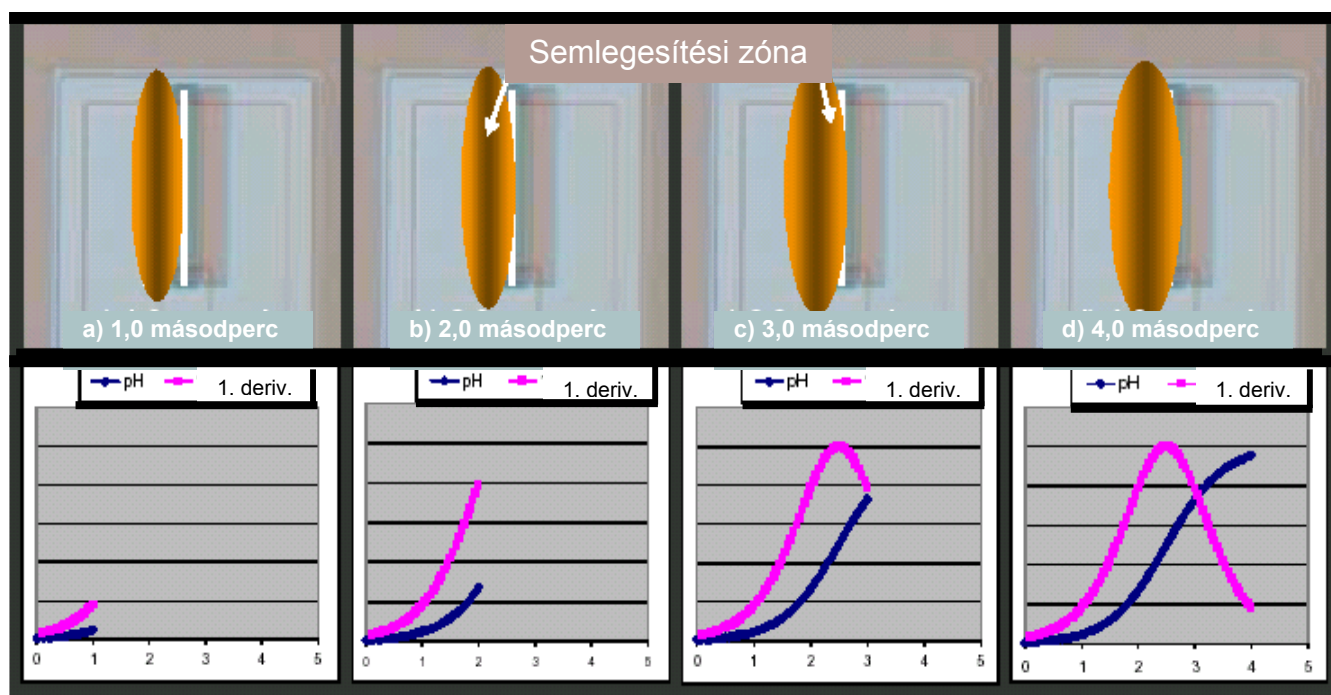


Thermo Orion 925

VILLÁM-titráló



Thermo Orion

Útmutató a **VILLÁM**-titrálásokhoz

TARTALOMJEGYZÉK

Bevezetés

Térfogatos titrálások

Elméleti áttekintés

A térfogatos titrálások típusai

Coulometriás titrálások

1. reakciótípus: bázisok elektrokémiai generálása

2. reakciótípus: savak elektrokémiai generálása

A VILLÁM-titrálás elmélete

A titrálószer generálása

A VILLÁM-titráló mikrocsip

A közömbösítési (neutralizációs) terület ("nano-térfogat")

Roncsolásmentes titrálás

A coulometriás és a VILLÁM-titrálás közötti elérések

A VILLÁM-titrálás gyakorlati alkalmazása

A VILLÁM-titráló berendezés

Mintaelőkészítés

Keverés

Ismételt titrálások egyetlen mintaedényből

Bevezető az illesztés végrehajtásához és a háttérzavarás (mátrix-faktor) kiküszöböléséhez

Illesztés

A háttér-zavarás kiküszöbölésének beállítása

Mérési tartomány és linearitás: a titráló áram erősségének beállítása

VILLÁM-titrálási módszerek

Előreprogramozott mintamódszerek ("template" módszerek)

Előreprogramozott egyedi ("speciális") módszerek

A módszerek letöltése

Nagyteljesítményű sorozattitrálás

A VILLÁM-titrálás jövője

Függelék

Mikor mérjük pH-t, és mikor titráljunk?

