



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

- Συμπλοκομετρικές Ογκομετρήσεις

ΣΥΜΠΛΟΚΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ



ΓΕΝΙΚΑ

Σύμπλοκος ένωση ή ένωση συναρμογής:

Χαρακτηρίζεται μια ένωση η οποία αποτελείται από ένα κεντρικό άτομο (συνήθως μεταλλοϊόν, οξύ κατά Lewis), το οποίο συνδέεται με ορισμένο αριθμό ατόμων αμετάλλου ή μορίων ιόντων, που ονομάζονται υποκαταστάτες ή ομάδες συναρμογής (βάση κατά Lewis).

Κεντρικό Άτομο:

Μεταλλοϊόντα-Οξέα κατά Lewis:

(σταθερότερα τα ιόντα με μεγάλη πυκνότητα φορτίου: κενά d τροχιακά, υψηλό φορτίο και σχετικά μικρή ιοντική ακτίνα).

Υποκαταστάτες (ligands):

Πολικά μόρια ή ανιόντα που έχουν τουλάχιστον ένα μη δεσμικό ζεύγος ηλεκτρονίων, είναι δηλαδή βάσεις κατά Lewis.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΟΙ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ

Υποκαταστάτης	Ονομασία
N^{3-}	Αζιδο-
Br^-	Βρωμο-
Cl^-	Χλωρο-
OH^-	Υδροξο-
CN^-	Κυανο-
CO_3^{2-}	Καρβοκατο-
$C_2O_4^{2-}$	Οξαλατο-
NH_3	Αμμινο-
en	Αιθυλενοδιαμινο-
C_2H_5N	Πυριδινο-
EDTA	Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικο-
H_2O	Υδρο- (ή υδατο-)

Σφαιρα συντάξεως ή εντάξεως:

είναι η περιοχή του χώρου γύρω από το κεντρικό άτομο που περιλαμβάνει τους υποκαταστάτες

Αριθμός μοριακής συντάξεως ή εντάξεως:

Αριθμός των υποκαταστατών που περιβάλλουν το κεντρικό ιόν (2,3,4,5,6,8,12)

2 Ευθύγραμμη
 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$

4 Τετραεδρική ή επίπεδη τετραγωνική
 $[\text{Ni}(\text{CN})_4]^{-2}$

6 Οκταεδρική
 $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{+3}$



- M^{n+} : το κεντρικό ιόν
- L : ο υποκαταστάτης
- m : ο αριθμός μοριακής συντάξεως

ΧΗΛΙΚΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ (chelates)

- Μονοδοντικοί ή μονοσχιδείς υποκαταστάτες: CN^- , H_2O , NH_3
- Πολυδοντικοί ή πολυσχιδείς υποκαταστάτες (διαθέτουν περισσότερα από ένα μη δεσμικά ζεύγη ηλεκτρονίων και ενώνονται με περισσότερους από ένα δοτικό ομοιοπολικό δεσμό με το κεντρικό άτομο π.χ. en, EDTA σχηματίζοντας χηλικά σύμπλοκα

ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ ΣΤΗ ΣΥΜΠΛΟΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΗ

■ Η ταχύτητα αντίδρασης σχηματισμού του συμπλόκου ιόντος να είναι μεγάλη.

■ Η αντίδραση σχηματισμού του συμπλόκου να έχει καθορισμένη στοιχειομετρία.

