

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

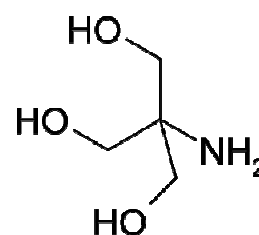
Úloha č.3

Stanovení disociační konstanty TRIS

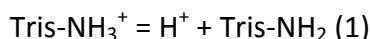
Jméno:	
Obor:	Datum provedení:

TEORETICKÝ ÚVOD

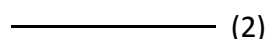
Tris je zkratkou organické sloučeniny tris(hydroxymetyl)aminometan (Obr. 1), která je velmi často používána v biochemii a molekulární biologii jako pufrální látka. Z chemického hlediska se jedná o primární amin, který se ve vodném roztoku chová podle disociační rovnováhy (1):



a TRIS



Z hlediska Brønstedovy teorie kyselin a zásad lze i na protonizované báze pohlížet jako na kyseliny a lze tudíž definovat následující disociační konstantu:



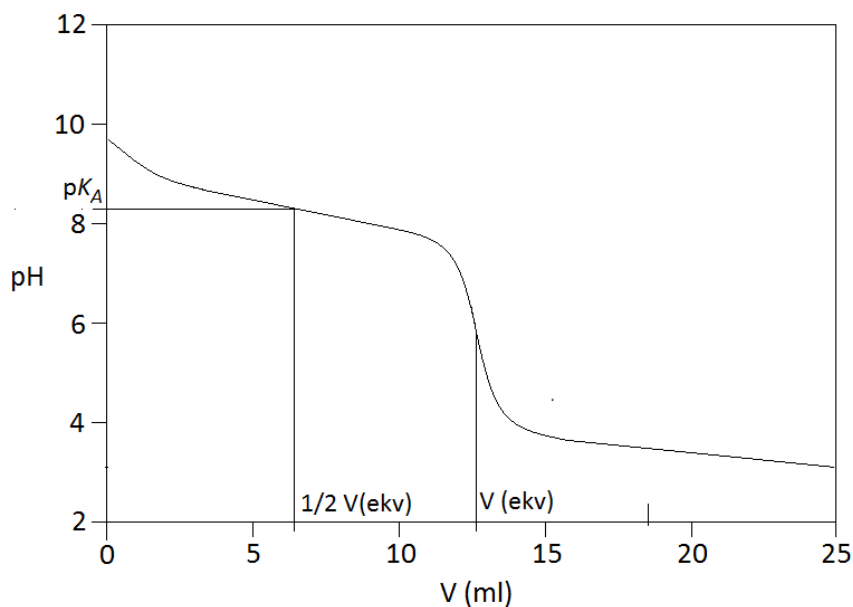
Protože hodnoty disociačních konstant mohou být různého řádu, udávají se z praktického hlediska v podobě svých logaritmů (resp. záporných logaritmů) jako $\text{p}K_A$.

Na obrázku 2 je znázorněn průběh acidobazické titrace, kdy pokud je k bazickému roztoku postupně přidávána kyselina, dochází k neutralizaci a pH roztoku se snižuje jen zvolna. Tato část titrační křivky se často označuje jako oblast pufrální, kdy s přidávkem titračního činidla (báze nebo kyseliny) se pH roztoku mění jen pozvolna. Bod, kdy je látkové množství kyseliny rovno látkovému množství báze nazýváme **bodem ekvivalence**. V oblasti bodu ekvivalence se směrnice titrační křivky významně mění a následně v oblasti velkého nadbytku kyseliny se pH mění opět jen zvolna.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.3

Stanovení disociační konstanty TRIS

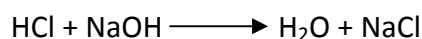


Obrázek 2: Titrací křivka slabé zásady silnou kyselinou

PRAKTICKÁ ČÁST

A. Stanovení koncentrace HCl titrací roztokem NaOH

Při smíchání k. chlorovodíkové a hydroxidu sodného probíhá neutralizační reakce podle rovnice:



Během neutralizační reakce reagují ionty H^+ kyseliny přítomné v roztoku s přidávanými OH^- ionty hydroxidu za vzniku molekuly H_2O . Jakmile je veškerá kyselina zneutralizována, dojde při dalším přidavku hydroxidu ke vzniku nadbytku OH^- iontů v roztoku. Tento stav lze určit pomocí vhodného indikátoru, v našem případě fenolftaleinu.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.3

Stanovení disociační konstanty TRIS

Postup práce:

1. Do titrační baňky odpipetujte 5 ml roztoku HCl a přidejte několik kapek fenolftaleinu.
2. Titrujte 0.1 M roztokem NaOH. Titrace je skončena v okamžiku, když se poslední kapkou přidávaného činidla z byrety zbarví titrovaný roztok HCl dočervena. Barevné změně indikátoru odpovídá pod ekvivalence.
3. Titraci opakujte třikrát a na základě průměrné hodnoty ze tří titrací vypočítejte přesnou koncentraci roztoku HCl.