Erős és gyenge savak és bázisok

Savasság és pH

Titrálható aciditás és bázicitás (összes savtartalom és bázistartalom): mértékegységek és azok átszámítása

Néhány közismert sav és bázis képlet szerinti ("formula"-) egyenérték-tömege (FW)

Bevezetés

Az analitikai kémiában mindinkább teret hódít a mikroméretben gyártott elektrokémiai érzékelők használata. Az ionszelektív, pH-mérő térvezérlésű tranzisztorok (ISFET-ek) bizonyos előnyökkel rendelkeznek a hagyományos, üvegalapú pH-elektrodokkal szemben, ugyanis kisebbek, nem törékenyek és rövidebb a válaszidejük. A mikroméretekből történő előállítás lehetővé teszi azt is, hogy egy milliméter-nagyságrendű mikrocsipre ("chip"-re) több különböző típusú érzékelő elem kerüljön. A közelmúltban került bele a kereskedelmi forgalomba a 12 mm átmérőjű Pentrode™ érzékelő, amely a pH, a vezetőképesség, a redox-potenciál (ORP) és a hőmérséklet mérésére egyaránt alkalmas¹. Ebben a közleményben az elektrokémiai érzékelésnek – ezen belül a sav/bázis titrálásnak – a mikroméretekből történő előállítás folyamánként köszönhető további kiterjesztéséről számolunk be². Nem csupán arról van szó, hogy ez a technológia néhány másodpercre csökkenti a titrálás végrehajtásához szükséges időt, hanem arról is, hogy egyáltalán nincs szükség titráló oldatra. A laboratóriumok egy csapásra megszabadulhatnak a veszélyes titrálószerek, pl. a nátrium-hidroxid és a sósav alkalmazásától.

A technológia egyedülálló jellegzetességeiből fakadóan (gyorsaság, kényelem és az a tény, hogy a titrálószert generálása elektrokémiai úton történik) ennek a módszernek a *VILLÁM-titrálás* (*FLASH Titration™*) elnevezést adtuk.

Annak érdekében, hogy a *VILLÁM-titrálás* előnyeit kellőképpen megérthessük, röviden át kell tekintenünk a hagyományos térfogat- és coulometriás sav/bázis titrálás elméletét. Azok az olvasóink, akik kellőképpen jártasak ezekben a mérés-technikákban, "A *VILLÁM-titrálás* elmélete" címig átugorhatják a következő részeket, azok viszont, akik további háttér-információkat is kívánnak nyerni, lapozzanak a Függelék *Mikor mérjük pH-t, és mikor titráljunk?* c. fejezetéhez.

Térfogat- titrálások

Az analitikai kémiában igen régóta alkalmazott, klasszikus feladat a különböző oldatok összes sav- vagy bázistartalmának térfogat- titrálással történő meghatározása. Nincs olyan, mégoly kevés laboratóriumi gyakorlattal rendelkező személy, aki ne csöpögtetett volna bürettából nátrium-hidroxid oldatot savat tartalmazó Erlenmeyer-lombikba, kevergetve a folyadékot, és figyelve, hogy mikor jelenik meg a fenolftalein indikátornak a titrálás végpontját jelző halványpiros színe. Igaz ugyan, hogy ma már a laboratóriumok ezrei rendelkeznek olyan modern, számítógép-vezérlésű titráló rendszerekkel, ahol a végpont érzékelését üvegalapú pH-elektrod végzi, és ahol a titrálószerek mennyiségét nagy pontosságú automata büretta méri, de a kézi úton végrehajtott sav-bázis titrálások még mindig a kémiai analízis legelterjedtebb módszerei közé tartoznak.

Mi a hátránya a térfogat- titrálásnak? A térfogat- kézi titrálás munkaigényes, az automata titrálás pedig drága berendezéseket igényel, és mindkét módszerhez erős savak és bázisok használatára van szükség. Nem elég, hogy nagyon gondosan meg kell akadályozni a kicsöppenést és a bőrrel való érintkezést, ezek az anyagok veszélyes hulladéknak minősülnek, megsemmisítésük pedig komoly pénzügyi probléma.

