

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 1

Προσδιορισμός

α) των σταθερών διάστασης αμινοξέος και

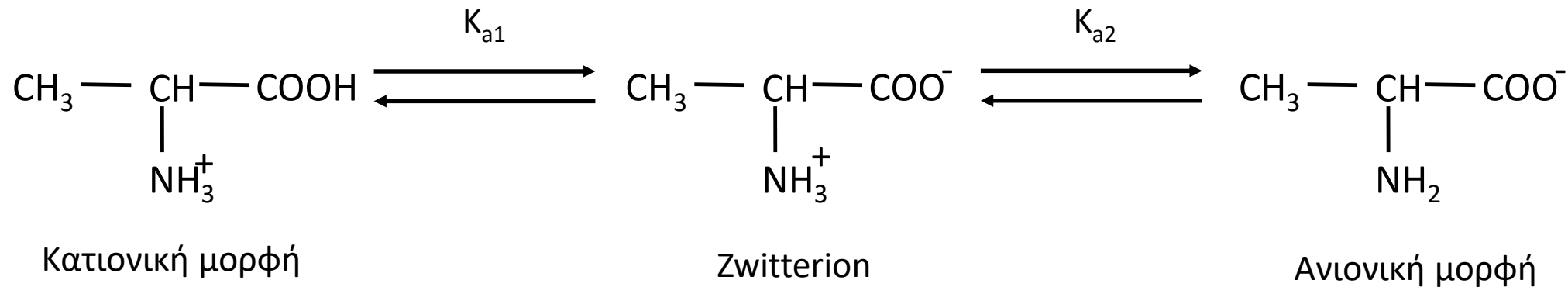
β) των σταθερών σχηματισμού συμπλόκων ενώσεων αμινοξέος με μεταλλοϊόντα

Alanine : ουδέτερο αμινοξύ, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$

Μεταλλοκατιόν : ιόντα δισθενούς χαλκού (Cu^{2+})

ΜΕΡΟΣ Α

Προσδιορισμός σταθερών ιονισμού του αμινοξέος alanine



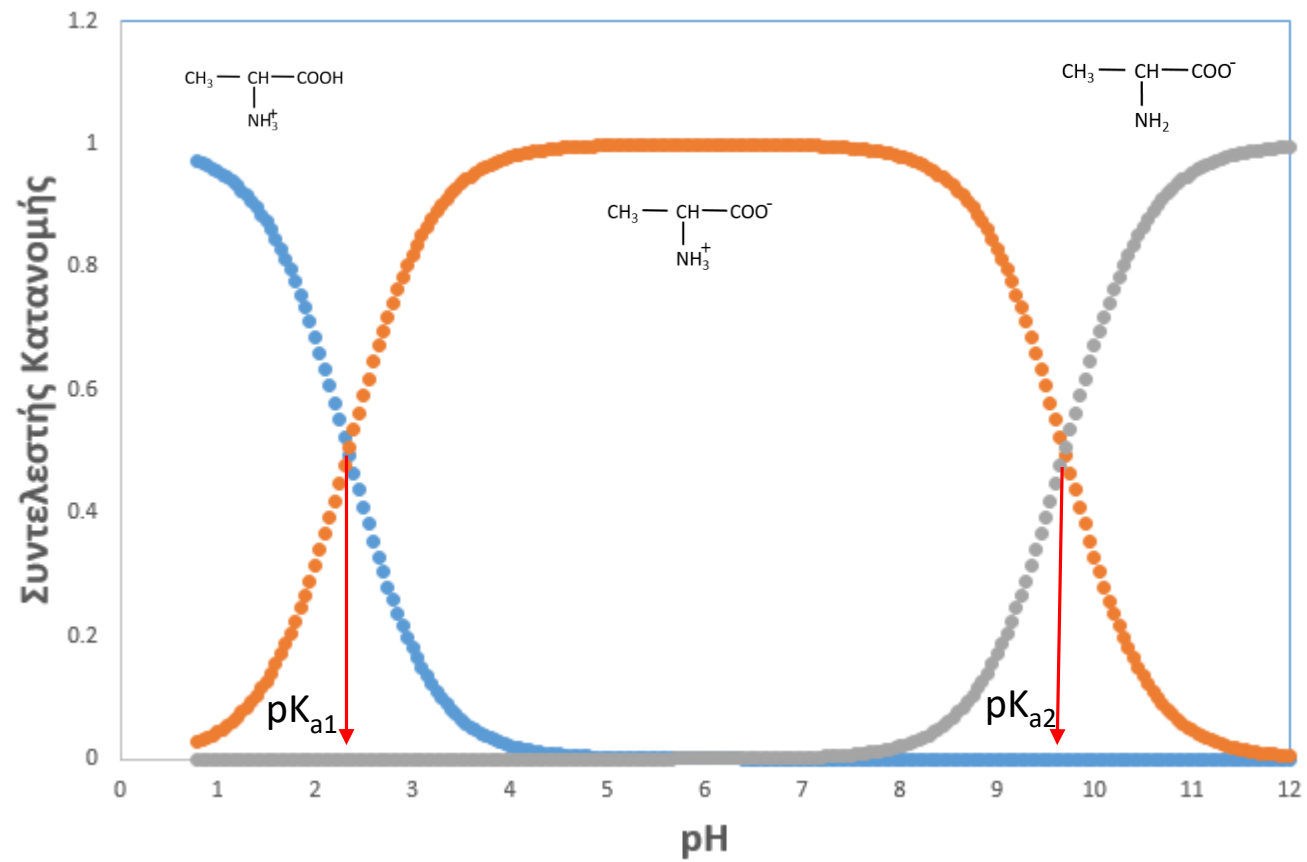
$\text{pH} = \text{pI} = (\text{pK}_{a1} + \text{pK}_{a2})/2$, για την αλανίνη **pI = 6.02**

$\text{pH} = \text{pK}_{a1}$: Κατιονική μορφή, Zwitterion

$\text{pH} = \text{pK}_{a2}$: Ανιονική μορφή, Zwitterion

$\text{pH} < \text{pK}_{a1} - 2$: Κατιονική μορφή

$\text{pH} > \text{pK}_{a2} + 2$: Ανιονική μορφή



Βαθμονόμηση αισθητηρίου pH

Διαλύματα βαθμονόμησης :

