyenként legfeljebb egy kisebb kezitáska hozható be (pl. értéktárgyak tárolása céljából). Ezeket se tároljuk azonban a mérőhely közvetlen közelében, vagy tűzveszélyes helyen, hanem csak a laboratórium gyakorlatvezető által jóváhagyott helyén.

RÖVID EMLÉKEZTETŐ A FONTOSABB BALESETVÉDELMI ÉS TŰZVÉDELMI SZABÁLYOKRÓL

Nyílt lánggal való munka, melegítés

- A gázégő begyújtása: *i)* tűzveszélyes anyagok eltávolítása, *ii)* a kivételi hely gázcsapjának elzárása, *iii)* a fő gázcsap kinyitása, *iv)* az égő levegőszelepeinek szűkítése, *v)* a gyufa meggyújtása, *vi)* a kivételi hely gázcsapjának óvatos kinyitása és a gáz meggyújtása. Ha a gyújtás sikertelen, az eljárást meg kell ismételni kevesebb levegő hozzáadásával.
- Lombikban való forraláskor használjunk forrkövet, a kémcsövet szakaszosan melegítsük és az edény száját soha ne irányítsuk személyek felé.
- Általában kerüljük el az anyagok teljesen szárazra párlását.

Vegyszerek kezelése

- A maró anyagok és tömény savak/lúgok kezelése gumikesztyűben, védőszemüvegben történik.
- Mérgező gőzű vagy más veszélyes anyagok melegítése, kezelése csak a vegyifülke alatt engedélyezett.
- Mérgező/maró folyadékok pipettázása csak dugattyús pipettával vagy pipettázó labdával történhet.
- A hulladékokat elhelyezni csak megfelelő módon és a kijelölt helyen szabad. A veszélyes hulladékokat (pl. savakat, lúgokat, oldószereket, halogénezett oldószereket, fémtartalmú vegyszereket, stb.) gyűjtőedényekben gyűjtjük, nem öntjük azokat a lefolyóba. Vegyszermaradványt nem teszünk vissza a tárolóedénybe.

RÖVID EMLÉKEZTETŐ AZ ELSŐSEGÉLYNYÚJTÁSI TEENDŐKRŐL

Vegyszerek használata mindig csak a vegyszer biztonsági adatlapja szerint történhet. Az elsősegélynyújtási eljárásokat a gyakorlatvezető felügyeli!

Tűz vagy égési sebesülés esetén

- Az égő tárgy azonnal eloltandó alkalmas segédeszközökkel (víz, homok, porraloltó, pokróc, stb.). Elektromos tüzet vízzel nem szabad oltani.
- Az égési sebet ne mossuk, ne érintsük, ne kenjük be, hanem csak laza és száraz gézlappal fedjük be. Kisebb sérülésnél (zárt bőrfelületnél) használhatók az Irix vagy Naksol szerek.

Mérgezés esetén

- *Ha bőrre került:* száraz ruhával leitatjuk, majd bő vízzel lemossuk.
- *Ha szembe jutott:* bő vízzel kimossuk, majd 2%-os bórsav oldattal (ha lúg került a szembe) vagy NaHCO_3 oldattal (ha sav került a szembe) öblítünk és a szemöblögető készletet használjuk.
- *Ha belélegezték:* friss levegőre visszük a sérültet.
- *Ha szájüregbe jutott:* a vegyszert kiköpjük és bő vízzel öblögetünk.
- *Ha lenyelték:* hánytatás, kivéve ha a vegyszer maró vagy az illető sokkos/eszméletlen.

Sebesülés esetén

- A sebet nem mossuk vízzel, hanem enyhén kivéreztetjük.
- A sebet körül fertőtlenítjük a baleseti szekrényből vett alkoholos jóoldattal, majd tiszta és laza gézkötést helyezünk rá. Kisebb sérüléseknél sebtapaszt alkalmazunk

Áramütés esetén

- Feszültségmentesítünk, illetve az áramütést elkerülve kiszabadítjuk az áramütöttet. A balesettest lefektetjük, pihentetjük és a sebeit laza gézkötéssel látjuk el. Amennyiben az áramütés a szívet leállítaná, azonnali újraélesztésre van szükség.