Elméleti áttekintés

Tekintsük át röviden a térfogat- sav-bázis titrálás alapelvét. Ebben a közleményben általában savak vizes oldatának bázisos titrálószerezrel történő titrálását fogjuk tárgyalni. Tesszük ezt nemcsak a rövidegség kedvéért, hanem azért is, mert a savak titrálása a gyakoribb, és mert

¹ Thermo Orion Model 6175 Pentrode™

² Patents Applications Pending (Szabadalmi alkalmazások)

minden, a közleményben tárgyalt elv és szolgáltatás teljesen analóg módon alkalmazható bázisok titrálásához is. És – ismét a rövideget tartva szem előtt – figyelmünket nem annyira a színnel jelző indikátorok, hanem inkább a pH-elektrodok segítségével végrehajtott potenciometriás végpont-érzékelésre összpontosítjuk.

Az 1. ÁBRA – példa gyanánt – a titrálások lényegét szemléltető titrálási görbét mutat be. Az oldat pH-értékét a hozzáadagolt titrálószertérfogatának függvényében ábrázolva nyerjük a titrálási görbét, amely jellegzetesen “S” alakú (úgynevezett “szigmoid” görbe). A bemutatott példában a kezdeti pH-érték a 0.1 mol/l koncentrációjú ecetsav oldat pH-ja: 3.4. Kezdetben a 100 ml oldathoz 1 ml-es adagokban történik a 0.1 mol/l koncentrációjú NaOH oldat adagolása. Az ennek eredményeként bekövetkező pH-változás eleinte egészen csekély, de kb. 5 ml titrálószert bejuttatása után az egységnyi titrálószert beadagolására bekövetkező pH-változás növekedésnek indul. Amikor a beadagolt NaOH anyagmennyisége (móljainak száma) egyenlő a jelenlévő ecetsav anyagmennyiségével, akkor a titrálás eléri az úgynevezett *egyenértékpontot* (“*ekvivalencia*” pontot), jelen esetben ez 10 ml titrálószertérfogatnak felel meg. Ahogyan közeledünk a 10 ml felé, úgy válik a görbe egyre meredekebbé és meredekebbé, és pontosan a 10 ml elérésekor éri el a maximális értéket, majd ettől kezdődően mindinkább ellaposodik. A görbének azt a jellegzetes pontját, amelyhez a maximális meredekség tartozik, a görbe *inflexiós pontjának* nevezik. Akár manuálisan, akár automatikus módszerrel hajtjuk végre a titrálást, akár elavult kézi rajzolással vesszük fel a titrálás egyes pontjait, akár láthatatlan szoftver-algoritmussal elemezzük a görbét, a titrálás célja minden esetben az egyenértékpont meghatározása, vagyis annak megkeresése, hogy a titrálási görbén az inflexió a térfogat-tengely mely pontjához tartozik.

Miért van a titrálási görbének ilyen jellegzetes formája? A közömbösítési reakciók matematikája jól ismert, és jól fel is használható a titrálási görbék elméleti leírására, ám ez meghaladja ennek a közleménynek a kereteit. Intuitív úton viszont mégis nyomon követhetjük, hogy mi történik. Kezdetben ismert koncentrációjú közömbösítetlen sav van jelen az oldatban, ami könnyedén, a pH jelentős változása nélkül felemészti a titrálószert – vagyis az oldat meglehetősen stabil. Ám ahogyan ez a stabilizáló hatás gyengül, a titrálószert hozzáadása egyre nagyobb pH-változást eredményez, egészen addig, amíg a sav elfogy, és ekkor – az egyenértékpontban – drámaian nagy pH-változás figyelhető meg. Vegyük figyelembe, hogy kb. a 9. és a 11. ml titrálószert beadagolás között a pH változása óriási: 5 egység, vagyis több, mint a titrálás teljes hátralévő szakaszában. Ez az oka annak, hogy színváltozással jelző indikátorokat használhatunk. Bármely, a pH 6 és pH 11 értékek között színét megváltoztató indikátor alkalmas az egyenértékpont helyének meghatározására.

A 2. ÁBRA az 1. ÁBRÁN bemutatott titrálási görbe első és második deriváltját szemlélteti. Azt a célt szolgálja, hogy rávilágítson az automata titrálóberendezések szoftvereinek algoritmusában használatos egyenértékpont-meghatározási módszerekre. Az első deriváltat reprezentáló görbén – vagyis a meredekséget (“slope”) a térfogat függvényében ábrázolva – az inflexiós pont helyén egy csúcs jelenik meg, így a görbe ezen jellegzetességének az X-tengelyhez tartozó értéke könnyebben meghatározható. A második deriváltat (vagyis lényegében a meredekség meredekségét) ábrázoló görbén az inflexió helye ismét más módon – ez esetben a görbének az X-tengellyel való metszéspontján – mutatkozik meg.