A) ρυθμιστικό διάλυμα Όξινου Φθαλικού Καλίου με **pH = 4.01** στους 25°C

B) ρυθμιστικό διάλυμα βορικών με **pH = 9.18** στους 25°C

Ακολουθείτε τις οδηγίες βαθμονόμησης που δίνονται από τον κατασκευαστή του οργάνου

Το αισθητήριο μέτρησης pH είναι ένα συνδυασμένο ηλεκτρόδιο υάλου, ενώ το ηλεκτρόδιο αναφοράς (που περιλαμβάνεται στο αισθητήριο μέτρησης) είναι ηλεκτρόδιο Ag/AgCl/KCl (κορεσμένο)

Βαθμονόμηση αισθητηρίου pH (συνέχεια)

Προσδιορισμός % κλίσης ηλεκτροδίου υάλου (glass electrode)

A) στο διάλυμα με **pH = 4.01** μετρείται δυναμικό E_1

B) στο διάλυμα με **pH = 9.18** μετρείται δυναμικό E_2

Υπολογισμός % κλίσης ηλεκτροδίου = $(E_2 - E_1)/(pH_2 - pH_1) * 100$

Θεωρητική κλίση ηλεκτροδίου υάλου στους 25°C : 59.16 mV/pH (100%)

Το ηλεκτρόδιο πρέπει να έχει % κλίση μεταξύ του 90 – 105% προκειμένου να χρησιμοποιηθεί

διαφορετικά πρέπει να ακολουθηθεί διαδικασία αναγέννησης του ή να αντικατασταθεί

Πειραματικά δεδομένα τιτλοδότησης
διαλύματος Alanine με πρότυπο
διάλυμα NaOH 0.1M

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

α) Διάλυμα KNO₃ 1M

β) Διάλυμα αλανίνης 100mg/ml σε 1M HNO₃

γ) Διάλυμα NaOH 0.1M

ΔΙΑΛΥΜΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

20 ml διαλύματος KNO₃ 1M σε ογκομετρική
φιάλη των 200 ml

Προσθήκη 1 ml διαλύματος αλανίνης 100mg/ml
σε 1M HNO₃

| V _{NaOH} / ml | pH |
|------------------------|------|
| 0 | 2.6 |
| 1 | 2.67 |
| 2 | 2.72 |
| 3 | 2.8 |
| 4 | 2.87 |
| 5 | 2.97 |
| 6 | 3.07 |
| 7 | 3.22 |
| 8 | 3.43 |
| 8.2 | 3.55 |
| 8.4 | 3.57 |
| 8.6 | 3.61 |
| 8.8 | 3.68 |
| 9 | 3.75 |
| 9.2 | 3.75 |
| 9.4 | 3.83 |
| 9.6 | 3.93 |
| 9.8 | 4.08 |
| 10 | 4.29 |
| 10.2 | 4.64 |
| 10.4 | 5.44 |
| 10.6 | 7.03 |

| V _{NaOH} / ml | pH |
|------------------------|-------|
| 10.8 | 7.71 |
| 11 | 8.26 |
| 12 | 9.09 |
| 13 | 9.35 |
| 14 | 9.59 |
| 15 | 9.77 |
| 16 | 9.9 |
| 17 | 10.03 |
| 18 | 10.17 |
| 19 | 10.33 |
| 20 | 10.45 |
| 21 | 10.61 |

