

Amfoter elektrolit izoelektromos pontjának meghatározása

Elméleti alap: P.W. Atkins: *Fizikai Kémia*, 26.1–3 (4. kiadás), vagy 25.1–3 (6. kiadás) fejezetek.

Gyakorlat típusa: Páros.

Gyakorlat célja: Megismertetni azokat a pH-metriás módszereket, amelyekkel aminosavak és fehérjék izoelektromos pontja meghatározható.

1. Bevezetés

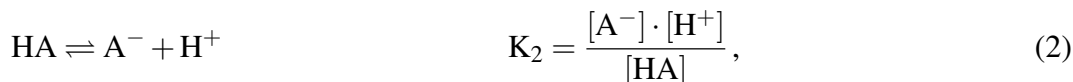
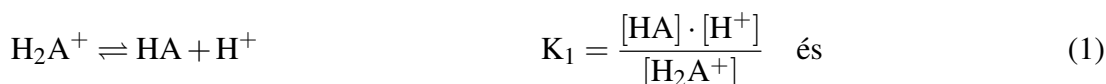
Amfoter elektrolitok (röviden amfolitok) azok az anyagok, amelyek vizes oldatukban hidrogénionok leadására és felvételére is képesek az oldat pH-jának értékétől függően. Az amfolitok közös tulajdonsága, hogy legalább kettő (de általában több) hidrogénion-megkötő hellyel rendelkeznek, amelyek közül egy általában karboxilcsoport, egy másik pedig amincsoport. Az amfolitok közé tartoznak az aminosavak, valamint az ezekből felépülő oligopeptidek és fehérjék.

Az amfolit vegyületek egyik gyakorlati szempontból fontos jellemzője az izoelektromos pontjuk pH értéke (továbbiakban pH_i). Egy amfolit vizes oldata definíció szerint akkor van az izoelektromos pontban, amikor az oldott amfolitról ugyanannyi hidrogénion disszociál le (általában a karboxilcsoportokról), mint amennyi hidrogénion megkötődik más (általában amin-) csoportokon. Ebben az állapotban az oldott amfolit elektromosan semleges, átlagban nincs se pozitív se negatív töltése¹. Ha az amfolit oldatának pH értékét savval, lúggal vagy pufferrel változtatjuk, akkor változtatjuk az amfolit átlagos protonáltsági fokát, így az átlagos töltését is. Az oligopeptidek és fehérjék eltérő izoelektromos pontjait használják keverékek szétválasztására. Amfolitok keverékét pH-gradienst biztosító géllemezre helyezik, amelyen elektromos erőter hatására vándorolni kezdenek a töltött részecskék. Ha az amfolit a gélnek olyan pH-értékű helyére ér, amely megegyezik az izoelektromos pontjának pH értékével, akkor az amfolit elektromosan semlegesítődik és nem vándorol tovább. Az elektroforézisnek ezt a módszerét izoelektromos fókuszálásnak nevezik.

A gyakorlat során a legegyszerűbb amfolitok, a két funkciós csoporttal rendelkező aminosavak egyikének pH_i értékét határozzuk meg kétféle módszerrel.

2. pH_i számítása disszociációs állandókból

A két protonálódási hellyel rendelkező amfolitok (továbbiakban HA) egyensúlyi viszonyait a következő két disszociációs folyamattal jellemezhetjük, amennyiben a két funkciós csoport egyike karboxil-, a másik pedig amincsoport:



ahol K_1 az amfolit protonált formájának, valamint K_2 magának az amfolitnak a savi disszociációs állandója. Az izoelektromos pont bevezetésben tárgyalt definíciójából következik, hogy ebben a pontban $[H_2A^+] = [A^-]$. Ezt az összefüggést behelyettesítve K_1 és K_2 szorzatába, az izoelektromos pontban érvényes hidrogénion koncentráció ($[H^+]_i$) és pH_i értéke kifejezhető:

$$K_1 \cdot K_2 = \frac{[HA] \cdot [A^-] \cdot [H^+]^2}{[H_2A^+] \cdot [HA]} = [H^+]_i^2 \rightarrow [H^+]_i = \sqrt{K_1 \cdot K_2} \implies pH_i = \frac{pK_1 + pK_2}{2}. \quad (3)$$

¹Természetesen az oldat tartalmazza bizonyos koncentrációban az amfolit protonált és deprotonált formáit is, de ezek töltéseinek összege nullát eredményez.