A térfogatos titrálások típusai

Mielőtt továbblépnénk, érdemes megemlíteni a térfogatos sav-bázis titrálások néhány típusát. Összpontosítsuk a figyelmünket azokra a titrálásokra, amelyeket pontosan az egyenértékpont eléréséig végeznek, vagyis addig a pontig, amelynél a savat vagy a bázist teljes egészében közömbösíti a titrálószert. Ezekben az esetekben a “végpont” éppen az egyenértékpont, vagyis az a titrálószert-térfogat, amelynél éppen létrejön a tökéletes közömbösítés. Ezeket a titrálásokat általában első derivált titrálásoknak nevezzük.

Egyes esetekben, ha a minta egynél több savat vagy bázist tartalmaz – vagy ha többértékű a sav illetve a bázis (ez azt jelenti, hogy egynél több hidrogén- illetve hidroxid csoporttal vesz részt kémiai reakcióban) – akkor egynél több inflexiós pont jelenhet meg a titrálási görbén, jelezve, hogy ezeknek a csoportoknak a sorozatban történő közömbösítéséről van szó. Ezeket a titrálásokat többvégpontú titrálásoknak nevezik, és a végponmeghatározás általában “első derivált” jellegű.

A leggyakoribb sav-bázis titrálások másik típusa a fixvégpontos titrálás. Ebben az esetben nem az egyenértékpont elérésére fordítjuk a figyelmet, hanem ehelyett az a cél, hogy meghatározzuk: mennyi titrálószerre van szükség az oldat pH-értékének egy bizonyos értékre történő beállításához (további részleteket illetően lásd a **Függelék**-et).

Coulometriás titrálások

Mivel a *VILLÁM-titrálás* segítségével végrehajtott mérés technikai gyakorlat során elektrokémiai úton termeljük a titrálószeret, érdemes először említést tenni a coulometriás titrálások klasszikus mérés technikájáról, nemcsak azért, mert ez jelenti az átmenetet a térfogatós titrálásokból a *VILLÁM-titrálások*ba, hanem azért is, mert így tehetjük nyilvánvalóvá a coulometrias titrálás és a *VILLÁM-titrálás* közötti különbséget.

Ha áram halad át egy inert, vizes elektrolit oldaton, pl. inert fémelektrodok között, akkor bekövetkezik a víz elektrolízise. Annál az elektródnál, ahol elektronok lépnek át a fémből az oldatba – a katódnál – a víz a következő reakciónak megfelelően redukálódik:



A másik elektródon, az anódon a következő reakció játszódik le:



Figyelem: Mindkét reakció pusztán az elektrolízis jelenségének formális megjelenítése; a 2. reakció a következő – vagy más – alakban is leírható: $2\text{OH}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{e}^-$. Más szavakkal: teljesen önkényes, hogy ezt a reakciót sav (H^+) termeléseként vagy lúg (OH^-) fogyasztásként értelmezzük-e.

A coulometriás titrálások során az egyik elektród megfelel a térfogatós titrálásokban használt bürettának. Ha a coulometriás, titrálószer-előállító elektród a katód, akkor az 1. reakciónak megfelelően lúg termelődik. Mivel minden egyes elektron egy-egy hidroxid-ion generálását jelenti, az összes töltés coulombokban történő meghatározása (az áram és az idő szorzata = töltés) – a Faraday-törvény értelmében – felhasználható a mólok számának kiszámítására, és megalkotható a pH-t a mólok számának függvényében ábrázoló titrálási görbe is. Ez nagyon hasonlítani fog a térfogatós titrálás során nyert görbéhez, csak az NaOH-milliliterekben vagy mólokban történő beosztás helyett az X-tengelyt pl. coulombokban vagy a generált hidroxid-ionok móljainak számában kell beosztani. Minden, a térfogatós titrálási görbén a végpont meghatározására alkalmas eljárás – pl. az első, vagy a második deriváltat felhasználó elemzés – alkalmazható a coulometriás titrálási görbékhez is.