Παρασκευή 200 ml διαλύματος αλανίνης σε 0.1M KNO_3



Πειραματική διάταξη
για την τιτλοδότηση του
διαλύματος αλανίνης

pH - meter

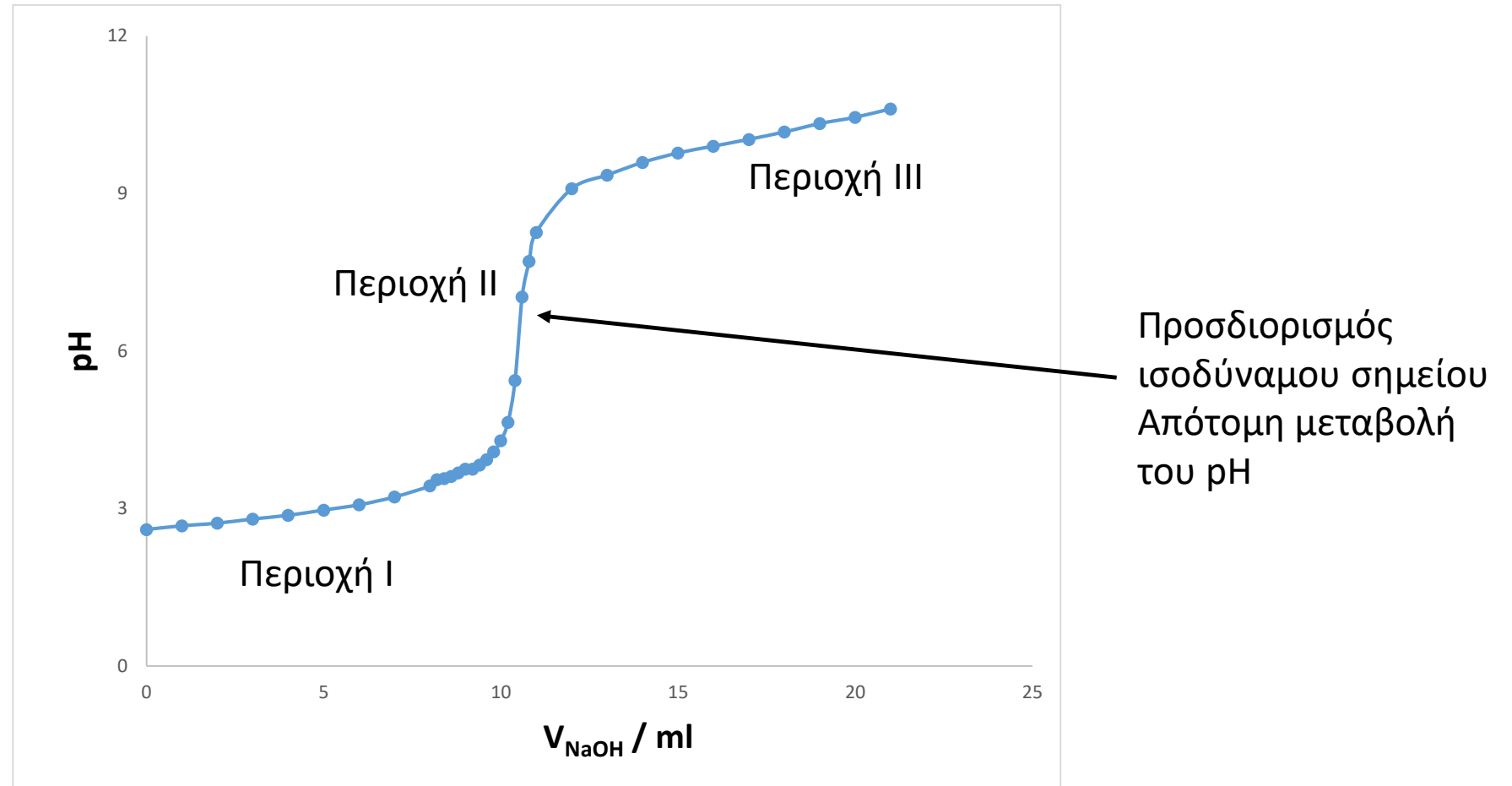
Συνδυασμένο
ηλεκτρόδιο υάλου

Διάλυμα εργασίας

Αναδευτήρας

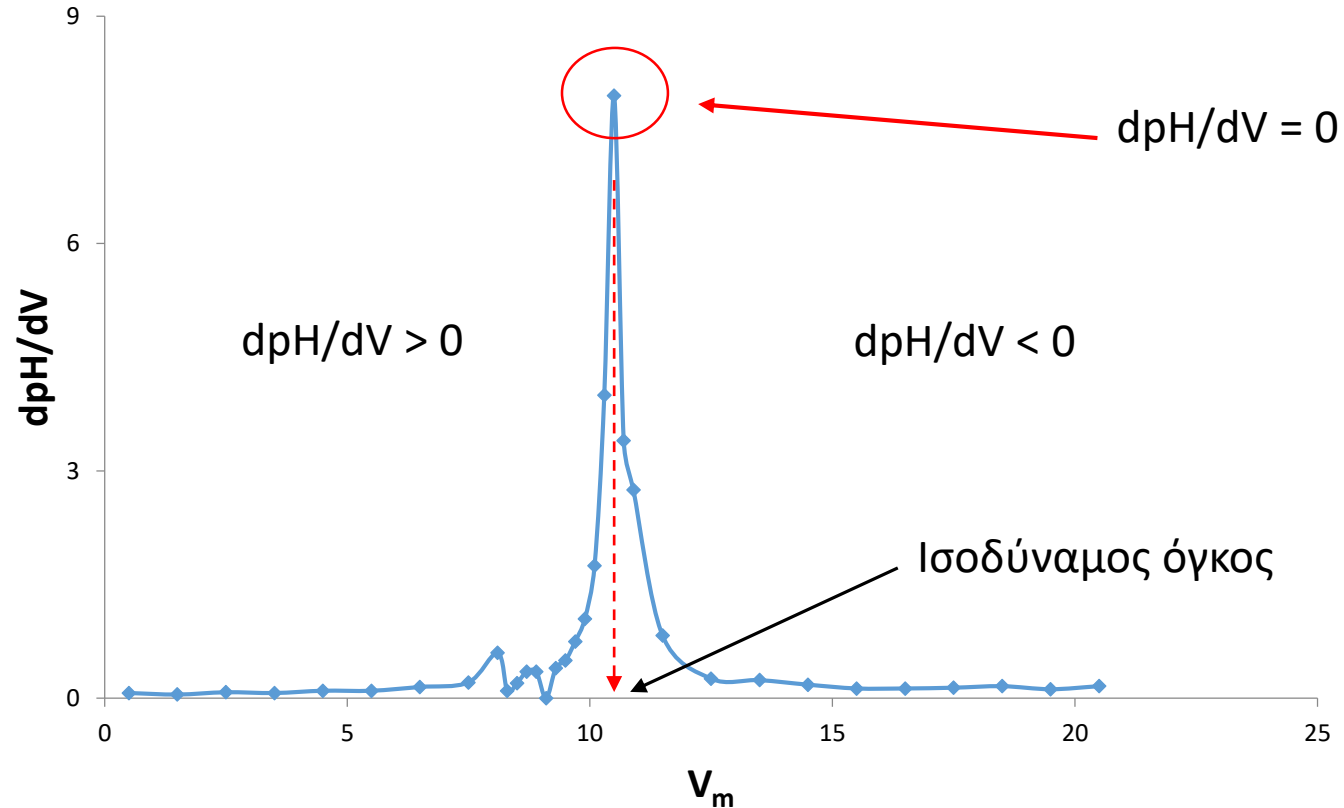


Γραφική παράσταση 1 : μεταβολή του pH του διαλύματος αλανίνης με τον προστιθέμενο όγκο του προτύπου διαλύματος NaOH