Ezzel pH_i meghatározását visszavezettük a savi disszociációs állandók értékeinek meghatározására. Amennyiben a két állandó legalább három nagyságrenddel eltér egymástól², akkor a (de)protonálódási folyamatok elkülönülve játszódnak le, az állandók értékei egymástól függetlenül is meghatározhatók az alábbi megfontolások alapján:

1. Ha egy amfoter elektrolit oldata erős savat is tartalmaz, akkor az A^- forma koncentrációja elhanyagolható, így csak a K_1 -gyel jellemezhető protonálódási folyamat határozza meg az oldat pH -ját. Legyen a vizsgálandó oldatban c_{HA} az amfoter elektrolit, c_s pedig a hozzáadott erős sav analitikai koncentrációja. Ezekre érvényesek az alábbi (az A^- forma elhagyása miatt közelítő) összefüggések:

$$c_{HA} = [H_2A^+] + [HA] \quad \text{és} \quad c_s = [H^+] + [H_2A^+],$$

amelyekből $[HA]$ -t és $[H_2A^+]$ -t kifejezve, majd az (1) egyenletbe helyettesítve K_1 értéke a $[H^+]$ ismeretében kiszámítható:

$$K_1 = \frac{[H^+] \cdot (c_{HA} - c_s + [H^+])}{c_s - [H^+]}. \quad (4)$$

2. K_2 értéke hasonló megfontolások alapján határozható meg. Ha az amfoter elektrolit oldata erős bázist is tartalmaz, akkor a H_2A^+ forma koncentrációja hanyagolható el. Jelölje a lúgos oldatban c_{HA} továbbra is az amfoter elektrolit, míg c_b a hozzáadott erős bázis analitikai koncentrációját! Ekkor a megadható közelítő anyagmérleg-egyenletek:

$$c_{HA} = [HA] + [A^-] \quad \text{és} \quad c_b = [OH^-] + [A^-].$$

Ezekből az összefüggésekből $[A^-]$ -t és $[HA]$ -t kifejezve majd a (2) egyenletbe helyettesítve, valamint felhasználva az $[OH^-] = K_v/[H^+]$ összefüggést (ahol K_v a víz ionszorzata), a K_2 értéke a következő módon számítható:

$$K_2 = \frac{K_v \cdot (c_b - [OH^-])}{[OH^-] \cdot (c_{HA} - c_b + [OH^-])} = \frac{[H^+] \cdot ([H^+] \cdot c_b - K_v)}{[H^+] \cdot (c_{HA} - c_b) + K_v}. \quad (5)$$

A (4) és (5) egyenletekben a bemérésekből hígítással számolható mennyiségek (c_{HA} , c_s és c_b), valamint a – mért pH értékből megadható – $[H^+]$ szerepel, így ezen összefüggések alapján kiszámítható a K_1 és K_2 disszociációs állandók értéke.

A most ismertett módszernek azonban van két gyakorlati hátránya:

- A biológiai rendszerekben előforduló amfolitok nagy része több protonálódási hellyel rendelkezik. pH_i értéke ezekben az esetekben is számolható a disszociációs állandók ismeretében, azonban bonyolultabb matematika használatára van szükség³.
- Rengeteg pontos mérési adat kell a disszociációs állandók meghatározásához. Az amfolitok többsége azonban kísérletileg nehezen kezelhető anyag (körülményesen tisztíthatóak, higroszkóposak, stb.), ezért a disszociációs állandók meghatározásához szükséges kísérleti pontosságot nem lehet elérni.

Ezen korlátok miatt más módszereket is kidolgoztak, amelyek nem igénylik a disszociációs állandók pontos ismeretét. Ezek közül az egyik legfontosabb Michaelis módszere.

²Ez a feltétel a karboxil- és amincsoportok esetén nagyon ritka kivételektől eltekintve teljesül.