AZ EXCEL PROGRAM HASZNÁLATA MÉRÉSI EREDMÉNYEK KIÉRTÉKELÉSÉRE

A MS EXCEL HASZNÁLATÁNAK RÖVID LEÍRÁSA

A Microsoft Excel táblázatkezelő program arra való, hogy a benne táblázatos formában elrendezett számokon vagy szöveges adatokon műveleteket végeztethessünk. Számok esetén pl. jól használható átlagok vagy összegek számítására, egyenes illesztésére, a számok nagyság szerinti sorbarendezésére és még sok minden másra. Az alábbi rövid leírás azok számára készült, akik alapvető számítógép-használati (MS Windows) ismeretekkel már rendelkeznek.

Az adatokat táblázatos formában kell bevinnünk elsősorban azért, hogy az egyes műveletek során minden adatra pontosan hivatkozhatunk. A táblázat oszlopainak jelölése mindig betűvel (A, B, C és így tovább), a soroké pedig sorszámmal történik. Így pl. az első sor első oszlopában lévő cellára való hivatkozás A1, és így tovább. Az Excel sokezer cellát képes kezelni.

Az egyes cellákba adatokat úgy gépelünk, hogy a cellát előbb az egérrel való rákattintással kiválasztjuk, majd elkezdjük a szám begépelését (a gépelés eredménye a bevétel ideje alatt mind a cellában, mind pedig a táblázat feletti első sorban, az ún. szerkesztősorban megjelenik). Ha befejeztük a szám begépelését, akkor üssünk „**Enter**”-t. Ha gépelés közben tévesztettünk valamit, akkor a „**Backspace**/←” billentyűvel törölhetjük vissza a hibás karaktereket. Miután „**Enter**”-t ütöttünk a bevétel végén, a kiválasztott cella az előbb begépelte cella alatti lesz, vagyis máris gépelhetjük be a következő adatot: az adatsorunk oszlopba lesz rendezve. Szöveges adatok ugyanígy vihetők be – ha a bevitt adat betűvel kezdődik, akkor a program automatikusan szöveggként kezeli majd. Fontos megjegyezni, hogy a Windows beállítása miatt a tizedespontot vessző vagy pont is jelölheti (hogy éppen mi van beállítva, azt azért is fontos kipróbálni, mert a nem megfelelő karakter használata miatt a számok esetleg szöveggként rögzülnek a táblázatban! Ha ilyen problémába ütközünk, kérjük gyakorlatvezetőnk segítségét).

Az egyes cellákban lévő, már bevitt adatok kijelzésének formátumát is megadhatjuk. Az itt lehetséges beállítások közül a legfontosabb a kijelzett tizedesjegyek számának beállítása. Ehhez előbb jelöljük ki a kérdéses cellát az egérrel, majd a „**Formátum**” menüből a „**Cellák...**” bejegyzést kell választani. Ekkor előugrik egy párbeszédablak, amelyben a „**Szám**” ’fül’ alatt találjuk majd a választható kategóriákat; itt a „**Szám**” kategória

kiválasztása után egy mezőben megadhatjuk hány tizedesjegyet szeretnénk látni. Ha a fenti beállításokat nem csak egy cellára, hanem egyszerre többre is el kívánjuk végezni, akkor az egérrel a bal gomb nyomva tartása mellett kijelölhetünk egyszerre több, téglalap alakú területre eső cellát is. Ha egy cellában a kijelzésnél „nem fér el” a szám, akkor a helyén ##### jelenik meg. Ekkor meg kell szélesítenünk az oszlopot, hogy ki tudjon íródni benne az összes számjegy. Ha az egérkurzort a kérdéses oszlop fejlécének (ahová az A, B, stb. van írva) széléhez közelítjük, látni fogjuk, hogy a kurzor kétirányú nyíllá változik: ez azt jelzi, hogy most a bal egérgomb lenyomása mellett addig nyújthatjuk, zsugoríthatjuk az oszlopot, amíg tetszik; a gomb elengedésekor az új méret rögzül.

