

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ
МОСКОВСКИЙ ФИЗИКО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
(НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

Лабораторная работа
Титрование аминокислот

Хохлов Андрей, Иванова Арина
Группа Б06-302

1 Цели работы

- приобретение практических навыков измерения pH;
- изучение ионного состава растворов аминокислот при различных значениях pH
- определение констант диссоциации аминокислоты

2 Задачи работы

- Провести потенциометрическое титрование 70мл $C_0 = 0.01M$ раствора гистидина щёлочью и кислотой.
- Вывести зависимость pH от V_t и на её основе построить теоретический график титрования трёх-основной кислоты
- Построить экспериментальный график титрования и сравнить с теоретическим
- Построить график разностных производных и с его помощью найти pK_2 и pK_3 , сравнить с теоретическими значениями
- Построить график зависимости удельной электропроводности от объёма добавленного титранта.
- Вычислить $\lambda_{H_3A^{2+}}^0$, $\lambda_{H_2A^+}^0$, $\lambda_{A^-}^0$, $\lambda_{OH^-}^0$

3 Теоритические введение

Основные сведения об электродах и электрохимических цепях. Под *электродом* понимают систему, состоящую из нескольких фаз, на границе которых направленное движение электронов меняется на направленное движение ионов или наоборот. Фаза, граничащая с электродом, чаще является раствором электролита.

Электрохимические цепи могут представлять собой гальванические элементы или электролитические ячейки. При этом на аноде всегда идет окисление, а на катоде – восстановление. В электролизере потенциал анода выше, чем катода, а в гальваническом элементе – наоборот.

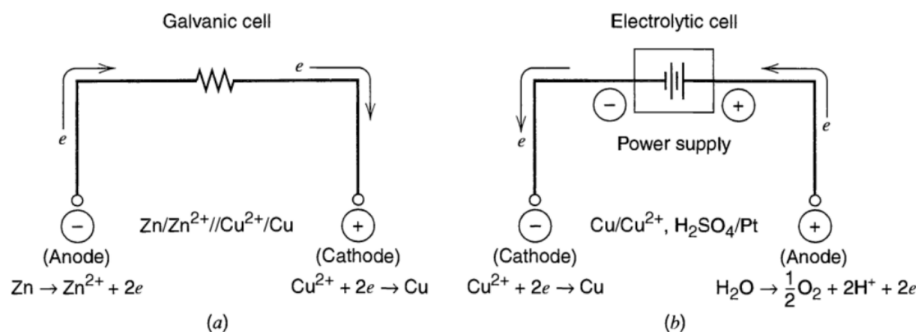


Рис. 1: Два типа электрохимических ячеек: гальваническая и электролитическая

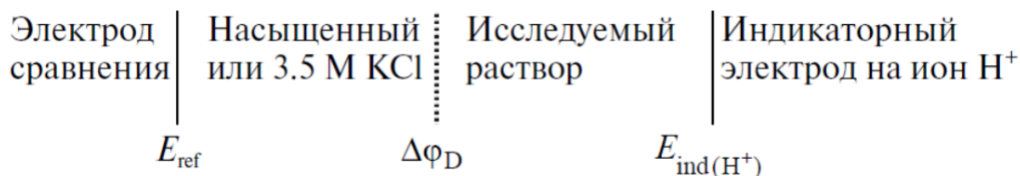
Для измерений pH применяется гальваническая ячейка. В исследуемый раствор погружаются два электрода: *индикаторный*, потенциал которого меняется в зависимости от pH исследуемого раствора, и *электрод сравнения*. Ключевым элементом обоих электродов является хлорсеребряный электрод.

Диффузионный потенциал. При объединении электродов в цепь может получаться так, что между собой контактируют растворы полужеек различного качественного и/или количественного состава. Подвижности ионов и их концентрации в полужеечках в общем случае могут различаться. Более быстрый ион заряжает слой по одну сторону воображаемой границы слоев своим знаком, оставляя по другую сторону слой, заряженный противоположно. Электростатическое притяжение не дает процессу диффузии отдельных ионов развиваться далее. Возникает скачок электрического потенциала, называемого в данном случае диффузионным потенциалом $\Delta\varphi_D$

Диффузионный потенциал жидкостного соединения, где состав электролита остается неизменным, а изменяется только его концентрация от c_1 до c_2 (соответственно, активность от a_1 до a_2) для 1,1-электролита выражается через эквивалентные электропроводности ионов λ_+ , λ_- :

$$\Delta\varphi_D = \frac{RT}{F} \cdot \frac{\lambda_+ - \lambda_-}{\lambda_+ + \lambda_-} \ln \frac{a_2}{a_1} \quad (1)$$