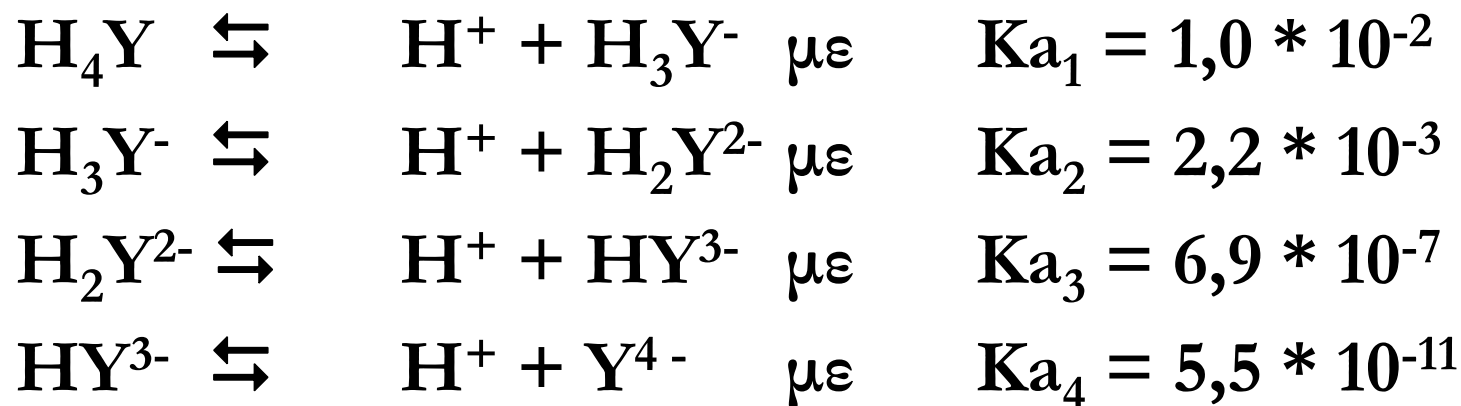
■ Η σταθερά σχηματισμού του συμπλόκου να έχει υψηλή τιμή.

Να είναι δηλαδή η αντίδραση σχηματισμού του συμπλόκου ποσοτική.

■ Να υπάρχει δυνατότητα καθορισμού του τελικού σημείου ογκομέτρησης. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται συνήθως οι μεταλλοχρωματικοί δείκτες. Εναλλακτικά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ορισμένες ενόργανες τεχνικές ανάλυσης, όπως π.χ. η ποτενσιομετρία, η αγωγιμομετρία κ.λπ.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΔΤΑ

1. Το ΕΔΤΑ είναι ένα τετραπρωτικό οξύ της μορφής H_4Y , του οποίου οι ισορροπίες ιοντισμού είναι:



ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ EDTA

2. Το τετρασθενές ανιόν του EDTA, Y^{4-} , σχηματίζει πολύ σταθερά σύμπλοκα με τα περισσότερα μεταλλοϊόντα και σε γραμμομοριακή αναλογία 1:1. Η σταθερά σχηματισμού K_f , εκφράζει τη σταθερά σχηματισμού μεταξύ του μεταλλοϊόντος και του Y^{4-} . Όμως, η μορφή του EDTA (HY^{3-} , H_2Y^{2-} , Y^{4-}), εξαρτάται από το pH του διαλύματος.

Με τη συμβατική σταθερά σχηματισμού $K'f$, η οποία ορίζεται από τη σχέση:

$$K'f = K_f * \alpha_4$$

όπου, α_4 το κλάσμα mol του EDTA που βρίσκεται υπό μορφή Y^{4-} δηλαδή,

$$\alpha_4 = [Y^{4-}] / [EDTA]$$

θεωρούμε ότι το EDTA έχει μια μόνο μορφή, αυτή του Y^{4-} .

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ EDTA

3. Το δινάτριο άλας του EDTA, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, είναι πρότυπη ουσία και διατίθεται στο εμπόριο σε μεγάλη καθαρότητα και χαμηλή τιμή. Το άλας αυτό χρησιμοποιείται για την παρασκευή προτύπων διαλυμάτων EDTA, γιατί το H_4Y είναι δυσδιάλυτο στο νερό.
4. Όλα τα σύμπλοκα άλατα του EDTA με μεταλλοϊόντα είναι ευδιάλυτα στο νερό, οπότε δεν προκύπτουν σφάλματα εξαιτίας συγκαθίζησης.