A coulometriás sav/bázis titrálások lehetőségei korlátozottak, ezekről a korlátokról szót kell ejtenünk, mielőtt a *VILLÁM-titrálás* taglalására rátérnénk. Elsősorban azt vegyük figyelembe,

hogy az elektromos áramnak az oldaton történő áthaladásához két elektródra van szükség. Ha az egyik elektród az 1. reakciónak megfelelően lúgot generál, akkor a másik elektródnak a 2. reakciónak megfelelően ekvivalens mennyiségű savat kell termelnie. Ezért a berendezésnek olyannak kell lennie, hogy a minta oldat elkülönüljön az "ellen"-elektródtól. Általában sóhidat vagy valamilyen membránt szokás alkalmazni az ionos áramvezetést lehetővé tevő, de az elektrolízis nem kívánt termékeinek diffúzióját megakadályozó gát gyanánt. Van egy másik korlátozó tényező is, a mellékreakciók fellépésének lehetősége. Elektrokémiailag oxidálható vagy redukálható anyagok lehetnek jelen a mintában, ezáltal a titrálószer generáló elektródon áthaladó elektronoknak nem mindegyike lép a vízzel – a savat vagy a bázist a kívánt mennyiségben kitermelő – reakcióba: az áramhasznosítás nem tökéletes. Pontos coulometriás titrálásokhoz elengedhetetlen, hogy csaknem pontosan 100 % legyen az áramhasznosítási tényező.

A VILLÁM-titrálás elvi alapjai

A titrálószer generálása

Vizsgáljuk meg egy kicsit közelebbről, hogy mi történik a coulometriás titrálás során: példaként válasszuk ismét egy savnak valamely bázissal történő titrálását. A titrálószer előállító elektród felületén az elektrolízis az 1. reakciónak megfelelően indul. Kezdetben a sav helyi közömbösítése zajlik a mintában. Annak érdekében, hogy belátható időn belül reakcióba lépjen a mintában lévő sav teljes mennyisége, az oldatot folyamatosan – vagy legalábbis minden áramlökés után – keverni kell. A keverés analóg az Erlenmeyer lombikoknak a hagyományos, kézi titrálások során alkalmazott rázogatóásával.

Mi történik, ha nem keverjük az oldatot? Keverés hiányában az elektrolízis termékei csak az elektród felületének közelében, nagyon lassan, diffúzió útján terjednek szét a minta belsejébe, ezért csak egy nagyon kis, lokális térfogatelemben történik meg a sav közömbösítése. A mintaoldat főtömegét érintetlenül hagyja a titrálás – közömbösítésről itt tehát szó sem lehet. Ám a generátor elektródhoz közeli, nagyon kicsi térfogatelemben igen gyorsan – amint ezt hamarosan látni fogjuk, másodpercek alatt – bekövetkezik a sav közömbösítése. A *VILLÁM-titrálás* elvének titka az, hogy képesek legyünk ebben a parányi térfogatelemben detektálni a közömbösítés folyamatát, és az eredményt általánosítani tudjuk a minta egészének sav- vagy bázistartalmára.

A VILLÁM-titráló mikrocship

A 3. ÁBRA a *VILLÁM-titrálás* mikrocshipjének felépítését mutatja be, megjelölve és kiemelve a titrálás kulcsfontosságú elemeit. A két kritikus elem a fehér színnel kiemelt pH-érzékeny ISFET bemenet ("gate"), és közvetlenül mellette a narancs színnel kiemelt platina generáló elektród. Szintén narancs szín jelöli ennek ellenelektrodját is. A teljes savtartalom ("összaciditás") meghatározását célzó titrálás folyamatának vázlatát az 1. reakciónak megfelelő egyenlet mutatja: bázisos titrálószer generálása történik az ISFET közvetlen közelében elhelyezkedő elektródon. A 2. reakciónak megfelelő folyamat a távolabb elhelyezkedő ellenelektrodnál játszódik le (ez utóbbi a négyelektrodos vezetőképesség-mérő cella részeként kettős feladatot lát el – részletesen lásd a VILLÁM-titráló berendezés leírását).

A közömbösítési ("neutralizációs") terület ("nano-térfogat")

A titrálás folyamatát a **4a - 4d ÁBRÁK** mutatják. A 4a ábra az egy másodperccel a titrálás kezdete utáni állapotot mutatja: a közömbösítési zóna kiterjedése még nagyon csekély, és az ISFET még csak egy parányi pH-változást érzékel. Ám – ahogyan ezt a 4b - d ábrákon megfigyelhetjük – két-, három, majd négy másodperc elteltével ez a zóna mindinkább átterjed

az ISFET által érzékelt "nano-térfogat" belsejébe. Minden ábra alatt feltüntettük a titrálás előrehaladását illusztráló titrálási görbét – vagyis a pH vs. idő függvénykapcsolatot reprezentáló pontokat – és a görbe első deriváltját. Látható, hogy három másodperc elteltével, amikor éppen túllépünk a végponton – a titrálás befejeződik. Az első derivált görbéjén a maximum megadja az inflexió helyének időkoordinátáját.