³Pl. három protonálódási hellyel rendelkező, H_2A összetételű amfolitoknál már a (3) egyenletben megadott négyzetgyökszámolás helyett a $[H^+]_i^3 = K_1 \cdot K_2 \cdot ([H^+]_i + 2 \cdot K_3)$ harmadfokú polinom megoldására van szükség.

3. pH_i meghatározása Michaelis módszerével

Az eljárás megértéséhez gondoljuk meg, mi történik, ha egy amfolitot tiszta vízben oldunk. Az egyensúly beálltakor az amfolit karboxilcsoportjainak bizonyos hányada deprotonálódik, és a szabadrá váló hidrogénionok egy részét megkötik az amincsoportok, a maradék pedig szabadon marad az oldatban, meghatározva annak pH -ját. Ha az amfolit koncentrációja elegendően nagy, akkor a karboxilcsoportokról leszakadt hidrogénionok döntő hányadát kötik meg az amincsoportok, szabadon csak nagyon kevés hidrogénion marad. Ez azt jelenti, hogy az oldott amfolit részecskék töltéseinek átlaga nagyon közel áll az elektromos semlegességhez, vagyis az *izoelektromos pont* pH -ja gyakorlatilag megegyezik azzal a pH -val, amely az amfolit elegendően nagy koncentrációjű, tiszta vizes oldatában alakul ki.

Ha az amfolitot nem tiszta vízben, hanem pufferben oldjuk fel, akkor a puffer pH -ja megváltozik. Ez alól csak az az eset kivétel, amikor a puffer pH -ja megegyezik az amfolit izoelektromos pontjának pH -jával (azaz ideális esetben $\Delta pH = pH_{\text{puffer+amfolit}} - pH_{\text{puffer}} = 0$). Ezek alapján a Michaelis módszer lényege a következő:

1. Különböző összetételű puffereket állítunk elő, és megmérjük a pH értékét ezekben az oldatokban.
2. Ugyanezen összetételű pufferoldatok pH -it úgy is megmérjük, hogy ezek azonos koncentrációban amfolitot is tartalmaznak. Ha az amfolitot olyan pufferben oldjuk, melyre $pH_{\text{puffer}} < pH_i$, akkor az aminocsoportok protonálódása kerül előtérbe és pH_{puffer} -hoz képest nagyobb értéket fogunk mérni az amfolitot is tartalmazó oldatban. A kiindulási puffer pH -jának változása annál kisebb, minél közelebb van pH_i -hez. Ha $pH_{\text{puffer}} = pH_i$, az oldás során nem változik a puffer pH -ja. Végül, ha az amfolitot olyan pufferben oldjuk, melyre $pH_{\text{puffer}} > pH_i$, akkor a karboxilcsoportok deprotonálódása kerül előtérbe és pH_{puffer} -hoz képest kisebb értéket fogunk mérni az amfolitot is tartalmazó oldatban. Az elmondottak alapján, ha $\Delta pH = pH_{\text{puffer+amfolit}} - pH_{\text{puffer}}$ -t ábrázoljuk pH_{puffer} függvényében akkor egy görbét kapunk, melynek inflexiós pontja pH_i -nél van.⁴

4. A gyakorlat kivitelezése

A gyakorlat során négy pH -metriás titrálást kell végrehajtani. Az első kettő titrálás célja, hogy meghatározzuk a savi disszociációs állandók értékét amelyekből az izoelektromos pont pH -ja a (3) egyenlet alapján számolható:

1. Először az amfolit oldatát titráljuk sósav oldattal, hogy a (4) egyenlet alapján minden pontban számíthassuk K_1 értékét.
2. Másodszer az amfolit oldatát NaOH-oldattal titráljuk, hogy az (5) egyenlet alapján minden pontban számíthassuk K_2 értékét.

Az utolsó két titrálás célja, hogy Michaelis módszerének alkalmazásával határozzuk meg pH_i értékét:

3. A harmadik titrálásban citromsavat titrálunk egy, a gyakorlatvezető által kijelölt, lúgos kémhatású só oldatával. Ezzel különböző összetételű puffereket állítunk elő és mérjük azok pH -ját.
4. A negyedik titrálás során pontosan ugyanannyi citromsav oldatot titrálunk, mint a harmadikban, és minden lépésben pontosan ugyanannyi sóoldatot adunk a titrált oldathoz a pH mérés előtt, azzal az eltéréssel, hogy mind a titrált, mind a titráló oldatban azonos koncentrációjű amfolit is van.