ΚΑΜΠΥΛΗ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΗΣ

Η καμπύλη συμπλοκομετρικής ογκομέτρησης μπορεί να υποδιαιρεθεί σε τρεις περιοχές:

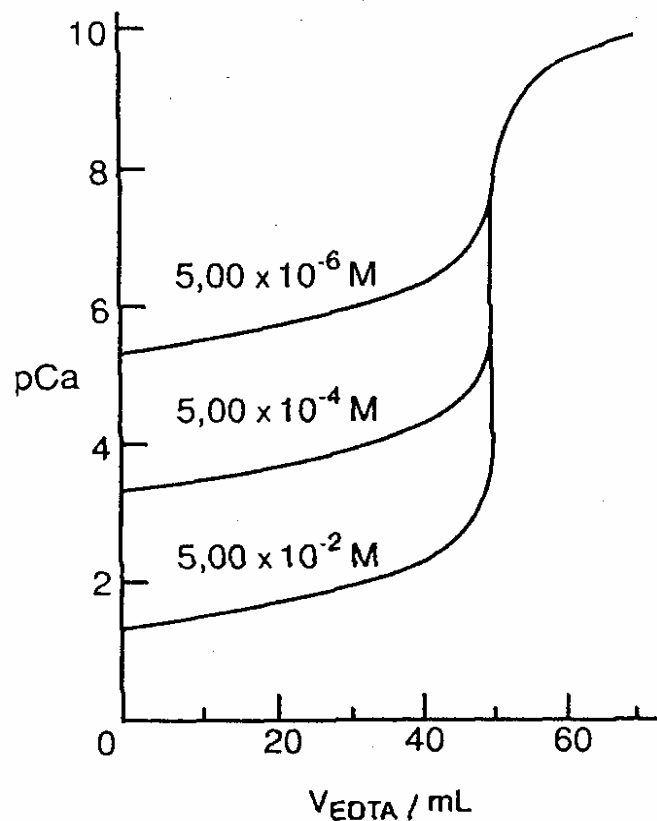
.

■ α. στην περιοχή πριν το ισοδύναμο σημείο, όπου υπάρχει περίσσεια αδέσμευτου μεταλλοϊόντος, M^{n+} .

■ β. στην περιοχή στο ισοδύναμο σημείο, στην οποία το κυριότερο συστατικό είναι το σύμπλοκο MY^{n-4} σε ισορροπία με μικρές ισομοριακές ποσότητες M^{n+} και EDTA.

■ γ. στην περιοχή μετά το ισοδύναμο σημείο, όπου ολόκληρη η ποσότητα του μετάλλου είναι δεσμευμένη υπό μορφή MY^{n-4} , ενώ υπάρχει περίσσεια EDTA καθώς και ελάχιστη ποσότητα M^{n+} σε ισορροπία με MY^{n-4} και EDTA.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΜΟΡΦΗ ΤΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΗΣ



Επίδραση της συγκέντρωσης της ογκομετρούμενης ουσίας στη μορφή της καμπύλης ογκομέτρησης κατά τον συμπλοκομετρικό προσδιορισμό του Ca²⁺ με EDTA.