Гальванические ячейки для измерения pH. Для конструирования такой измерительной цепи необходимо обеспечить независимость потенциала электрода от состава исследуемого раствора. Для этого электроды объединяют в гальваническую ячейку вида:



ЭДС представленной ячейки определяется выражением:

$$E_X = E_{ind} - E_{ref} + \Delta\varphi_D = E_{ind}^0 + \frac{RT}{F} \ln a_{H^+}^{(X)} - \left(E_{ref}^0 - \frac{RT}{F} \ln a_{Cl^-}^{(ref)} \right) + \Delta\varphi_D$$

Поскольку $a_{Cl^-}^{(ref)} = const$, а вклад диффузионного потенциала стараются устранить, т.е. $\Delta\varphi_D \approx 0$, то приходим к приближенному выражению для определения водородного потенциала:

$$E_X \approx E^0 - \frac{RT \ln 10}{F} \cdot pH_X \quad (2)$$

Для измерений используется комбинированный электрод. Это электродная сборка, в которой объединены индикаторный и электрод сравнения. В строение комбинированного электрода входят 1 – мембрана, 2 – внутренний вспомогательный электрод с раствором HCl , 3 – раствор KCl , 4 – электролитический ключ для гальванической связи раствора KCl с исследуемым раствором, 5 – электрод сравнения, 6 – стеклянный корпус, 7 – заливочное отверстие электрода сравнения.

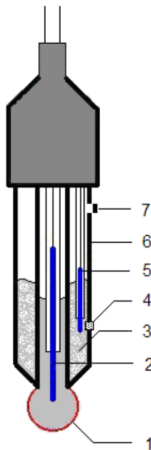


Рис. 2: Комбинированный электрод

pH - метрическое титрование аминокислот. В водном растворе аминокислоты существуют в форме биполярных ионов, которые функционируют либо как кислоты (доноры протонов), либо как основания (акцепторы протонов).

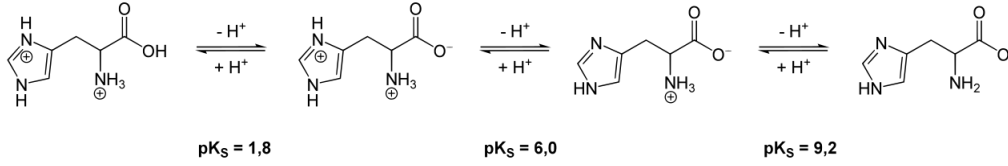
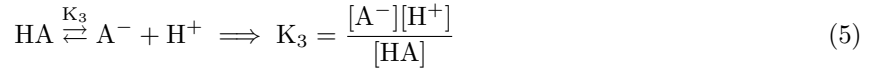
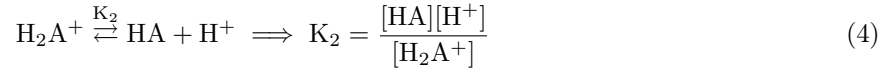
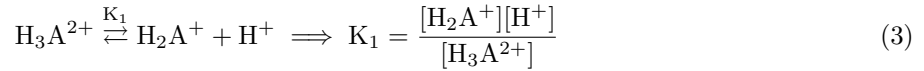


Рис. 3: Формы гистидина при различных значениях pH

Титрование проходит в три стадии, каждая из которых соответствует отщеплению одного протона. Участок кривой, отвечающий каждой из этих стадий, напоминает по форме кривую титрования одноосновной кислоты. Также на графике будут наблюдаться другие важные точки - точки перегиба кривой. Именно в эти моменты заканчивается стадия отщепления первого протона и начинается стадия отщепления второго протона. При этом значении pH гистидин находится преимущественно в форме цвиттер - иона. При значении pH, соответствующему второму перегибу, молекула гистидина электрически нейтральна и не смещается в электрическом поле. Это характеристическое значение pH называется *изоэлектрической точкой*.