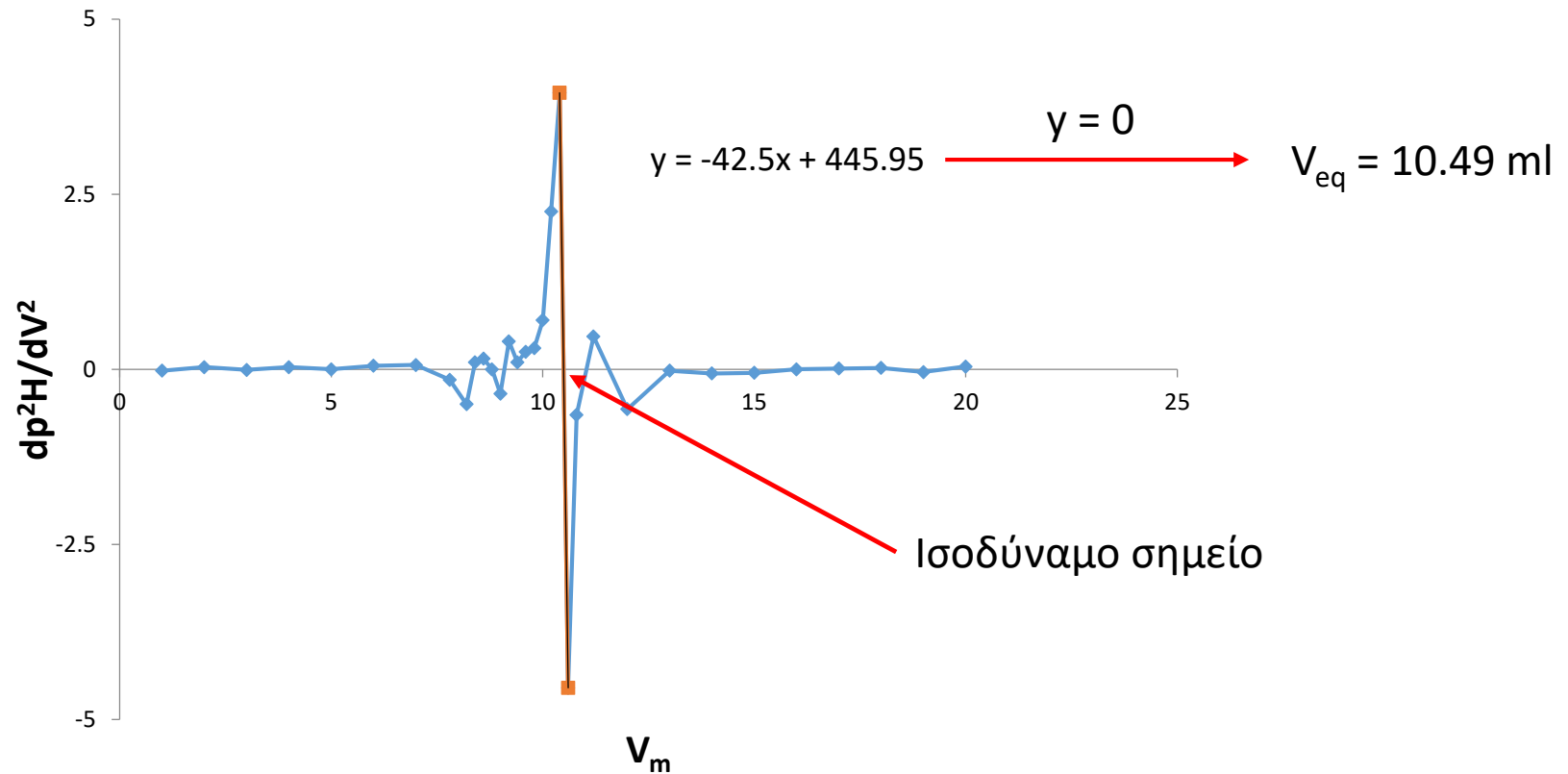
Γραφική παράσταση 2 : μεταβολή του όρου dpH/dV (ρυθμός μεταβολής του pH) του διαλύματος αλανίνης με τον προστιθέμενο όγκο του προτύπου διαλύματος NaOH

Οι μαθηματικοί υπολογισμοί των όρων της πρώτης και της δεύτερης παραγώγου περιγράφονται αναλυτικά στο εργαστηριακό φυλλάδιο της Πληροφορικής καθώς και στην παρουσίαση του Excel στην πλατφόρμα eclass



Αδυναμία επακριβούς προσδιορισμού του ισοδύναμου όγκου από την γραφική παράσταση της μεταβολής του όρου dpH/dV με τον προστιθέμενο όγκο του προτύπου διαλύματος τιτλοδότησης

Γραφική παράσταση 3 : μεταβολή του όρου d^2pH/dV_m^2 (δεύτερη παράγωγος του pH έναντι του όγκου) του διαλύματος αλανίνης με τον προστιθέμενο όγκο του προτύπου διαλύματος NaOH