α. Επίδραση της συγκέντρωσης της ογκομετρούμενης ουσίας

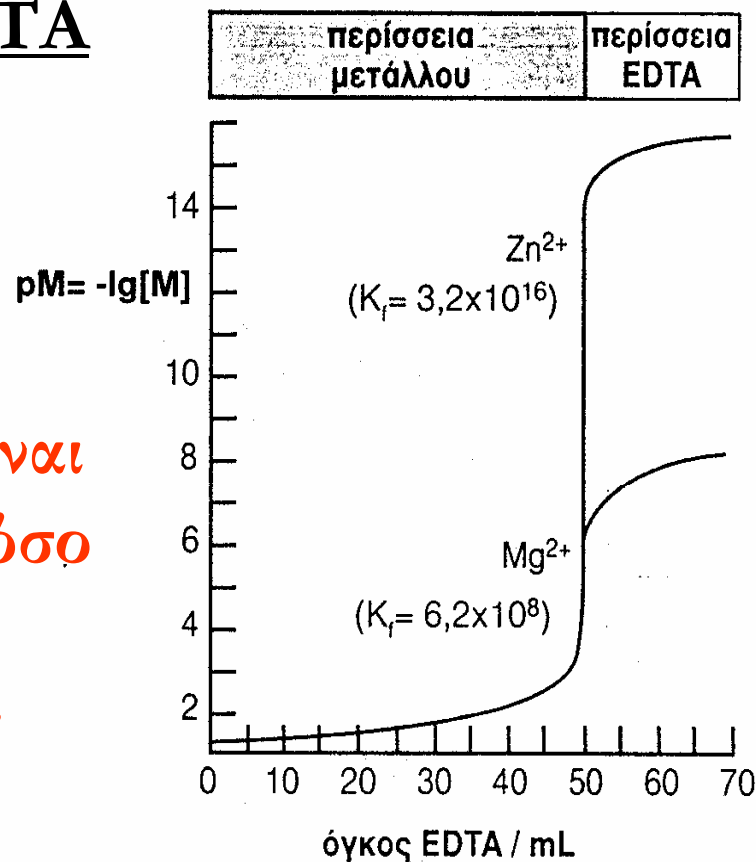
Όσο ελαττώνεται η συγκέντρωση της ογκομετρούμενης ουσίας, τόσο μειώνεται η μεταβολή pM στο ΙΣ, δηλαδή το κατακόρυφο τμήμα της καμπύλης ογκομέτρησης.

(Δυσχεραίνεται η επιλογή κατάλληλου δείκτη και κατά συνέπεια μειώνεται η ακρίβεια της ογκομέτρησης.)

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΜΟΡΦΗ ΤΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΗΣ

β. Επίδραση της τιμής της σταθεράς σχηματισμού K_f του συμπλόκου M-EDTA

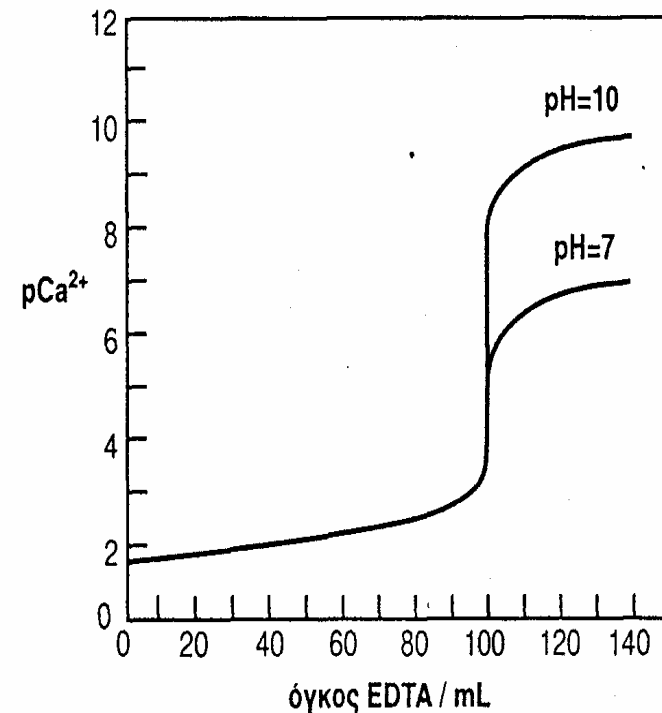
Όσο μεγαλύτερη είναι η σταθερά σχηματισμού τόσο μεγαλύτερο είναι το κατακόρυφο τμήμα της καμπύλης.



Επίδραση της σταθεράς σχηματισμού του συμπλόκου στη μορφή της καμπύλης ογκομέτρησης.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΜΟΡΦΗ ΤΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΗΣ

- γ. Επίδραση της τιμής του pH του ογκομετρούμενου διαλύματος
- Η μορφή της καμπύλης ογκομέτρησης εξαρτάται από την τιμή του pH του διαλύματος. Το τελικό σημείο της ογκομέτρησης είναι περισσότερο σαφές σε υψηλές τιμές pH. Όμως, η τιμή του pH δεν πρέπει να υπερβαίνει ορισμένα όρια, ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός δυσδιάλυτων υδροξειδίων.