A *VILLÁM-titrálás* folyamatának dinamikáját érzékletesen szemlélteti a **VILLÁM-video clip**.

A *VILLÁM-titrálás* folyamata a minta térfogatának éppenséggel nem több, mint néhány *nanoliter*re terjed ki. Ahogyan a titrálószer termelődik a keveretlen oldatban, úgy terjed szét a generátor elektródtól kiindulva a pH-változás. A szétterjedés sebessége előre meghatározható módon függ a minta teljes savtartalmától ("összaciditásától"), vagyis a bázikus titrálószer közömbösítésére irányuló képességétől, a közömbösítést lehetővé tevő kapacitásától. A mikroméreteken történő előállításnak köszönhető parányi méretek a lehető legszorosabb közelséget biztosítják a generátor elektród és az érzékelő ISFET között. Erre azért van szükség, hogy a titrálást ne befolyásolják áramlások vagy más mechanikai jellegű zavarok, és hogy az egész folyamat másodpercek alatt lejátszódhasson.

Roncsolásmentes titrálás

Meglepő jellegzetessége a *VILLÁM-titrálás*nak, hogy gyakorlatilag egyáltalán nem változtatja meg a minta összetételét, vagyis nem roncsolja azt. Amint a titrálás befejeződik, és megszakad az elektromos áram, az elektrolízis termékei a minta belsejébe diffundálnak, ahol közömbösítődnek. Miután a minta parányi töredék részének titrálása éppen véget ér, néhány másodpercnyi kevertetés és várakozási idő után – amikor a mintaoldat ismét nyugalomba kerül – a titrálás ugyanabban a mintaedényben megismételhető. Sőt, azt a parányi mennyiségű elektrolízis-terméket is ellensúlyozza az ellenelektrodon lejátszódó reakció, ami a többször végrehajtott titrálás eredményeként megjelenik. Az ellenelektrodon lejátszódó reakció pedig nincs hatással a titrálásra – csak az elsődleges generátor elektródról származó, az ISFET szoros közelségében lévő elektrolízis termékek képesek elérni az ISFET-et a titrálás végrehajtásához szükséges néhány másodperc alatt.

A coulometriás és a VILLÁM-titrálás közötti eltérések

Miben különbözik tehát a *VILLÁM-titrálás* a coulometriás titrálástól? Az első és legfontosabb eltérés az, hogy míg a *VILLÁM-titrálás* során az idő (másodpercekben) az a paraméter, amit a titrálási görbe felvételekor az X-tengelyen ábrázolunk, addig a coulometriás titrálások közben ugyanide a töltést (coulombokban) vagy a mólokra átszámított töltést vesszük fel. Meg sem kíséreljük a *VILLÁM-titrálás* során az elektromos töltések mennyiségét kapcsolatba hozni a kémiai anyagmennyiséggel vagy a koncentrációval. Végeredményben tehát a *VILLÁM-titrálás* végrehajtásához nincs szükség 100 %-os áramkihasználásra, tekintettel arra, hogy az áramkihasználás már a kalibrálás során kompenzálható, amint ezt a továbbiakban majd tárgyalni fogjuk. És természetesen a *VILLÁM-titrálás* közben csupán a semlegesítési zónában, tehát nem az egész mintában közömbösítődik a sav- vagy a bázis. Ezenkívül – mivel az ellenelektrodon generált termékek diffúzió útján a titrálás ideje alatt nem juthatnak el az ISFET-hez – nem kell az ionvándorlást megakadályoznunk, nincs szükség sóhídra vagy membránra.

A VILLÁM-titrálás gyakorlati alkalmazása

A VILLÁM-titráló berendezés

Az 5. ÁBRA a VILLÁM-titráló berendezés felépítését mutatja. A két legfontosabb alapegység az érzékelő és a mérőkészülék: ezek olyan egyszerűek, mint egy szokásos pH-mérő. Az érzékelőhöz tartozó állvány és a keverő is része a berendezésnek, ezeket később ismertetjük. Az automata mintaváltó, valamint a számítógéphez vagy nyomtatóhoz csatlakoztatható interfész is látható, de ezek nem feltétlenül szükségesek a VILLÁM-titrálás végrehajtásához. A VILLÁM-titráló berendezés a titrálásokon túlmenően a pH, a vezetőképesség és a hőmérséklet mérésére is alkalmas.