Ha már bevittük az összes mérési adatunkat, jöhetnek a számítások. Ezt úgy végzi az Excel, hogy amikor egy cellába nem adatot, hanem egy képletet írunk be (ez mindig egyenlőségjellel kezdődik), akkor az „**Enter**” megnyomása után rögtön kiszámítja a képlet értékét és azt jeleníti meg a cellában. Ennek az is a következménye, hogy egy cellába írt képletet csak felül, szerkesztősorban látunk (és javíthatunk), a cellában mindig annak értékét látjuk. Ha a cella értéke képlethiba miatt nem számítható ki, akkor a program vagy hibaüzenetet ír ki a képernyőre, vagy a cellában a #HIV! felirat jelenik meg. A képletek megadása egyszerű és logikus, például:

=A1+B2	értéke a két hivatkozott cella (A1 és B2) értékének összege lesz
=ABS(10*A3)	értéke az A3 cella tízszeresének abszolútértéke lesz
=LOG10(C1)	értéke a C1 cella értékének tízes alapú logaritmus lesz, stb.

A fenti példából kitűnik, hogy a képletekben függvényeket is alkalmazhatunk. A függvények beszúrásához (és egyúttal a használható matematikai vagy statisztikai műveletek teljes listájának megtekintéséhez) a „**Beszúrás**” menü „**Függvény...**” pontját kell választani. Itt a kívánt függvény kiválasztása után beugrik egy párbeszédablak, ami elmagyarázza az adott függvény működését. A képletekben nem csak egyes cellákra, hanem esetleg a táblázat egy részletére is kell hivatkoznunk, ekkor a téglalap alakú táblázatrészlet sarkán található cellák hivatkozásait adjuk meg kettősponttal elválasztva a következőképpen:

=SZUM(A1:A10)	értéke az A oszlop egytől tízig terjedő cellaértékeinek összege
=ATLAG(A1:C3)	értéke az A1,A2...C3 (összesen 9 db) adat átlaga lesz

Sok esetben a begépelendő adatok között összefüggés van (számtani sorozat), ilyen eset pl., ha egy titrálás során mindig 0,1 cm³ lépésenként adagoltuk a mérőoldatot. Ekkor az első két adat begépelése után a program képes automatikusan kiszámítani és bevinni a többi (ezt hívja az Excel **kitöltés**nek). Ennek kivitelezéséhez az említett példánál maradva, mondjuk az A1 és A2 cellákba begépeljük az első két térfogatadatot dimenzió nélkül (mondjuk 0 és 0,1). Ezek után az egérrel kijelöljük az A1 cellától kezdve lefelé az összes cellát, aminek értékét automatikusan ki akarjuk tölteni (tehát mondjuk A1-től A20-ig) és kiadjuk a

„**Szerkesztés**” menü „**Kitöltés...**” majd „**Lefelé**” parancsot. Ekkor a kijelölt cellákba végig bekerülnek a megfelelő értékek egészen 1,9-ig.

Bármilyen tévesen elvégzett műveletet visszavonhatunk, ha a „**Szerkesztés**” menüből a „**Visszavonás**”-t választjuk. A képernyő szélén látható gördítősávok használatával (a jobb oldalon le/fel illetve az alul látható jobb/bal irányba mutató nyilakra kattintva az egérrel a táblázatunk képernyőn látható része elmozdul a választott irányba: erre különösen igen sok adattal való munka során lehet szükség, amikor egyszerre nem fér el az összes adat a képernyőn. Az Excel-lel grafikonokat is készíthetünk; ez a „**Beszúrás**” menü „**Diagram...**” pontja vagy a „**Diagram varázsló**” ikon kiválasztásával lehetséges (lásd alábbi példa). A nyomtatás a „**Fájl**” menü „**Nyomtatás...**” parancsa révén lehetséges. Az itt szereplő választási lehetőségek elég egyértelműek.

A továbbiakban két gyakori műszeres analitikai kémiai számítási feladat (kalibrációs egyenes illesztése és titrálási görbék kiértékelése) MS Excel segítségével való végrehajtását mutatjuk be lépésről-lépésre.