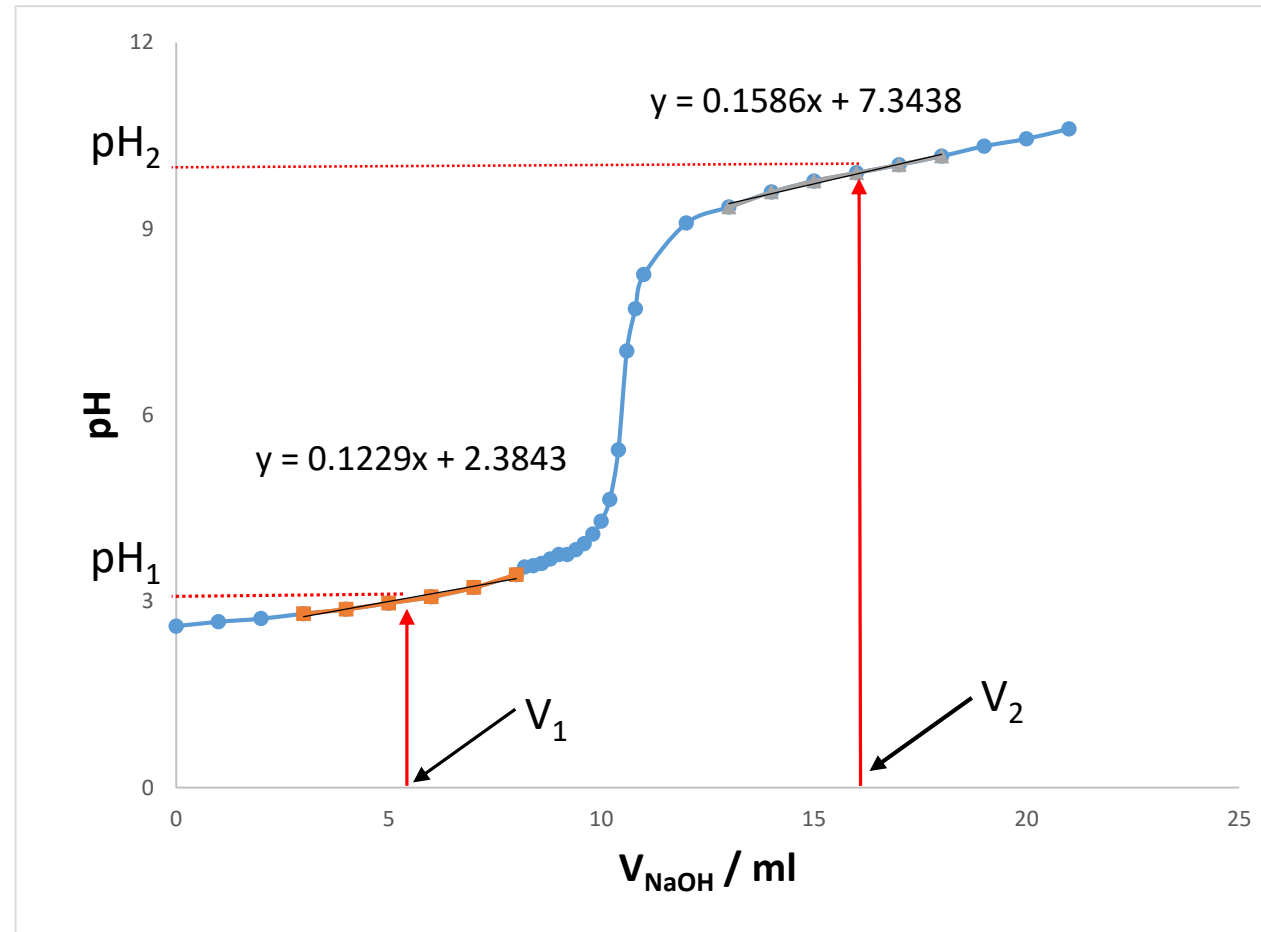
Επακριβής προσδιορισμός του ισοδύναμου σημείου της τιτλοδότησης από το σημείο τομής του ευθύγραμμου τμήματος (τιμές μετάβασης από τις θετικές στις αρνητικές τιμές) με τον άξονα - x

$$V_1 = 0.5 \cdot V_{\text{eq}} = 5.24 \text{ ml}$$

$$\text{pK}_{\alpha 1} = \text{pH}_1$$

$$V_2 = 1.5 \cdot V_{\text{eq}} = 15.73 \text{ ml}$$

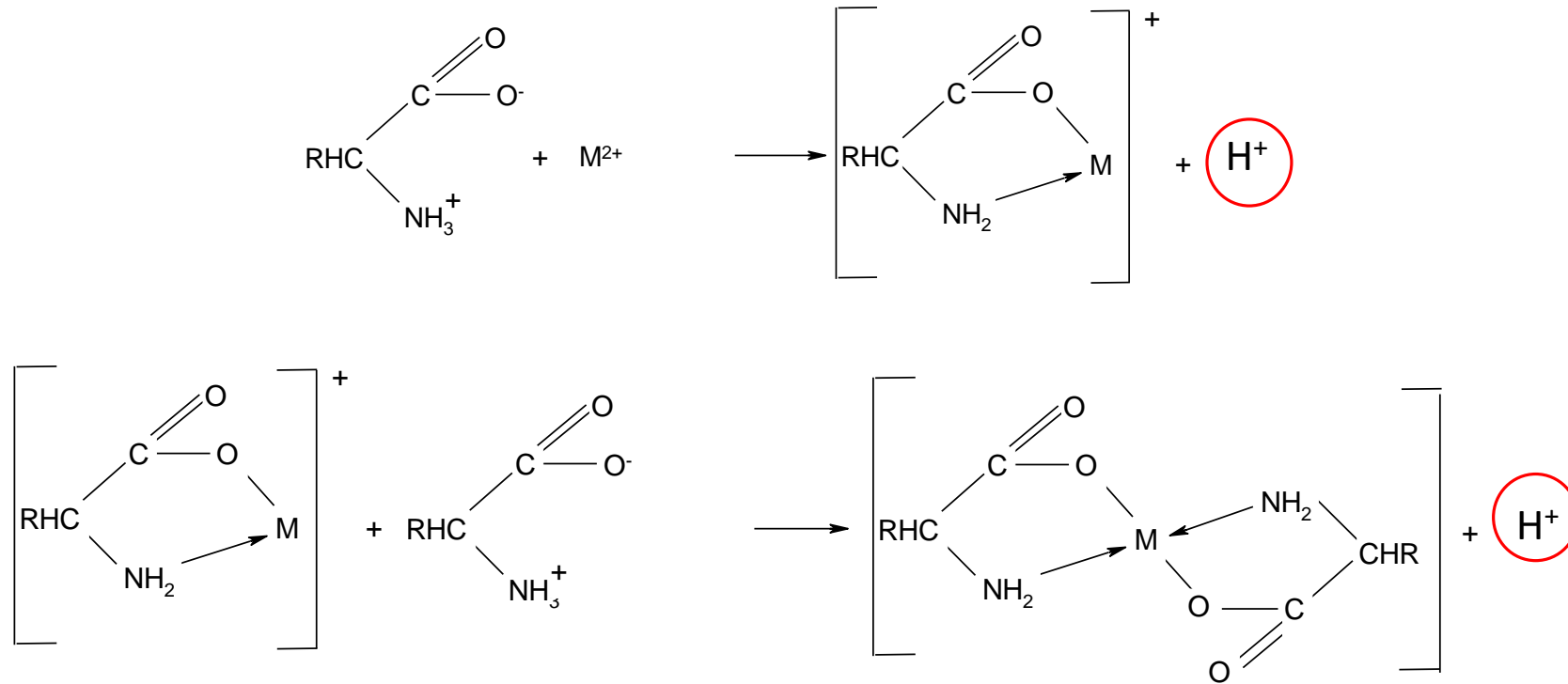
$$\text{pK}_{\alpha 2} = \text{pH}_2$$



Οι τιμές pH_1 και pH_2 προσδιορίζονται με γραμμική προσαρμογή σε ορισμένο αριθμό πειραματικών σημείων εκατέρωθεν των τιμών όγκου V_1 και V_2