A mérések megkezdése előtt a gyakorlatvezető megadja (1) a vizsgálandó amfolitot, (2) az amfolit koncentrációját a titrálendő és titráló oldatokban (T_{amf}) 0,01 – 0,03 M között, (3) a Michaelis módszerhez a

⁴Ideális esetben a görbe inflexiós pontjában $\Delta pH = 0$. A gyakorlat során azonban nem ideális oldatokkal dolgozunk, ezért a mért pH -ból nem a $[H^+]$ -t, hanem a hidrogénion aktivitását tudjuk meghatározni. Noha a kettő közötti különbségtől eltekinthetünk a (4) és az (5) egyenletek használatakor, a Michaelis-féle kiértékelés során (ahol $\Delta pH = 0$ -t keressük) ez a közelítés (és a pH -mérés esetleges pontatlansága) komoly hibát okozhat.

1. táblázat. A titrálásokhoz elkészítendő oldatok szükséges térfogatai és koncentrációi. Az oldatokat a megfelelő törzsoldatok hígításával kell elkészíteni.

	titrálendő oldat	titráló oldat
1. titrálás	100 cm ³ A -oldat: $c(\text{amfolit}) = T_{\text{amf}}$	50 cm ³ B -oldat: $c(\text{HCl}) = T_{\text{amf}}/2$
2. titrálás		50 cm ³ C -oldat: $c(\text{NaOH}) = T_{\text{amf}}$
3. titrálás	50 cm ³ D -oldat: $c(\text{citromsav}) = T_{\text{cit}}$	50 cm ³ E -oldat: $c(\text{Na}_3\text{PO}_4) = 3,0 \cdot T_{\text{cit}}$ vagy $c(\text{Na}_4\text{EDTA}) = 3,5 \cdot T_{\text{cit}}$ vagy $c(\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7) = 1,8 \cdot T_{\text{cit}}$
4. titrálás	50 cm ³ F -oldat: $c(\text{amfolit}) = T_{\text{amf}}$, valamint $c(\text{citromsav}) = T_{\text{cit}}$	50 cm ³ G -oldat: $c(\text{amfolit}) = T_{\text{amf}}$, valamint $c(\text{Na}_3\text{PO}_4) = 3,0 \cdot T_{\text{cit}}$ vagy $c(\text{Na}_4\text{EDTA}) = 3,5 \cdot T_{\text{cit}}$ vagy $c(\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7) = 1,8 \cdot T_{\text{cit}}$

citromsav koncentrációját a titrálendő oldatokban (T_{cit}) 0,001 – 0,003 M között, (4) a lúgos kémhatású anyagi minőségét (ez lehet a Na_3PO_4 , Na_4EDTA és $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ valamelyike), valamint (5) a Michaelis módszerhez tartozó titrálásoknál az adagolandó térfogatokat 0,3 – 1,0 cm³ között. Amennyiben a gyakorlatvezető mást nem mond, akkor (1) az amfolit a glicin, (2) $T_{\text{amf}} = 0,02$ M, (3) $T_{\text{cit}} = 0,002$ M, (4) a lúgos kémhatású sós $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ és (5) 0,8 cm³-enként kell adagolni a harmadik és negyedik titrálás során.

Legelőször három törzsoldatot kell készíteni szilárd anyag bemérésével⁵:

- 100 cm³ 0,1 M amfolit törzsoldatot,
- 50 cm³ 0,01 M citromsav törzsoldatot és
- 50 cm³ törzsoldatot a lúgos kémhatású sóból, amely a következők valamelyike lehet: 0,03 M Na_3PO_4 , 0,035 M Na_4EDTA vagy 0,018 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$.

Ezek után el kell készíteni a titrálások során használandó oldatokat (a jelük **A**, **B**, ..., **F** és **G**), amelyek térfogatait és összetételeit az 1. táblázat tartalmazza. *A táblázatban feltüntetett oldatok összeállításához az előzőleg elkészített törzsoldatokat, valamint a rendelkezésre álló 0,1 M HCl- és 0,1 M NaOH-törzsoldatokat használjuk!* A kísérleti munka előtt a jegyzőkönyvben el kell végezni a szükséges hígítási számításokat és az eredményeket ellenőriztetni kell a gyakorlatvezetővel.