MÉRÉSI ADATOKHOZ ILLESZTETT KALIBRÁCIÓS EGYENES PARAMÉTEREINEK KISZÁMÍTÁSA

1. Írjuk be az A1 cellába: *Koncentráció*
2. Írjuk be a B1 cellába: *Mért jel*
3. Gépeljük be a kalibrációban szereplő koncentráció adatokat egymás alá, az A2 cellától kezdődően az A oszlopba növekvő sorrendben dimenzió nélkül (használjunk a kitöltést).
4. Gépeljük be a kalibráció során mért jelek értékeit a megfelelő koncentrációadatok mellé a B oszlopba, a B2-től kezdődően (a dimenzió itt sem kell!)
5. Írjuk be egy szabad cellába: *Merekség*:
6. Írjuk be az előbbi cella mellé a következő képletet: $=MEREDKSEG(B2:Bxx;A2:Axx)$
Ebben a képletben az xx helyére az adatsor utolsó elemének sorszámát kell írni, vagyis pl. ha húszelemű az adatsor, akkor 21-et.
7. Írjuk be egy másik szabad cellába: *Tengelymetszet*:
8. Írjuk be ezen cella mellé a következő képletet: $=METSZ(B2:Bxx;A2:Axx)$
Az xx helyére ebben a képletben is az adatsor utolsó elemének sorszámát kell írni.
9. A számítás készen van, vagyis hozzájutottunk az illesztett egyenes adataihoz:

$$\text{Mért jel} = \text{merekség} \cdot \text{koncentráció} + \text{tengelymetszet}$$

Megjegyzés: Az egyenletet jegyezze fel a jegyzőkönyvébe, majd ismétlje meg a fentebb leírt teljes számítást a többi párhuzamos kalibrációs adatsorra is. Az eredményekből minden esetben elegendő 4 értékes jegyet feltüntetnie.

MÉRÉSI ADATOKHOZ ILLESZTETT KALIBRÁCIÓS EGYENES PARAMÉTEREINEK KISZÁMÍTÁSA LOGLINEÁRIS KAPCSOLAT ESETÉN

1. Írjuk be az A1 cellába: *Koncentráció*
2. Írjuk be a B1 cellába: *Log c*
3. Írjuk be a C1 cellába: *Mért jel*
4. Gépeljük be a kalibrációban szereplő koncentráció adatokat egymás alá, az A2 cellától kezdődően az A oszlopba (esetleg használhatjuk a kitöltés parancsot).
5. Vigyük be az egyes koncentrációk logaritmusát a B oszlopba, a B2 cellától kezdődően (az egyes értékeket zsebszámológéppel is számíthatjuk, de használhatjuk az Excel LOG10 függvényét és a kitöltés parancsot is)
6. Gépeljük be a kalibráció során mért jelek értékeit a megfelelő koncentrációadat mellé a C oszlopba, a C2-től kezdődően.
7. Írjuk be egy szabad cellába: *Meredekség*:
8. Írjuk be az előbbi cella mellé a következő képletet: $=MEREDEKSEG(C2:Cxx;B2:Bxx)$
Ebben a képletben az xx helyére az adatsor utolsó elemének sorszámát kell írni.
9. Írjuk be egy másik szabad cellába: *Tengelymetszet*:
10. Írjuk be ezen cella mellé a következő képletet: $=METSZ(C2:Cxx;B2:Bxx)$
Az utolsó elem sorszáma kerül itt is az xx helyére.
11. A számítás készen van, vagyis hozzájutottunk az illesztett egyenes adataihoz:

$$\text{Mért jel} = \text{meredekség} \cdot (\lg \text{koncentráció}) + \text{tengelymetszet}$$

Megjegyzés: Az egyenletet jegyezze fel a jegyzőkönyvébe, majd ismétlje meg a fentebb leírt teljes számítást a többi párhuzamos kalibrációs adatsorra is. Az eredményekből minden esetben elegendő 4 értékes jegyet feltüntetnie.