ΜΕΡΟΣ Β

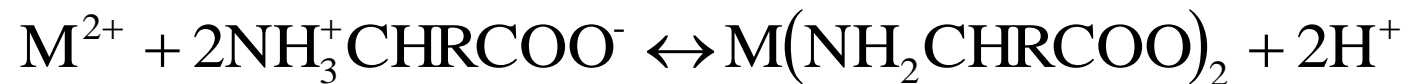
Προσδιορισμός σταθερών σχηματισμού συμπλόκων alanine με ιόντα
δισθενούς χαλκού



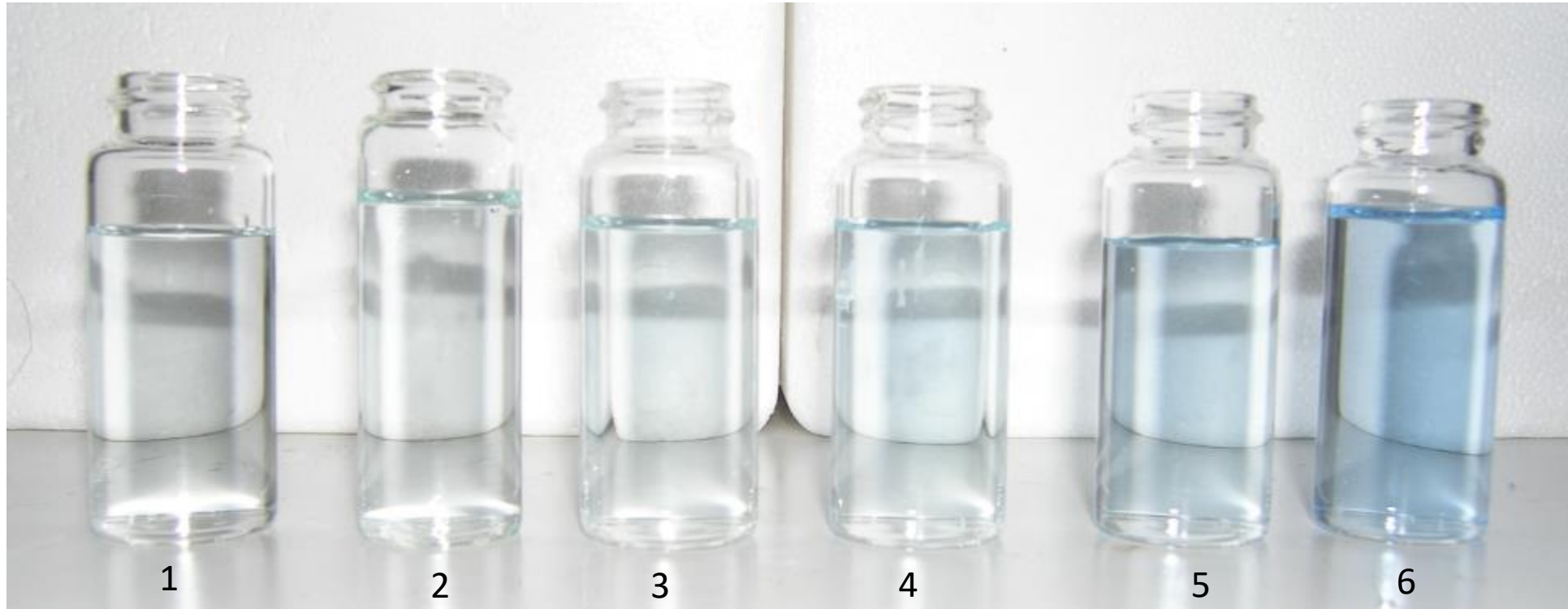
Σχηματισμός δύο συμπλόκων με στοιχειομετρία 1:1 και 1:2 ως προς την αλανίνη

Μείωση του pH του διαλύματος με την προσθήκη του διαλύματος νιτρικού χαλκού (αποδέσμευση πρωτονίων)

Η προσθήκη του NaOH μετατοπίζει την ισορροπία προς τον σχηματισμό του συμπλόκου με στοιχειομετρία 1:2



Μεταβολή της οπτικής πυκνότητας του διαλύματος με την προσθήκη του πρότυπου διαλύματος NaOH



Σταδιακή προσθήκη προτύπου διαλύματος NaOH

Μεταβολή της οπτικής πυκνότητας του διαλύματος με την προσθήκη του πρότυπου διαλύματος NaOH (συνέχεια)

Πριν την έναρξη της προσθήκης NaOH



Μετά την ολοκλήρωση της τιτλοδότησης

Πειραματικά δεδομένα τιτλοδότησης διαλύματος
Alanine παρουσία ιόντων δισθενούς χαλκού (Cu^{2+})
με πρότυπο διάλυμα NaOH

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

α) Διάλυμα KNO_3 1M

β) Διάλυμα $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.1M

γ) Διάλυμα αλανίνης 100mg/ml σε νερό

δ) Διάλυμα NaOH 0.1M

ΔΙΑΛΥΜΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

20 ml διαλύματος KNO_3 1M σε ογκομετρική φιάλη των 200 ml

Προσθήκη 1 ml διαλύματος αλανίνης 100mg/ml σε νερό

Προσθήκη 2 ml διαλύματος $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.1M

| $V_{\text{NaOH}} / \text{mL}$ | pH |
|-------------------------------|------|
| 0 | 3.77 |
| 0.2 | 3.81 |
| 0.4 | 3.88 |
| 0.6 | 3.95 |
| 0.8 | 4.03 |
| 1.0 | 4.12 |
| 1.2 | 4.23 |
| 1.4 | 4.32 |
| 1.6 | 4.42 |
| 1.8 | 4.51 |
| 2.0 | 4.63 |
| 2.2 | 4.77 |
| 2.4 | 4.89 |
| 2.6 | 5.04 |
| 2.8 | 5.18 |
| 3.0 | 5.32 |
| 3.2 | 5.46 |
| 3.4 | 5.65 |
| 3.6 | 5.83 |
| 3.8 | 6.00 |
| 4.0 | 6.21 |