Tekintettel arra, hogy igen sok savat és bázist ismerünk, és mert a VILLÁM-titrálás módszere a különböző típusú minták igen széles választékára terjedhet ki, szükséges a célnak megfelelő egyedi eljárások kidolgozása. Ez természetesen a hagyományos titrálásokra is igaz. Éppen ezért a VILLÁM-titráló berendezést alkalmassá kellett tenni nagyszámú egyedi mérési módszer tárolására. A gyárból kikerülő készülék 30 előreprogramozott módszert tartalmaz, ezek mindegyike “úgy jó, ahogy van” módon használható, de vázként szolgálhat a készülék memóriájában eltárolható új módszerek kidolgozásához is. A Thermo Orion weblapjáról közvetlenül a készülékbe is letölthetők új módszerek. A **VILLÁM-titrálás módszereit** a továbbiakban külön fejezetben részletesen ismertetjük.

A VILLÁM-titráló berendezés külsőleg egészen olyan, mint bármely más elektrokémiai (pH-, ionszelektív, vezetőképességi vagy oldott oxigén) mérőkészülék. A VILLÁM-titrálás módszere is hasonlít annyiban, hogy illesztésből (“kalibrálásból”) és mérésből áll. Néha szükség van a minta előkészítésére is. Az előkészítés általában – az ionszelektív méréseknél megszokottakhoz hasonlóan – ionerősségbeállító adalék (ISA) egyszerű hozzáadását jelenti. Tekintsük át először a mintaelőkészítést, azután pedig lépünk tovább a VILLÁM-titrálás egyéb szempontjainak tárgyalása felé.

Mintaelőkészítés

A VILLÁM-titrálások során alapvető követelmény, hogy a minta vezetőképessége elegendően nagy legyen ahhoz, hogy az áram túl nagy feszültség alkalmazása nélkül is áthaladhasson rajta. A **6. ÁBRA** egy gyenge sav, a 2-hidroxi-2-metil-propionsav (angolul: hydroxy-izobutyric acid, rövidítése: “HIBA”) titrálásához tartozó időtartamokat ábrázolja különböző mennyiségű kálium-nitrát (KNO_3) elektrolit hozzáadása esetén. Ha a “HIBA” oldat koncentrációja 1 mmol/l, akkor a különböző, 0.002 ... 0.03 mol/l koncentrációban jelenlévő kálium-nitrát oldatok csak nagyon kis mértékű változást okoznak. Viszont egészen drámai a titrálás végpontjához tartozó időtartam megváltozása, ha a “HIBA” koncentrációja 10 mmol/l. Ezt a hatást a *migrációs áram*-nak nevezett elektrokémiai jelenség alapján értelmezhetjük. A migrációs áram nem más, mint az ionoknak az elektromos térerősség hatására bekövetkező mozgása. Minél kisebb az ionerősség, annál nagyobb feszültség szükséges az áram létrehozásához. Visszatérve a **3.** és a **4a - 4d ÁBRÁK**hoz: elképzelhetjük, hogy az elektromos tér az ISFET-től az ellenelektrod felé távolodva megzavarja a közömbösítési zónát, és ezáltal megnöveli a végpont eléréséhez szükséges időt, ha az ionerősség kicsi. Kisebb “HIBA”-koncentráció esetén viszont ez a hatás közelítőleg sem olyan jelentős, mivel a végponthoz tartozó idő rövid, viszont az elektromos térerősség éppen az idővel növekedik együtt.

Annak érdekében, hogy a VILLÁM-titrálás előre kidolgozható, reprodukálható módszerként működjék, a közömbösítési zóna szétterjedését a diffúzió kell, hogy irányítsa, és az elektromos térnek nem szabad befolyásolnia. A **6. ÁBRA** értelmében nyilvánvaló, hogy kb. 0.03 mol/l vagy ennél nagyobb kálium-nitrát koncentráció kiküszöböli a migrációs áram hatását. A 0.03 mol/l

koncentrációjú kálium-nitrát oldat fajlagos vezetőképessége kb. 4 mS/cm. Ezért az ennél kisebb vezetőképességű mintákat ionerősség-beállító adalékanyaggal (ISA) kell kezelni a *VILLÁM-titrálás* végrehajtása előtt. Az a meggyőződésünk, hogy a kálium-nitrát megfelel ennek a célnak, és azt ajánljuk, hogy a kis vezetőképességű minták minden 100 milliliteréhez 10 milliliter 1 mol/l koncentrációjú kálium-nitrát adalékot adjunk. Közbevetőleg megjegyezzük, hogy a *VILLÁM-titráló* érzékelője alkalmas a vezetőképesség (és a pH) mérésére, eszerint nagyon egyszerűen kideríthetjük, hogy szükség van-e az ionerősség beállító oldat hozzáadására.