POTENCIOMETRIKUS TITRÁLÁSI GÖRBÉK KIÉRTÉKELÉSE A DIFFERENCIAHÁNYADOS MAXIMUMÁNAK MÓDSZERÉVEL

1. Írjuk be az A1 cellába: *Térfogat*
2. Írjuk be a B1 cellába: *Mért jel*
3. Gépeljük be a kalibrációban szereplő koncentráció adatokat egymás alá, az A2 cellától kezdődően az A oszlopba növekvő sorrendben dimenzió nélkül (használjunk kitöltést).
4. Gépeljük be a kalibráció során mért jelek értékeit a megfelelő koncentrációadatok mellé a B oszlopba, a B2-től kezdődően (a dimenzió itt sem kell!)
5. Írjuk be a C1 cellába: *Célfüggvény*
6. Írjuk be a C3 cellába a következő képletet: $=(B3-B2)/(A3-A2)$
A C oszlop többi adatának kiszámításához használjunk kitöltést, vagyis jelöljük ki a C

oszlopban kiszámítandó adatok helyét – beleértve a C3 cellát is – és a „SZERKESZTÉS” menüből válasszuk a „KITÖLTÉS...” és „LEFELE” parancsot.

7. A számítás elkészült, ugyanis a C oszlopban előállt a titrálási görbe numerikus deriváltja (a differenciáhányados alapján, amit itt ugyebár a $\Delta j / \Delta V$ összefüggés definiál). Ennek az adatsornak a maximuma(i)nál várható a titrálás végpontja(i), ez(eket) a térfogatadato(ka)t kell feljegyezni és felhasználni a titrálás végeredményének számításához. A mérési adatok bizonytalansága miatt előfordulhat, hogy egymáshoz igen közel, egy-két pontnyira is kapunk kiugróan nagy értékeket a C oszlopban. Ilyenkor tanácsos átlagolni a két lokális maximumhoz tartozó térfogatadatot és ezt jegyezzük fel, mint ezen titrálás végpontját (4 értékes jegy elegendő). A számítást végezze el a többi titrálási adatsorral is.

Megjegyzés: Annak, hogy ez a kiértékelési módszer megbízhatóan és kellően pontosan működjön, két feltétele van. 1.) az egyes mérőoldatrészletek hatására bekövetkező jelváltozásnak a jel ingadozásához (zajához) képest elhanyagolhatónak kell lennie. Pl. ha egy pH-mérő két tizedesjegy pontosan, $\pm 0,01$ egység ingadozással mér, és az adagolás lépései során a pH csak 0,05-0,1 értékkel változik, akkor ez a feltétel nem teljesül és a kapott differenciáhányados érthetően igen jelentős ingadozást fog mutatni. 2.) a végponthoz tartozó fogyás megállapításának pontosságát közvetlenül meghatározza, hogy milyen kis lépésekben történik a mérőoldat adagolása (pl. $0,5 \text{ cm}^3$ lépésenként adagolva az eredmény hibája is $\pm 0,5 \text{ cm}^3$ lehet, ami kb. 10 cm^3 fogyás esetén jelentős).

KROMATOGRÁFIÁS MÉRÉSI ADATOK (KROMATOGRAM) ÁBRÁZOLÁSA GRAFIKONON

1. Töltse be (a „Fájl” menü „Megnyitás...” parancsával) a mérési adatokat, amelyet a kromatográfot vezérlő adatgyűjtő programból mentett ki. Szükség esetén természetesen beviheti az adatokat kézzel is. A betöltés során arra ügyeljen, hogy az adatok két oszlopba kerüljenek, az elsőbe az idő adatok, a másodikba a mért jelek. Ne feledje, hogy sok idegennyelvű program a tizedesvesszőt ponttal jelöli; ez félrevezetheti az Excel-t az adatok típusát illetően. Ha ilyen problémával találkozik, kérjen segítséget gyakorlatvezetőjétől a Windows megfelelő beállításához.
2. Jelölje ki a két most bevitt teljes oszlopot a fejlécükre való egy-egy kattintással, miközben lenyomva tartja a **Ctrl** gombot.
3. Nyomja meg az eszköztáron található „Diagram varázsló” ikont. Ez elindítja a grafikon rajzolásához segítséget nyújtó varázslót; a továbbiakban választ kell adnia (kijelöléssel) az egyes opciókra vonatkozó kérdésekre. A diagram típusaként (**1. lépés**) válassza a „Pont (XY)” típust ezen belül pedig a pontokat egyenes vonallal összekötő altípust, a diagram forrásadatait (**2. lépés**) már kiválasztotta a varázsló indítása előtt, ezért itt továbbléphet,

majd írja be a grafikon címét és a tengelyek feliratait értelemszerűen (**3. lépés**), végül a diagram helyeként válassza az „Objektumként itt” opciót (**4. lépés**).