Επίδραση του pH στη μορφή της καμπύλης ογκομέτρησης Ca²⁺ 0,100 M με πρότυπο διάλυμα EDTA 0,100 M.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ

Να προσδιοριστούν οι τιμές των pCa μετά την προσθήκη: α. 0 mL, β. 50 mL, γ. 100 mL και δ. 200 mL προτύπου διαλύματος EDTA κατά τον συμπλοκομετρικό προσδιορισμό 100 mL Ca^{2+} 0,100 M με πρότυπο διάλυμα EDTA 0,100 M σε $pH = 10$, για τον οποίο δίνεται ότι $K_f' = 1,8 \cdot 10^{10}$.

1. Πριν την προσθήκη EDTA:
 $pCa = -\log [Ca^{+2}] = -\log 0,1 = 1,00$
2. Περιοχή πριν το ισοδύναμο σημείο (προσθήκη 50ml)
Το pCa καθορίζεται από την συγκέντρωση των ελεύθερων Ca^{+2} . Η συμβατική σταθερά σχηματισμού του συμπλόκου είναι υψηλή και αγνοούμε την ποσότητα των ιόντων που προέρχονται από τη διάσπαση του συμπλόκου



	$\text{Ca}^{+2} + \text{EDTA} \rightarrow \text{CaY}^{4-}$		
Αρχικά mmol	10,0	5,0	
Αντιδρούν	5,0	5,0	
Παράγονται			5,0
Τέλος	5,0		5,0

Συνεπώς έχουμε $[\text{Ca}^{+2}] = 5,0 \text{ mmol} / 150 \text{ ml} = 0,033\text{M}$ και

$$p\text{Ca} = -\log[\text{Ca}^{+2}] = -\log 3,3 \cdot 10^{-2} = 1,48$$

3. Στο ισοδύναμο σημείο (προσθήκη 100 ml)

	Ca ⁺²	+ EDTA	→ CaY ⁴⁻
Αρχικά mmol	10,0	10,0	
Αντιδρούν	10,0	10,0	
Παράγονται			10,0
Τέλος	-	-	10,0

$$[\text{CaY}^{4-}] = 10,00 / 200 = 0,050\text{M}$$

Η ΤΙΜΗ ΤΟΥ $p\text{Ca}^{+2}$ ΚΑΘΟΡΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ ΔΙΑΣΠΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΝΟΜΟΥ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ:



$$x \quad \quad \quad x \quad \quad \quad 0,050 - x \approx 0,050 \quad (K_f = 0,050 / x^2 = 1,8 \cdot 10^{10})$$

4. Μετά το ισοδύναμο σημείο (προσθήκη 150ml EDTA)

	Ca ⁺²	+	EDTA	→	CaY ⁴⁻
Αρχικά mmol	10,0		15,0		
Αντιδρούν	10,0		10,0		
Παράγονται					10,0
Τέλος	-		5,0		10,0

$[CaY^{4-}] = 10,00 / 250 = 0,040M$ και $[EDTA] = 5,0 / 250 = 0,02M$

Η ΤΙΜΗ ΤΟΥ pCa^{+2} ΚΑΘΟΡΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ ΔΙΑΣΠΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΝΟΜΟΥ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ:



$$\psi \quad \psi + 0,02 \approx 0,020 \quad 0,040 - x \approx 0,040 \quad (K_f = 0,040 / \psi 0,02 = 1,8 \cdot 10^{10})$$

Οι μεταλλοχρωμικοί ή μεταλλικοί δείκτες (In) είναι οργανικές ενώσεις, οι οποίες σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα M-In με τα μεταλλοϊόντα, τα οποία έχουν διαφορετικό χρώμα από το χρώμα του ελεύθερου δείκτη, In. Τα σύμπλοκα αυτά σχηματίζονται σε μια χαρακτηριστική περιοχή τιμών pM.