A kísérletek eredményét nagyban befolyásolja a pH-mérés pontossága. Ennek megfelelően a titrálások megkezdése előtt a pH-mérő készüléket kalibrálni kell két puffer (pH \approx 4-es és pH \approx 10-es) segítségével. A kalibráló oldatok legyenek szobahőmérsékletűek, illetve a kalibrálás sikerességét ellenőrizni kell a pufferoldatok pH-jának visszamérésével. Amennyiben a mért értékek 0,01 – 0,02 pH-értéknél jobban eltérnek a névlegestől, meg kell ismételni a kalibrálást.

Az első titrálás során 20,0 cm³ **A**-oldatot kell titrálni a **B**-oldattal, a titráló oldatot 1 cm³-enként adagolva, 15 cm³ végfogyásig, és le kell jegyezni a fogyás – pH_{mért} adatpárokat. A második megegyezik az első titrálással, azzal a különbséggel, hogy titrálni a **C**-oldattal kell. Az adagolás térfogatkülönbségeit a gyakorlatvezető megváltoztathatja. A harmadik titrálásnál 20,0 cm³ **D**-oldatot kell titrálni az **E**-oldattal, 20 cm³-es

⁵A vegyszeres üvegeken megadott moláris tömegeket használjuk a számolásokhoz!

végfogyásig. A titráló oldatot a gyakorlatvezető által megadott cm^3 -enként adagolva kell a végfogyásig eljutni. A negyedik titrálás ugyanaz, mint a harmadik, de az **F**-oldatot kell titrálni a **G**-oldattal. Az utolsó titrálási görbe felvételekor *ügyelni kell arra, hogy a fogyások pontosan ugyanazoknál a térfogatoknál legyenek, mint a harmadik titrálás esetén, hogy az amfolit tartalmat kivéve azonos összetételű puffereket hasonlítsunk össze!* Az adagolás térfogatkülönbségeit a gyakorlatvezető megváltoztathatja, nátrium-foszfát és nátrium-EDTA sók esetén a titrálási görbe utolsó 15 %-át ($17 - 20 \text{ cm}^3$ fogyás) célszerű sűrűbben mérni.

A gyakorlat végrehajtása során sok oldatot kell készíteni, ezért a törzsoldatok, valamint a titráló és titrálendő oldatok könnyen összekeverhetők. Emiatt fontos megjegyezni, hogy az 1. táblázatban szereplő oldatok elkészítéséhez a gyakorlat elején pontos tervet kell készíteni a jegyzőkönyvbe, mert ennek hiányában sokkal nagyobb lesz az esély rosszul összeállított oldat(ok)ra. *A titrálásokat érdemes a lehető legvékonyabb és legmagasabb $50 - 100 \text{ cm}^3$ -es főzőpohárban végrehajtani, hogy a kombinált üvegelektrodót a titrált oldat már kezdetben is ellepje.*

Amennyiben a gyakorlatvezető mást nem mond, az egyik hallgató végzi az első két titrálást egy adott pH-mérőt használva, miközben a másik hallgató a harmadik és negyedik mérést a másik eszközzel.

5. A mérési adatok kiértékelése

- A beméréseket, a laboratórium hőmérsékletét, valamint az elkészített oldatok bemérési tömegekből számolt koncentrációit összefoglalóan meg kell adni (ld. a törzsoldatokat és az 1. táblázatot).
- Az első titrálás mérési adataiból a K_1 disszociációs állandó értékét kell kiszámolni. Ehhez a mért és a számolt adatokat a 2. táblázatnak megfelelően foglaljuk össze.