Διάλυμα αλανίνης
παρουσία ιόντων
δισθενούς χαλκού



ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

α) $V_{\text{αρχ.}} = 203 \text{ ml}$

Όγκος διαλύματος KNO_3 0.1M : 200 ml

Όγκος διαλύματος Alanine σε νερό (100 mg/ml) : 1 ml

Όγκος διαλύματος $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.1M : 2 ml

β) $C_{\text{NaOH}}^{\text{πρότυπο}} = 0.1\text{M}$

γ) $V_{\text{βάσης}} : 0 \text{ έως } 4.00 \text{ ml}$ ανά 0.2 ml (κάθε προσθήκη)

Δ) Υπολογίζουμε τις συγκεντρώσεις της ολικής αλανίνης, του ολικού δισθενούς χαλκού και των ολικών ιόντων Νατρίου σε κάθε προσθήκη διαλύματος NaOH 0.1M

(η προσθήκη του διαλύματος NaOH προκαλεί μείωση των παραπάνω συγκεντρώσεων (αραίωση))

$$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{αρχ.}} = 0.1\text{M} \cdot (2\text{ml}/203\text{ml}) = 9.85 \cdot 10^{-4}\text{M}$$

$$[\text{Hala}]_t = [\text{Hala}]_{\text{αρχ.}} \cdot \frac{V_{\text{αρχ.}}}{V_{\text{αρχ.}} + V_{\text{βάσης}}}$$

$$[\text{Cu}^{2+}]_t = [\text{Cu}^{2+}]_{\text{αρχ.}} \cdot \frac{V_{\text{αρχ.}}}{V_{\text{αρχ.}} + V_{\text{βάσης}}}$$

$$[\text{Na}^+] = C_{\text{NaOH}}^{\text{πρότυπο}} \cdot \frac{V_{\text{βάσης}}}{V_{\text{βάσης}} + V_{\text{αρχ.}}}$$

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ (συνέχεια)

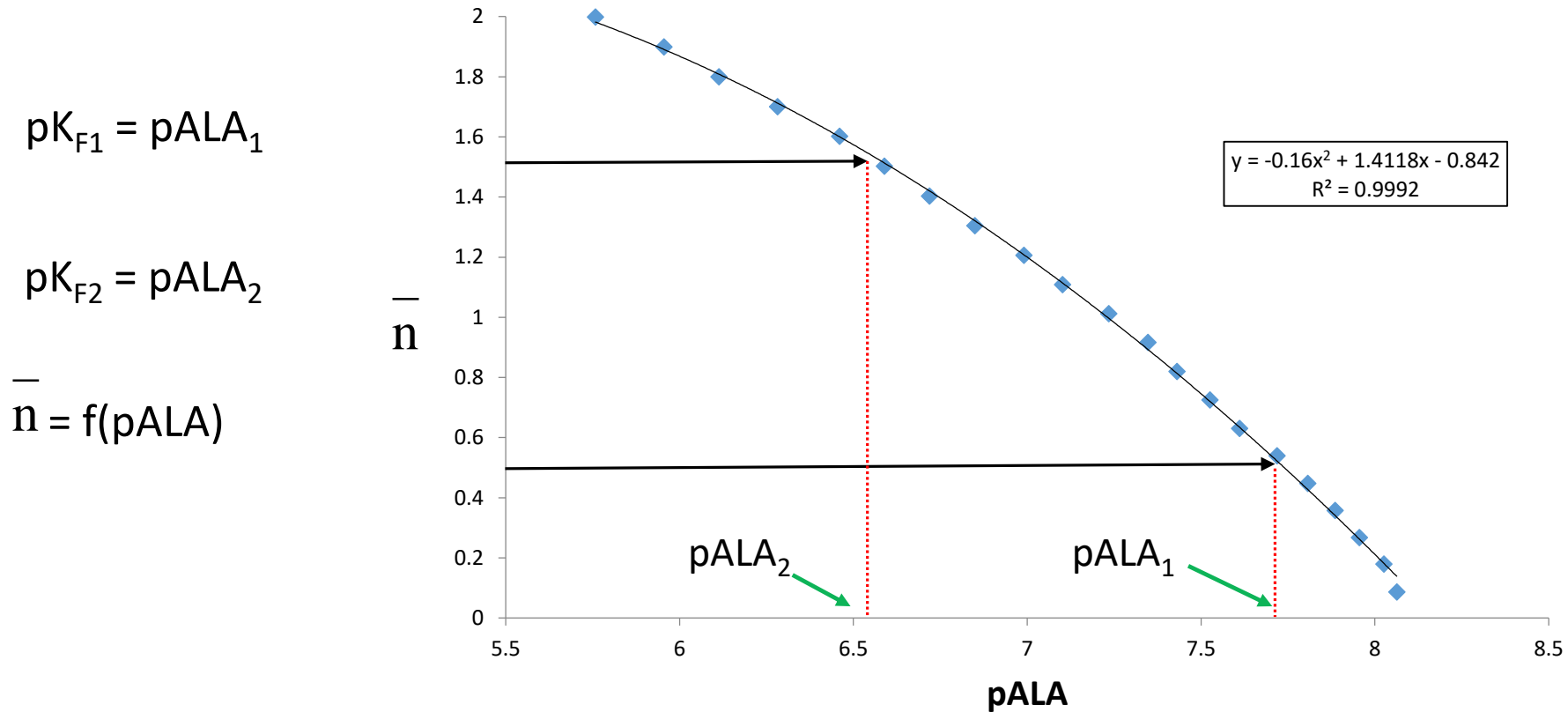
Υπολογίζουμε τα μεγέθη $[\text{Hala}]$, $[\text{ala}^-]$ και \bar{n} με τις ακόλουθες εξισώσεις (Πίνακας στο Excel)

$$[\text{Hala}] = \frac{[\text{Hala}]_t - [\text{H}^+] + [\text{OH}^-] - [\text{Na}^+]}{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_{a1}}}$$

$$[\text{ala}^-] = \frac{K_{a2}[\text{Hala}]}{[\text{H}^+]} \quad \longrightarrow \quad \text{pALA} = -\log[\text{ala}^-]$$