Математическое описание процесса титрования Запишем систему химических уравнений, описывающих процессы, происходящие при титровании трёхосновной кислоты:



Также запишем условие электронейтральности раствора:

$$2[\text{H}_3\text{A}^{2+}] + [\text{H}_2\text{A}^+] + [\text{H}^+] + [\text{Na}^+] = [\text{A}^-] + [\text{OH}^-] + [\text{Cl}^-] \quad (8)$$

Пусть C_0 - начальная концентрация кислоты. Тогда материальный баланс по ней будет записан как:

$$C_0 = [\text{H}_3\text{A}^{2+}] + [\text{H}_2\text{A}^+] + [\text{HA}] + [\text{A}^-] \quad (9)$$

Решаем полученную систему уравнений, получаем

$$[\text{A}^-] = \frac{C_0}{\left(1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_3} + \frac{[\text{H}^+]^2}{K_2K_3} + \frac{[\text{H}^+]^3}{K_1K_2K_3}\right)} = \frac{C_0K_1K_2K_3}{K_1K_2K_3 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]^3} \quad (10)$$

Теперь выразим все остальные концентрации:

$$[\text{HA}] = \frac{C_0K_1K_2[\text{H}^+]}{K_1K_2K_3 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]^3} \quad (11)$$

$$[\text{H}_2\text{A}^+] = \frac{C_0K_1[\text{H}^+]^2}{K_1K_2K_3 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]^3} \quad (12)$$

$$[\text{H}_3\text{A}^{2+}] = \frac{C_0[\text{H}^+]^3}{K_1K_2K_3 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]^3} \quad (13)$$

Подставим все выражения в уравнение электронейтральности для получения итоговой формулы для концентрации титранта в растворе:

$$C_0 \frac{2[\text{H}^+]^3 + K_1[\text{H}^+]^2 - K_1K_2K_3}{K_1K_2K_3 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]^3} + [\text{H}^+] + [\text{Na}^+] = \frac{K_w}{[\text{H}^+]} + C_0 \quad (14)$$

$$[\text{Na}^+] = \frac{K_w}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] + C_0 \frac{2K_1K_2K_3 + K_1K_2[\text{H}^+] - [\text{H}^+]^3}{K_1K_2K_3 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]^3} \quad (15)$$

Пусть C_1 - начальная концентрация титранта. Тогда, с учетом разбавления:

$$[\text{Na}^+] = \frac{C_1 V_t}{V_0 + V_t} \Rightarrow V_t = \frac{[\text{Na}^+] V_0}{C_1 - [\text{Na}^+]} \quad (16)$$

Приравнявая эти два выражения, получаем неявную зависимость V_t от $[\text{H}^+]$, которую для построения теоретической кривой мы прологарифмируем.

Аналогичным способом посчитаем концентрации при титровании кислотой: изменяется только уравнение электронейтральности, в соответствии с этим:

$$[\text{Cl}^-] = C_0 \frac{2[\text{H}^+]^3 + K_1[\text{H}^+]^2 - K_1K_2K_3}{K_1K_2K_3 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]^3} + [\text{H}^+] - \frac{K_w}{[\text{H}^+]} \quad (17)$$

Используя приведённые выше уравнения визуализируем теоретическую зависимость pH раствора от числа эквивалентов добавленной щёлочи (Теоретическую кривую титрования) в диапазоне $pH \in [1.7, 12.1]$:

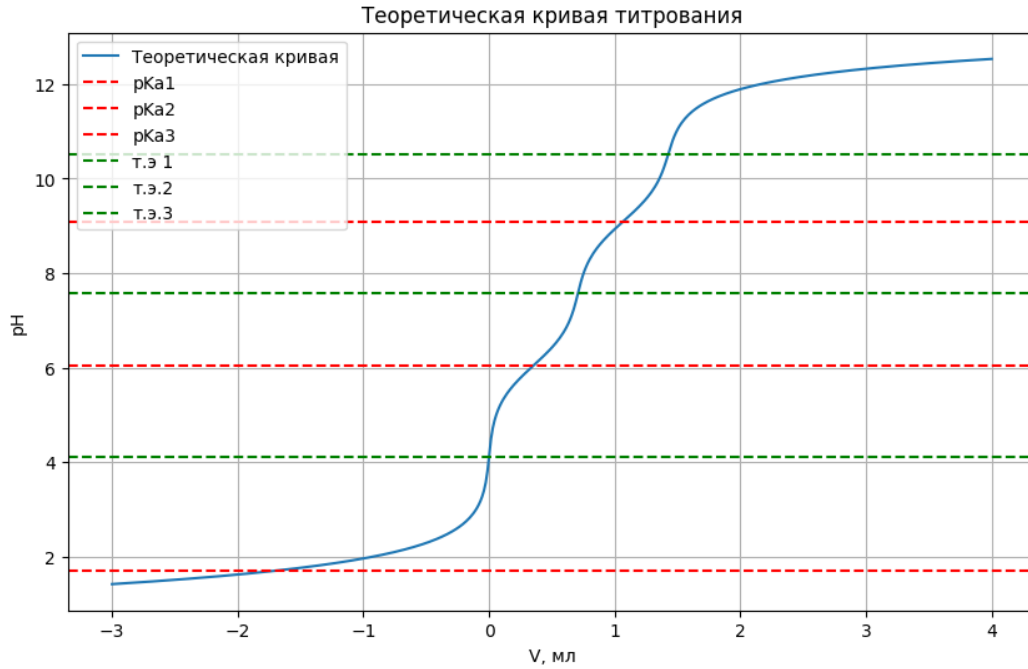


Рис. 4: Теоретическая кривая титрования

На графике также отмечены теоретически полученные значения pH точек перегиба и точек эквивалентности.

Построим график зависимость доли различных форм гистидина, присутствующих в растворе от pH :

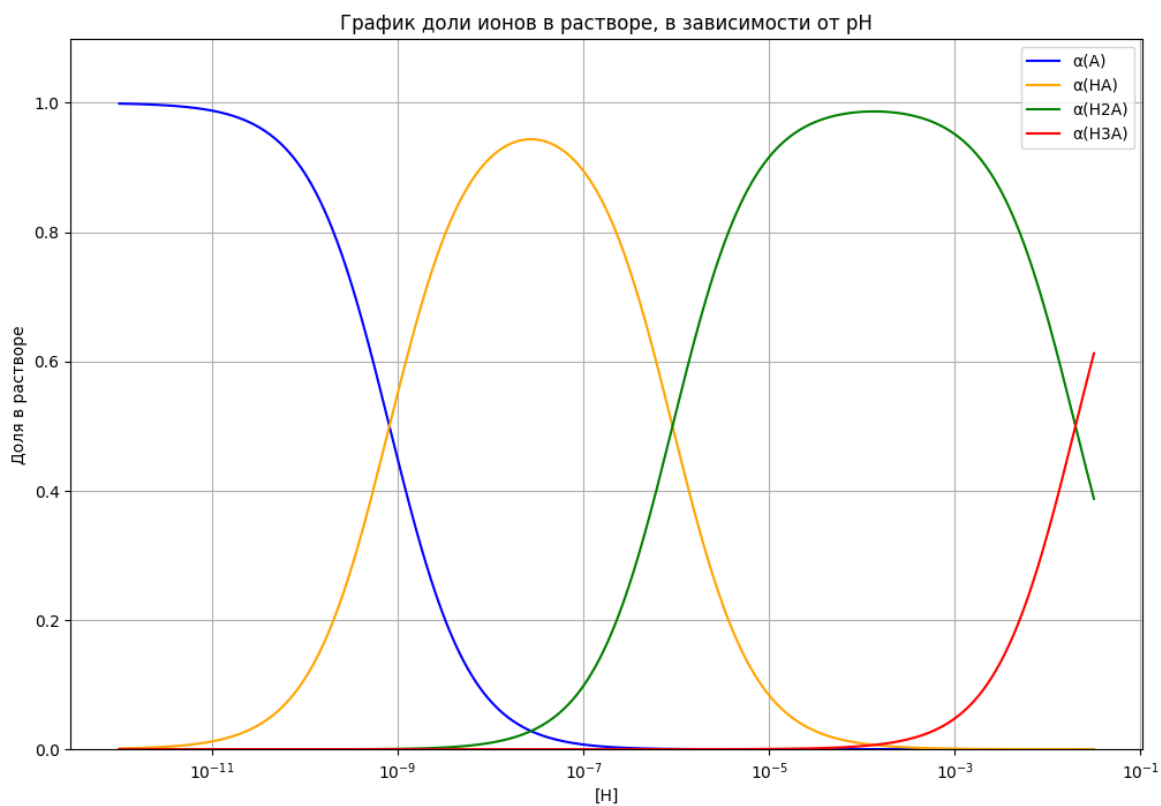


Рис. 5: Зависимость доли различных форм *His* от *pH*

4 Ход работы и обработка результатов.

1. Построим экспериментальный график зависимости pH раствора аминокислоты от объема добавленного титранта. Миллилитры добавленной щелочи будем считать положительными, а кислоты - отрицательными. На этом же графике построим еще один график по теоретическим данным.