2. táblázat. A mérési eredmények összefoglalása.

$$V_0 = \dots \text{ cm}^3, \quad M_r(\text{amfolit}) = \dots$$

V_B (cm^3)	$\text{pH}_{\text{mért}}$	$[\text{H}^+]$ (M)	c_{HA} (M)	c_s (M)	K_1

A táblázatban V_B a **B**-oldat fogyása. K_1 értékének számításához a (4) egyenletet kell használni úgy, hogy az egyenletben szereplő $[\text{H}^+]$, c_{HA} és c_s adatokat a

$$\boxed{[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}_{\text{mért}}}}, \quad \boxed{c_{\text{HA}} = \frac{V_0 \cdot T_{\text{amf}}}{V_0 + V_B}} \quad \text{és} \quad \boxed{c_s = \frac{V_B \cdot T_{\text{amf}}/2}{V_0 + V_B}}$$

képletekkel számítjuk ki, amelyek a pH definícióján és a hígulás figyelembevételén alapulnak. A táblázat elkészítése után K_1 számolt értékeit egy ábrán kell feltüntetni. Az ábra alapján ki kell szűrni a kiugróan rossz adatokat, majd a többinek ki kell számítani az átlagát és a szórását.

- A második titrálás mért adataiból a K_2 disszociációs állandó értékét kell kiszámolni. Ehhez a mért és a számolt adatokat a 3. táblázatnak megfelelően foglaljuk össze.

3. táblázat. A mérési eredmények összefoglalása.

$$V_0 = \dots \text{ cm}^3, \quad K_v = \dots$$

V_C (cm^3)	$\text{pH}_{\text{mért}}$	$[\text{H}^+]$ (M)	c_{HA} (M)	c_b (M)	K_2

A táblázatban K_v a mérés hőmérsékletén és ionerősségénél érvényes vízionszorzat, valamint V_C a C-oldat fogyása. K_v számításához a Függelékben található egyenletet kell használni, az ionerősség értékét az amfolit koncentrációval egyenlőnek véve ($I = T_{\text{amf}}$). K_2 számításához az (5) egyenletet kell használni úgy, hogy az egyenletben szereplő c_{HA} és c_b adatokat a

$$c_{\text{HA}} = \frac{V_0 \cdot T_{\text{amf}}}{V_0 + V_C} \quad \text{és} \quad c_b = \frac{V_C \cdot T_{\text{amf}}}{V_0 + V_C}$$

képletekkel számítjuk ki ($[H^+]$ itt is a definíciója alapján számolandó). K_2 számolt értékeinek átlagát és szórását is meg kell adni a K_1 -gyel megegyező módon.

- A (3) egyenlet alapján, valamint K_1 és K_2 ismeretében meg kell határozni az amfolit izoelektromos pontjának $[H]_i$ és pH_i értékét, valamint ezek szórását a Függelékben megtalálható, szórásterjedésre vonatkozó képletek segítségével.
- A harmadik és negyedik titrálás adatait a 4. táblázatnak megfelelően foglaljuk össze.

4. táblázat. A mérési eredmények összefoglalása.

$M_r(\text{citromsav}) = \dots$, $M_r(\text{só}) = \dots$

$V_E, V_G \text{ (cm}^3\text{)}$	$pH_{\text{mért}} \text{ (csak puffer)}$	$pH_{\text{mért}} \text{ (puffer+amfolit)}$	ΔpH

A táblázatban $\Delta pH = pH_{\text{amfolit+puffer}} - pH_{\text{puffer}}$. A táblázat adatai alapján ΔpH -t ábrázolni kell a tiszta pufferben mért pH függvényében. Michaelis módszere alapján a pH_i az adatokra illeszthető *görbe*, valamint a vízszintes tengely metszéspontja. A mérés kivitelezése (hidrogénion aktivitásával arányos jel mérése) és a pH -mérő esetleges pontatlan kalibrálása miatt a görbe ellaposodó része (mely az inflexiós pontot is tartalmazza) szisztematikusan az x-tengely alatt, illetve fölött haladhat. Emiatt pH_i meghatározására indokoltabb az inflexiós pont megkeresése a $\Delta pH = 0$ helyett (de ezt is el kell végezni!). Ehhez a mért adatok megfelelő részére egy polinomot kell illeszteni, illetve annak egyenletét is meg kell határozni (lásd Függelék; Excel trendvonal és LIN.ILL függvény, Origin, QtiPlot, stb.). Szükség esetén a mérések elejéről, illetve végéről lehet értékeket elhagyni, de az ellaposodó rész előtti és utáni görbület illesztése szükséges (és az ábrán továbbra is minden mérési adatot fel kell tüntetni). A pH_i érték meghatározásához az illesztett polinom inflexiós pontjának a helyét kell megkeresni (lásd Függelék).