4. A nyers grafikon beállításait (betűtípusait, betűméreteit, tengelybeosztását, stb.) megváltoztathatja oly módon, hogy kétszer kattint a kérdéses elemre a grafikonon. Ekkor felbukkan egy opciós ablak, ahol elvégezheti a módosításokat. Járjon el ízlése szerint, csak a kromatogram áttekinthető, olvasható legyen. Javasolható, hogy a mérési pontokat jelölő szimbólumot (a kromatogram görbéjére kattintva éri el) most kapcsolja ki, hiszen nagyon sok adatpontja van, továbbá szüntesse meg az alapértelmezett szürke hátteret, a vezetőrácsokat, a jelmagyarázat rovatot és a grafikon keretét is.
5. Az egyes kromatográfias csúcsokat feliratozhatja, sőt általában az Excel grafikonokra tetszőleges feliratot elhelyezhet utólag oly módon, hogy az eszköztáron a „**Rajz**” ikont választja, majd a képernyő alján megjelenő újabb eszköztárból a „**Szövegdoboz**” ikont. A kurzort ezután a kívánt helyre helyezi kattintással és begépel a kívánt szöveget.
6. Nyomtassa ki a kromatogramot a „**Fájl**” menü „**Nyomtatás**” parancsával, miután kijelölte a grafikonterületet kattintással. Ha az alapértelmezett nyomtatási beállításokat használja, a grafikon egy egész A/4 oldal méretű lesz.

Megjegyzés: a fenti leírás alapján kis próbálkozás után könnyen készíthet más típusú grafikonokat is. Ne felejtse azonban el, hogy tudományos adatok ábrázolására gyakorlatilag csak a **Pont (XY)** Excel diagramtípus felel meg. Amennyiben több mérési sorozatot kell ugyanolyan grafikonon ábrázolnia, mindössze az adatokat kell kicserélnie a táblázatban, ugyanis az Excel a kapcsolódó grafikont azonnal újrarajzolja majd az új adatok alapján.

IRODALOM

1. Burger Kálmán: Az analitikai kémia alapjai. Kémiai és műszeres elemzés, Semmelweis Kiadó, Budapest, 1999.
2. Erdey László, Mázor László: Analitikai kézikönyv, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1974.
3. Ács Gábor, Csikkelné Szolnoki Anna, Galbács Zoltán, Péter Antal: Műszeres analitikai gyakorlatok, JATE Press, Szeged, 1996.
4. Pungor Ernő, Bányai Éva, Pólos László: Analitikusok kézikönyve. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1987.
5. Pataki László, Zapp Erika: Analitikai kémiai praktikum, Tankönyvkiadó, Budapest, 1974.
6. Pungor Ernő, Buzás Lajosné: Analitikai kémiai kislexikon, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1978.
7. Csányi László, Farsang György, Szakács Ottó: Műszeres analízis, Tankönyvkiadó, Budapest, 1969.
8. Dobos Dezső: Elektrokémiai táblázatok, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1979.
9. Holly Sándor, Sohár Pál: Infravörös spektroszkópia, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1968.
10. Burger Kálmán: Modern koordinációs kémiai vizsgáló módszerek, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1967.
11. Farkas Etelka, Fábián István, Kiss Tamás, Posta József, Tóth Imre, Várnagy Katalin: Általános és analitikai kémiai példatár, KLTE Természettudományi Kar, Debrecen, 1992.
12. Ács Gábor, Csikkelné Szolnoki Anna, Jáky Károly, Véber Margit: Analitikai kémiai példatár, JATE, Szeged, 1998.