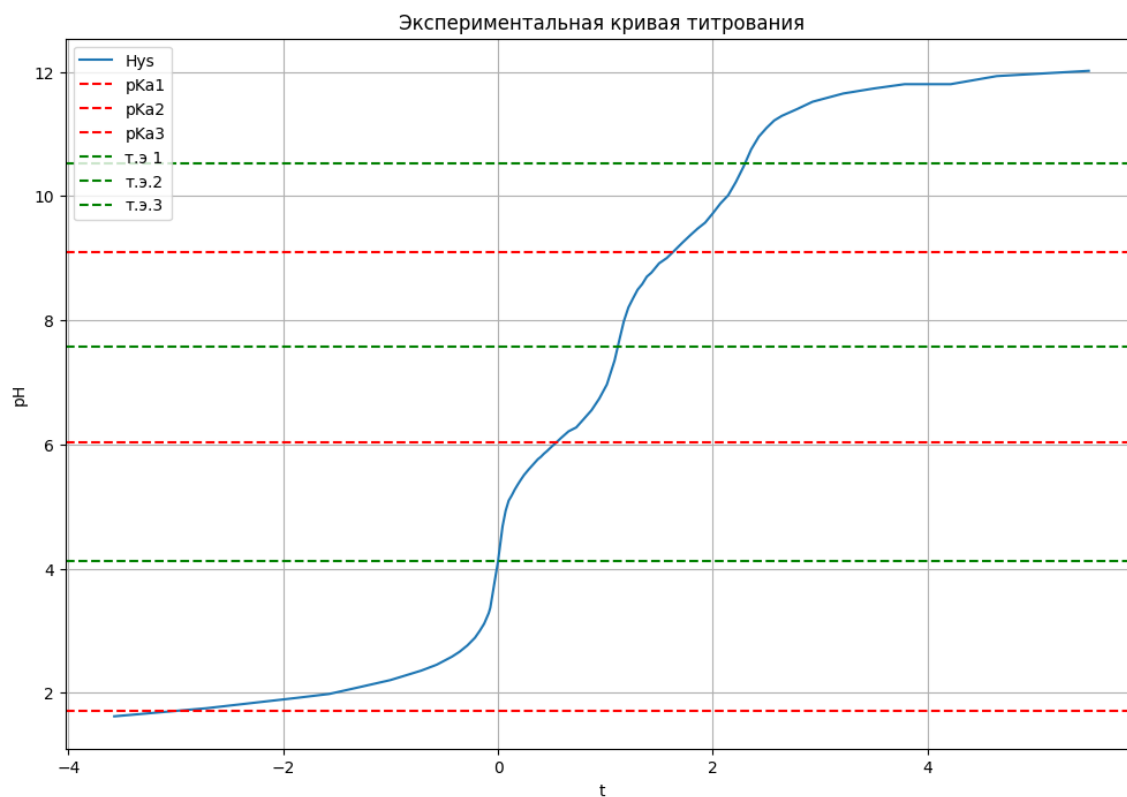


Рис. 6: Экспериментальная кривая титрования

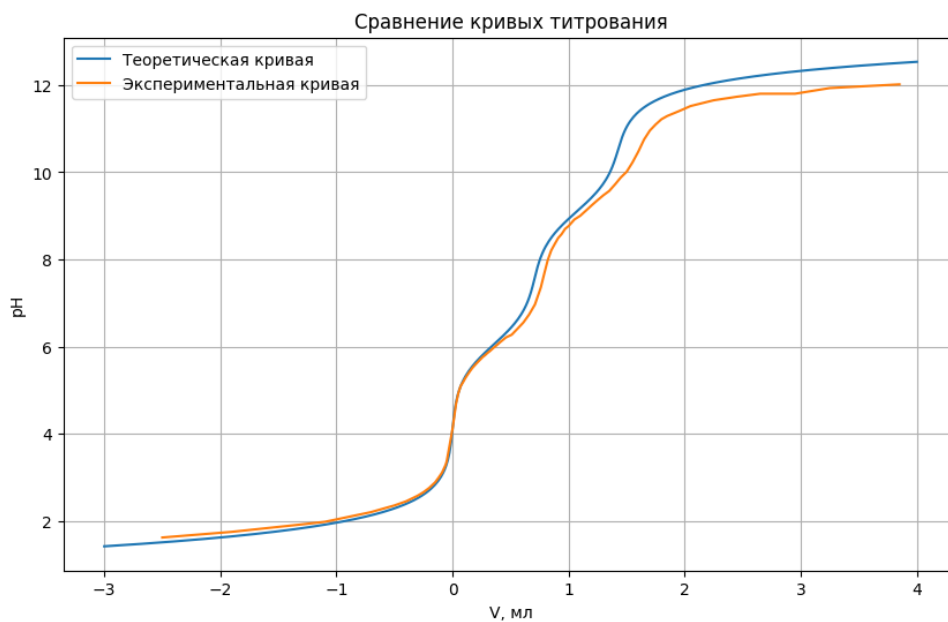


Рис. 7: Сравнение экспериментальной и теоретических кривых титрования

Из сравнения двух графиков видно, что они не сильно отличаются, а в некоторых местах даже совпадают.

- Продолжим исследование экспериментальной кривой титрования. Построим график разностной производной зависимости pH раствора от pH раствора. И сравним полученные по эксперименталь-

ным данным точки с теоретической зависимостью:

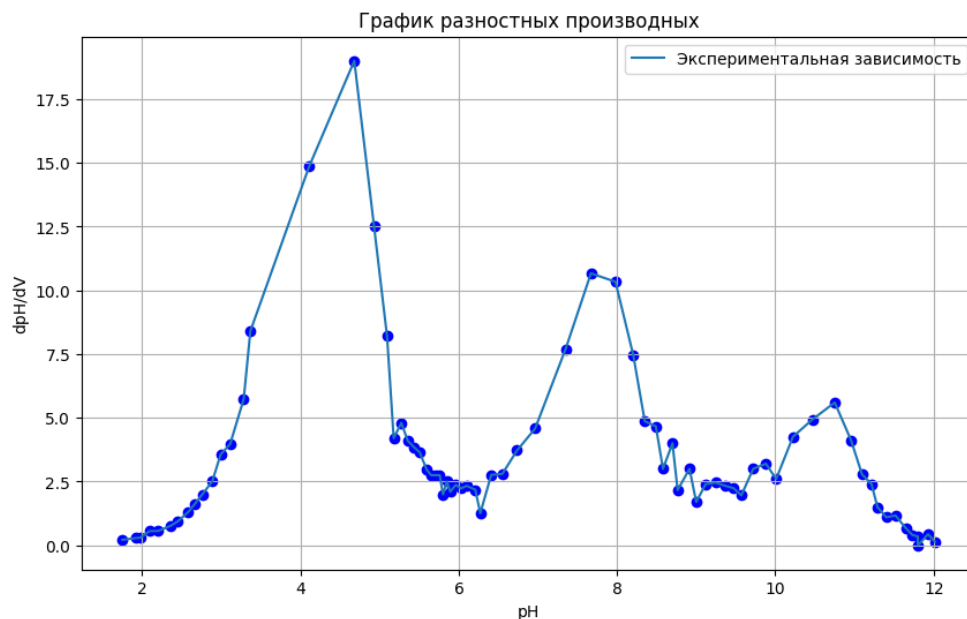


Рис. 8: График зависимости $\frac{dpH}{dV}$ от pH

Из положений локальных минимумов найдем pK_2 и pK_3 . Сравним их с теоритическими значениями

$$pK_2 = 6.03 \quad pK_2^{\text{теор}} = 6,04$$

$$pK_3 = 9.12 \quad pK_3^{\text{теор}} = 9,09$$

Таким образом, рН изоэлектрической точки $pI = 7.575$. Видно, что данные, полученные экспериментально, с достаточной точностью сходятся с теоретическими константами.

3. Построим экспериментальный график зависимости удельной электропроводности от объема добавленного титранта. Аналогично будем считать миллилитры добавленной щелочи положительными, кислоты - отрицательными