- Össze kell hasonlítani a háromféle módszerrel (disszociációs állandók alkalmazása, eredeti Michaelis-féle kiértékelés, polinom inflexióspontjának alkalmazása) kapott pH_i értékeket egymással, valamint irodalmi adattal, főleg a pontosság szempontjából. Az esetleges eltéréseket magyarázni kell. Meg kell adni az irodalmi adat forrását is.

Ellenőrző kérdések

1. Milyen vegyületeket nevezünk amfolitoknak?
2. Írja le röviden, mit értünk egy amfolit izoelektromos pontján!
3. Ismertesse az izoelektromos fókuszálás lényegét!
4. Vezesse le, hogyan adható meg pH_i értéke a savi disszociációs állandókkal egy HA összetételű, két funkciós csoporttal rendelkező amfolit esetén!
5. Vezesse le az első savi disszociációs állandó kifejezését a 4. kérdésben részletezett amfolitra!
6. Vezesse le a második savi disszociációs állandó kifejezését a 4. kérdésben részletezett amfolitra!
7. Milyen korlátai vannak a pH_i disszociációs állandókból történő számításának?
8. Írja le Michaelis módszerének lényegét!
9. Milyen kémiai megfontolásokat teszünk Michaelis módszerének használhatóságához?
10. A gyakorlat során egy alanin oldatot ($c_{\text{alanin}} = 0,032 \text{ M}$) szeretnénk titrálni sósavoldattal ($c_{\text{HCl}} = c_{\text{alanin}}/2 \text{ M}$). Hogyan készítünk 50 cm^3 titrálóoldatot a rendelkezésre álló $0,12 \text{ M}$ -os törzsoldatból?
11. A gyakorlat során egy citromsavoldatot ($c_{\text{cit}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) szeretnénk titrálni. Ehhez 50 cm^3 titrálóoldatot kell készítenünk, amely glicinre nézve $0,035 \text{ M}$, és Na_3PO_4 -re nézve $c_{\text{Na}_3\text{PO}_4} = 3 \cdot c_{\text{cit}} \text{ M}$ -os koncentrációjú. A rendelkezésre álló, 50 cm^3 térfogatú glicin törzsoldat $0,2 \text{ M}$ -os, míg az azonos térfogatú Na_3PO_4 -törzsoldat $0,03 \text{ M}$ -os. Hogyan kell elkészíteni a titrálóoldatot?
12. $20,0 \text{ cm}^3$ $0,0300 \text{ M}$ glicin oldatot titrálunk $0,01 \text{ M}$ HCl-oldattal. Mennyi lesz a titrált oldatban a glicin, valamint a hozzáadott erős sav teljes koncentrációja $7,00 \text{ cm}^3$ -es fogyás esetén?
13. $20,0 \text{ cm}^3$ $0,0300 \text{ M}$ alanin oldatot titrálunk $0,02 \text{ M}$ NaOH-oldattal. Mennyi lesz a titrált oldatban az alanin, valamint a hozzáadott erős bázis teljes koncentrációja $17,00 \text{ cm}^3$ -es fogyás esetén?
14. Egy titrálási pontban a valin analitikai koncentrációja $0,0175 \text{ M}$, a hozzáadott erős savé pedig $0,00637 \text{ M}$. Mekkora a valin első savi disszociációs állandónak értéke, ha a mért $pH = 2,542$?
15. Egy titrálási pontban a szerin analitikai koncentrációja $0,0148 \text{ M}$, a hozzáadott erős lúgé pedig $0,00891 \text{ M}$. Mekkora a szerin második savi disszociációs állandójának értéke, ha a mért $pH = 9,229$ és $pK_v = 13,78$?
16. Egy amfolit első és második savi disszociációs állandója $1,4 \times 10^{-3}$, valamint $5,7 \times 10^{-10}$. Mekkora az amfolit $[\text{H}^+]_i$ és pH_i értéke?