Výsledky:

$V_{\text{NaOH}} \text{ (ml)}$			$V_{\text{prům}} \text{ (ml)}$	$c_{\text{HCl}} \text{ (M)}$

B. Stanovení disociační konstanty TRIS (tris(hydroxymetyl)aminometan)Postup práce:*Kalibrace pH metru*

1. Otevřete menu pro kalibraci zmáčknutím tlačítka <CAL>
2. Pomocí tlačítka <CAL> zvolte typ používaných pufrů [AutoCal DIN]; typ pufrů Ct1.
3. Důkladně opláchněte elektrodu destilovanou vodou a ponořte ji do prvního pufru (pufr o pH 4.0).
4. Spusťte měření zmáčknutím tlačítka <ENTER>.
5. Naměřená hodnota je kontrolována na stabilitu (stability control); na displeji bliká [AR] a zobrazí se nominální hodnota pH daného pufru.
6. Počkejte na dokončení měření nebo měření ukončete zmáčknutím tlačítka <ENTER>.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.3

Stanovení disociační konstanty TRIS

7. Objeví se zobrazení pro další kalibrační pufr; zobrazí se Ct2.
8. Důkladně opláchněte elektrodu destilovanou vodou a ponořte ji do druhého pufru (pufr o pH 7.0).
9. Spusťte měření zmáčknutím tlačítka **<ENTER>**.
10. Naměřená hodnota je kontrolována na stabilitu (stability control); na displeji bliká [AR] a zobrazí se nominální hodnota pH daného pufru.
11. Počkejte na dokončení měření nebo měření ukončete zmáčknutím tlačítka **<ENTER>**.
12. Objeví se zobrazení pro další kalibrační pufr; zobrazí se Ct3.
8. Důkladně opláchněte elektrodu destilovanou vodou a ponořte ji do třetího pufru (pufr o pH 10.0).
9. Spusťte měření zmáčknutím tlačítka **<ENTER>**.
10. Naměřená hodnota je kontrolována na stabilitu (stability control); na displeji bliká [AR] a zobrazí se nominální hodnota pH daného pufru.
11. Počkejte na dokončení měření nebo měření ukončete zmáčknutím tlačítka **<ENTER>**.

Vlastní měření

1. Do 100 ml kádinky napipetujte přesně 1,0 ml roztoku TRIS a naředte jej 30 ml vody.
2. Do kádinky vložte magnetické míchadlo, kádinku postavte na magnetickou míchačku a spusťte míchání.
3. Zkalibrovanou elektrodu opláchněte vodou, osušte kouskem buničité vaty a ponořte do naředěného roztoku TRIS v kádince. Při ponoření elektrody do roztoku si dejte pozor, aby elektroda nebyla v kontaktu s míchadlem a aby byla ponořena frita elektrody.
4. Odečtěte hodnotu pH.
5. Do titrovaného roztoku přidejte pipetou 1,0 ml odměrného roztoku kyseliny chlorovodíkové a po ustálení hodnoty pH metru odečtěte pH.
6. Tento postup opakujte 20 krát, až do konečné spotřeby 24,0 ml.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.3

Stanovení disociační konstanty TRIS

7. Vyneste v programu Excel titrační křivku (závislost pH na objemu přidané kyseliny chlorovodíkové) a proložením bodů určete bod ekvivalence (inflexe titrační křivky).
8. Vypočítejte koncentraci předloženého roztoku TRIS a v polovině spotřeby k bodu ekvivalence poté odečtěte pK_A TRIS.
9. Zhodnoťte, v jakém rozsahu pH se dá TRIS používat jako pufr.

Výsledky:

c_{HCl} (mM)	V_{ekv} (ml)	c_{TRIS} (mM)	pK_A TRIS

Titrační křivka (závislost pH na objemu přidané kyseliny chlorovodíkové)



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.3
Stanovení disociační konstanty TRIS

Zhodnocení, v jakém rozsahu pH se dá TRIS používat jako pufr