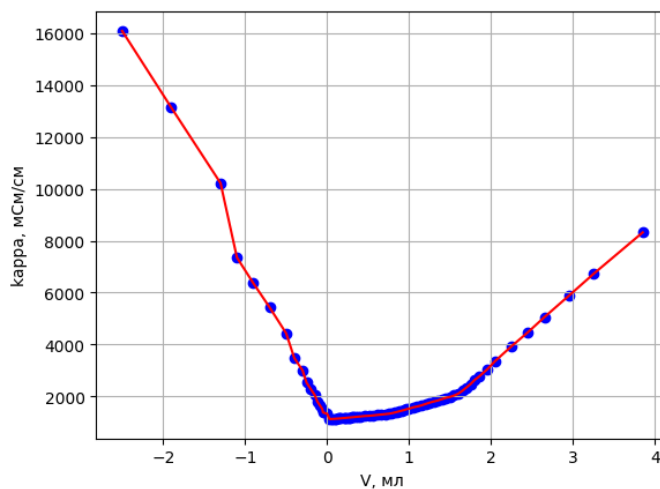


Рис. 9: Зависимость удельной электропроводности κ от $V(\text{NaOH})$

Найдем из экспериментальных данных предельную эквивалентную электропроводность ионов $[OH^-]$. Для этого рассмотрим последний участок кондуктометрической кривой, который можно описать следующим выражением (считаем, что $[H^+] \ll [OH^-]$, ибо на этом участке сильнощелочная среда):

$$\kappa = \lambda_{Na^+}^0 [Na^+] + \lambda_{OH^-}^0 [OH^-] + \lambda_{Cl^-}^0 [Cl^-] + \lambda_{A^-}^0 [A^-]$$

На данном участке кривой можем считать:

$$[A]_0 = [A^-] = [Cl^-]$$

Уравнение electroneutrality:

$$[Na^+] = [A^-] + [OH^-] + [Cl^-] \rightarrow [OH^-] = [Na^+] - 2[A]_0$$

Для расчетов приближенно можем считать, что:

$$[Na^+] = \frac{C_1 V_t}{V_0 + V_t} \approx \frac{C_1 V_t}{V_0}$$

В итоге, получаем зависимость:

$$\kappa(V_t) = (\lambda_{Na^+}^0 + \lambda_{OH^-}^0) \frac{C_1 V_t}{V_0} + (\lambda_{Cl^-}^0 + \lambda_{A^-}^0 - 2\lambda_{OH^-}^0) [A]_0$$

Из этой зависимости следует, что угол наклона прямой равен:

$$k = \frac{C_1}{V_0} (\lambda_{Na^+}^0 + \lambda_{OH^-}^0)$$

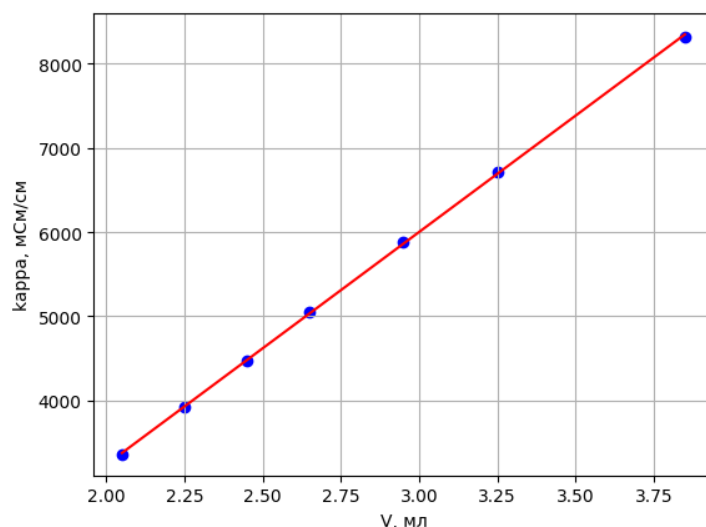


Рис. 10: Линейное приближение

Исходя из измерений, получаем, что $k = 2.761 \frac{\text{мСм}}{\text{см} \cdot \text{мл}}$. Табличное значение $\lambda_{Na^+}^0 = 50,1 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}$. В итоге получаем значение $\lambda_{OH^-}^0 = 143.17 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}$.

Из экспериментальных данных найдем предельные электропроводности $[H_3A^{2+}]$, $[H_2A^+]$, $[A^-]$. Рассмотрим кривую титрования, полученную на практике и определим объем прилитого титранта в точках эквивалентности, т. е. там, где $pH = pK_a$. Найдем проводимость раствора в этих точках, откуда определим удельные электропроводности ионов.

$$V_1 = -1.3 \text{ мл} \quad pH_1 = 1.72 \quad \kappa_1 = 10220 \frac{\text{мкСм}}{\text{см}}$$

$$\begin{aligned}
V_2 &= 0.38_{\text{мл}} & pH_2 &= 6.03 & \kappa_2 &= 1212 \frac{\text{мкСм}}{\text{см}} \\
V_3 &= 1.06_{\text{мл}} & pH_3 &= 9.12 & \kappa_3 &= 1647 \frac{\text{мкСм}}{\text{см}}
\end{aligned}$$