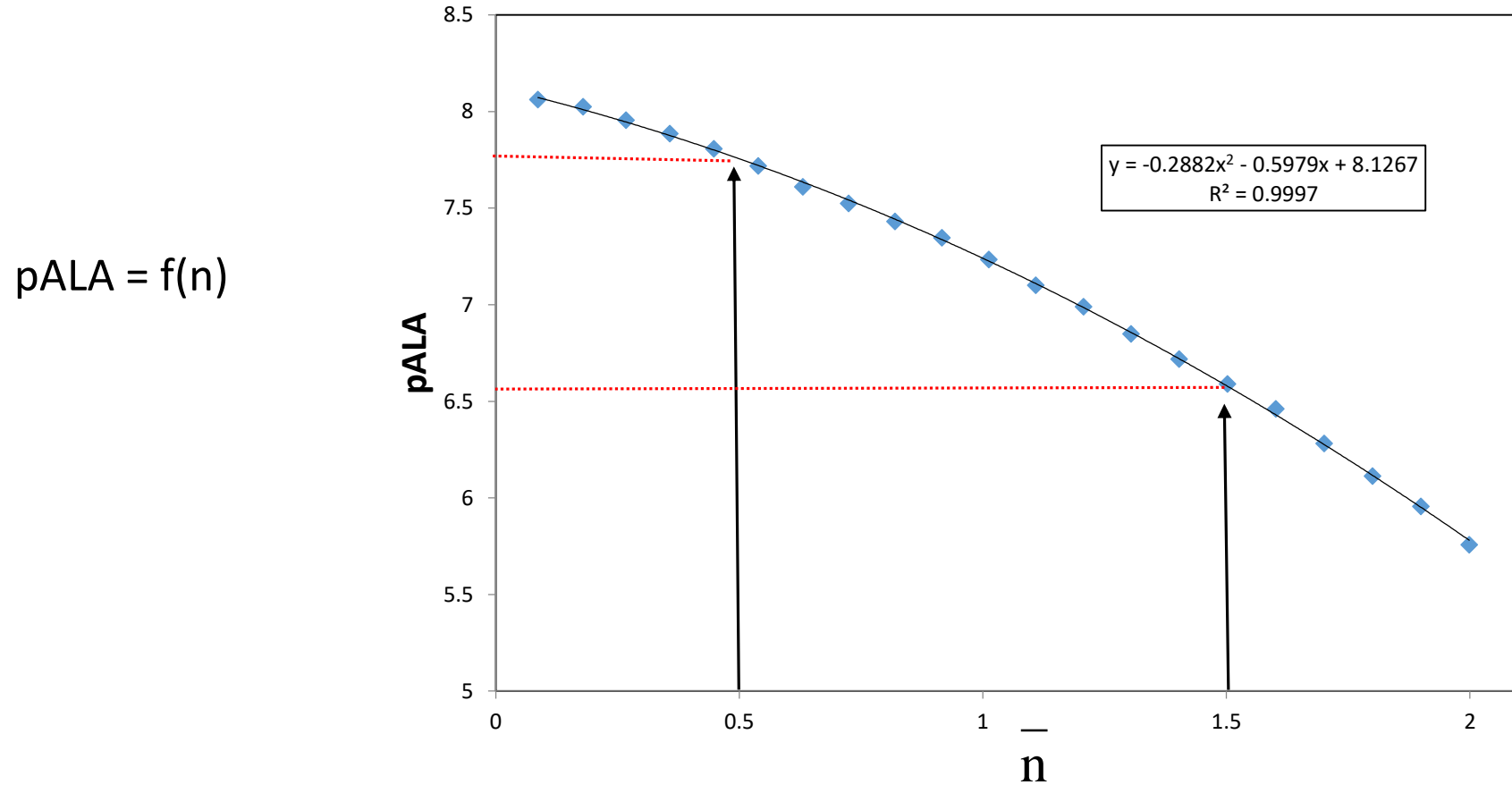
$$\bar{n} = \frac{[\text{Hala}]_t - [\text{Hala}] - \frac{K_2[\text{Hala}]}{[\text{H}^+]} - \frac{[\text{H}^+][\text{Hala}]}{K_1}}{[\text{Cu}^{2+}]_t}$$

Προσδιορισμός των τιμών $pALA$: γραφική παράσταση του \bar{n} έναντι του $pALA$



Για τον προσδιορισμό των τιμών $pALA$ πρέπει να επιλυθεί η εξίσωση προσαρμογής (2^{ου} βαθμού στο παράδειγμα) για $n = 0.5$ και για $n = 1.5$ και να γίνουν αποδεκτές μόνο θετικές ρίζες και μέσα στα όρια των τιμών $pALA$

Εναλλακτικός προσδιορισμός των τιμών ρ_{ALA} : γραφική παράσταση του ρ_{ALA} έναντι του \bar{n}



$\rho_{K_{F1}} = \rho_{ALA_1} = f(n)$ για $\bar{n} = 0.5$

$\rho_{K_{F2}} = \rho_{ALA_2} = f(n)$ για $\bar{n} = 1.5$

Οι τιμές ρ_{ALA} υπολογίζονται με αντικατάσταση των τιμών του \bar{n} (0.5 & 1.5) στην εξίσωση προσαρμογής

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΣΤΑΘΕΡΩΝ

Σταθερές ιονισμού Alanine : $pK_{a1} = 2.30$ & $pK_{a2} = 9.69$

Σταθερές σχηματισμού συμπλόκων Alanine με ιόντα δισθενούς χαλκού :

$pK_{F1} = 8.13$ & $pK_{F2} = 6.79$