Οι μεταλλικοί δείκτες είναι και πρωτολυτικοί δείκτες, και όταν εξετάζονται οι ισορροπίες τους με μεταλλοϊόντα πρέπει συγχρόνως να εξετάζονται και οι ισορροπίες τους με τα ιόντα H⁺.

Οι χρωματικές αλλαγές είναι αντιληπτές συνήθως σε περιοχές $pM = \log K_{M-In} \pm 1$. Για να χρησιμοποιηθεί μια ένωση ως μεταλλικός δείκτης, πρέπει να έχει τις ακόλουθες ιδιότητες:

Δείκτες συμπλοκομετρίας ή μεταλλοχρωμικοί δείκτες- Χαρακτηριστικά

1. Το χρώμα του συμπλόκου $M-In$ να είναι διαφορετικό από το χρώμα του ελεύθερου δείκτη In , ώστε να μπορεί εύκολα να παρατηρηθεί η χρωματική αλλαγή στο τελικό σημείο της ογκομέτρησης
2. Να παρουσιάζει εξειδίκευση, δηλαδή να αντιδρά μόνο με το ογκομετρούμενο μεταλλοϊόν ή τουλάχιστον να παρουσιάζει ειλεκτικότητα ως προς ορισμένο αριθμό μεταλλοϊόντων
3. Η αντίδραση σχηματισμού του έγχρωμου συμπλόκου $M-In$ να είναι πολύ ευαίσθητη, ώστε η παρουσία ελάχιστης ποσότητας μεταλλοϊόντος να προκαλεί έντονο χρωματισμό του διαλύματος

Δείκτες συμπλοκομετρίας ή μεταλλοχρωμικοί δείκτες-
Χαρακτηριστικά

4. Η σταθερά σχηματισμού του συμπλόκου να έχει σχετικά μεγάλη τιμή, αλλά να είναι σημαντικά μικρότερη από την αντίστοιχη σταθερά σχηματισμού μεταξύ του μεταλλοϊόντος και του τιτλοδότη M-L. Να είναι δηλαδή η ισορροπία:
5. $M-In+HL \rightleftharpoons H-In+M-L$ μετατοπισμένη προς τα δεξιά. Πρακτικά, το σύμπλοκο M-L να είναι 10-100 φορές σταθερότερο από το M-In.
6. Όλες οι αντιδράσεις μεταξύ M και L και μεταξύ M και In να είναι αντιστρεπτές και γρήγορες

Δείκτες συμπλοκομετρίας ή μεταλλοχρωμικοί δείκτες-Χαρακτηριστικά

7. Η περιοχή pM αλλαγής χρώματος του δείκτη να βρίσκεται στο κατακόρυφο τμήμα της καμπύλης ογκομέτρησης
8. Οι παραπάνω όροι θα πρέπει να πληρούνται στην περιοχή pH που γίνεται η ογκομέτρηση, με βάση τη χρησιμοποίηση κατάλληλων ρυθμιστικών διαλυμάτων

ΑΣΚΗΣΗ

- Σε ένα δείγμα σκληρού νερού 0,100 L προσδιορίστηκε η ολική συγκέντρωση σε Ca^{2+} και Mg^{2+} συμπλοκομετρικά. Για τον σκοπό αυτό απαιτήθηκαν 31,5ml προτύπου διαλύματος EDTA 0,0104 M. Ένα δεύτερο δείγμα 0,100L κατεργάστηκε πρώτα με διάλυμα SO_4^{2-} ώστε να καταβυθιστούν τα ιόντα Ca^{2+} υπό μορφή CaSO_4 και στην συνέχεια προσδιορίστηκαν τα Mg^{2+} ογκομετρικά με 18,7ml πρότυπου διαλύματος EDTA 0,0104M. Να προσδιοριστεί η συγκέντρωση Ca^{2+} και Mg^{2+} στο δείγμα νερού εκφρασμένη σε mg/L. (AB, Ca =40 , Mg = 24).