Были выбраны эти точки, так как в $pH = pK_a$ половина начальной концентрации аминокислоты будет равна концентрациям двух форм, а именно:

$$\begin{aligned}
pK_1 : 0,5 \cdot [A]_0 &= [H_3A^{2+}] = [H_2A^+] \\
pK_2 : 0,5 \cdot [A]_0 &= [H_2A^+] = [HA] \\
pK_3 : 0,5 \cdot [A]_0 &= [HA] = [A^-]
\end{aligned}$$

Основываясь на этом, запишем выражения для проводимости раствора для каждой точки:

$$\begin{aligned}
\kappa_1 &= \lambda_{H^+}^0 [H^+] + \lambda_{H_3A^{2+}}^0 [H_3A^{2+}] + \lambda_{H_2A^+}^0 [H_2A^+] + \lambda_{Cl^-}^0 [Cl^-] \\
\kappa_2 &= \lambda_{H^+}^0 [H^+] + \lambda_{H_2A^+}^0 [H_2A^+] + \lambda_{Na^+}^0 [Na^+] + \lambda_{Cl^-}^0 [Cl^-] + \lambda_{OH^-}^0 [OH^-] \\
\kappa_3 &= \lambda_{H^+}^0 [H^+] + \lambda_{A^-}^0 [A^-] + \lambda_{Na^+}^0 [Na^+] + \lambda_{Cl^-}^0 [Cl^-] + \lambda_{OH^-}^0 [OH^-] \\
\kappa_1 &= \lambda_{H^+}^0 [H^+] + 0,5(\lambda_{H_3A^{2+}}^0 + \lambda_{H_2A^+}^0)[A]_0 + \lambda_{Cl^-}^0 [Cl^-] \\
\kappa_2 &= \lambda_{H^+}^0 [H^+] + 0,5\lambda_{H_2A^+}^0 [A]_0 + \lambda_{Na^+}^0 [Na^+] + \lambda_{Cl^-}^0 [Cl^-] + \lambda_{OH^-}^0 [OH^-] \\
\kappa_3 &= \lambda_{H^+}^0 [H^+] + 0,5\lambda_{A^-}^0 [A]_0 + \lambda_{Na^+}^0 [Na^+] + \lambda_{Cl^-}^0 [Cl^-] + \lambda_{OH^-}^0 [OH^-]
\end{aligned}$$

Решаем данную систему, подставляя табличные значения $\lambda_{Na^+}^0 = 50,1 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}$, $\lambda_{Cl^-}^0 = 76,3 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}$ и $\lambda_{H^+}^0 = 349,65 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}$. Получим

$$\begin{aligned}
\lambda_{H_3A^{2+}}^0 &= 331.86 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}} \\
\lambda_{H_2A^+}^0 &= 36.65 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}} \\
\lambda_{A^-}^0 &= 29.67 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}
\end{aligned}$$

5 Выводы

- Хорошее совпадение экспериментальных значений с рассчитанными теоретически на графиках кривых титрования и разностной производной говорят о высоком качестве выполненной работы. Получены значения $pK_2 = 6,03$ и $pK_3 = 9,12$, которые с достаточной точностью сходятся с теоретическими константами.
- Получена зависимость удельной электропроводности раствора от объема прилитого титранта. Из этих экспериментальных данных была получена оценка для предельной эквивалентной электропроводности OH^- . Она составила $\lambda_{OH^-}^0 = 143.17 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}$. Полученное значение, однако, заметно отличается от теоретического $\lambda_{OH^-}^0 = 198.6 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}$. Данное отклонение может быть вызвано неточностями опыта, связанными с калибровкой прибора (мы рассматривали предельный случай, где ошибка больше, чем в середине измерений) и возможно закислением раствора из-за присутствия в воздухе углекислого газа.
- Так же из экспериментальных данных найдены предельные эквивалентные электропроводности ионов, первое значение неточно, т.к было сложно определить экспериментальное значение pK_{a1} , и как следствие - удельную электропроводность. Также имел место быть большой шаг измерений при титровании кислотой, который тоже мешал нахождению pK_{a1} :

$$\begin{aligned}
\lambda_{H_3A^{2+}}^0 &= 331.86 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}} \\
\lambda_{H_2A^+}^0 &= 36.65 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}} \\
\lambda_{A^-}^0 &= 29.67 \frac{\text{См} \cdot \text{см}^2}{\text{моль}}
\end{aligned}$$