Keverés

Maga a *VILLÁM-titrálás* folyamata nem igényel keverést. Éppen ellenkezően: arra van szükség, hogy a minta eközben teljesen nyugalomban legyen. A coulometriás és a térfogatós titrálások viszont megkövetelik a keverést, mivel a sav (vagy a bázis) teljes mennyiségét közömbösíteni kell. A *VILLÁM-titrálás* során az aktuálisan megtitrált *nano-térfogatnak* a diffúzió hatására kell növekednie, minden zavaró tényező (pl. a fentemlített elektromos tér) hatásától mentesen. Ugyanígy ki kell küszöbölni minden egyéb zavaró jelenséget is, így pl. a *konvekciót*, amit mechanikai eszközöknek a folyadék mozgására gyakorolt hatása idézhet elő, és el kell kerülni a hőmérsékleti, sűrűség- vagy koncentrációbeli egyenetlenség (gradiens) jelenlétét is. Mindezek ellenére a *VILLÁM-titráló* mégis tartalmaz keverőt, amelyet maga a mérőkészülék vezérel.

Amikor ugyanis az érzékelőt az egyik oldatból áthelyezzük a másikba, és közben még minden bizonnyal desztillált vizes mosást is alkalmazunk, fellép az *átszennyeződés* ("carryover") jelensége. Amikor ez az érzékelő először érintkezik az új oldattal, a felületére tapadva még ott található az előző minta- vagy mosóoldat cseppjei. Mivel a *VILLÁM-titrálás* a mikrocsip felületéhez közeli nanotérfogatban játszódik le, az áthozott szennyezést el kell távolítani, és a helyét egyenesen összetételű mintaoldattal kell kitölteni. Egészen egyszerűen ki kell várni azt az időt, – egy percet, vagy akár többet is – amíg a szennyeződés diffúzió útján szétterjedhet az oldatban. A mindössze két vagy három másodpercet igénylő titrálás mellett ez az időtartam örökkévalóságnak tűnhet. A keverés a megfelelő reprodukálási képesség eléréséhez is fontos. A titrálás közben mikroméretű buborékok képződhetnek és tapadhatnak meg a generátor elektród felületén, sőt, ezek idővel még növekedhetnek is, így aztán szignifikánsan megváltoztathatják a felület jellegét és a diffúziós körülményeket, vagyis meghamisíthatják a titrálás eredményeit. Viszont a mikrocsip felületének közelében már rövid, mindössze néhány másodpercnyi keverés is teljesen homogenizálja az oldatot, és visszaállítja az eredeti titrálási körülményeket, hatásosan eltávolítja a mikrobuborékokat. A keverő ezután (automatikusan) leáll, az oldat nyugalomba kerül. A folyamat egy 30 ml oldatot tartalmazó 50 ml-es titrálóedényben kb. 15 másodpercet vesz igénybe. Kisebb edényekhez és térfogatokhoz kevesebb időre van szükség. A mechanikai jellegű zavarok csökkentése érdekében a titráló elektródnak mozdulatlanul az állványhoz rögzítve kell maradnia.

Ismételt titrálások egyetlen mintaedényből

Egy, a fentebb vázolt készülékkel végrehajtott tipikus *VILLÁM-titrálás* kb. 30 másodpercet vesz igénybe: 10 másodperc keverés, 15 másodperc pihentetés, 5 másodperc titrálás. Ahogyan azt már említettük, a *VILLÁM-titrálás* nem roncsolja a mintát. Ellentétben a volumetriás vagy a coulometriás titrálásokkal, ahol a sav (vagy a bázis) eltűnik a mintából (semlegesítődik), a *VILLÁM-titrálás* befejeztével a minta pontosan ugyanolyan, mint kezdetben. Mindez igen hasznos tulajdonsággal ruházta fel a folyamatot: a titrálást egyugyanazon mintaedényben többször meg lehet ismételni. De miért is akarná bárki megismételni a titrálást?

Az esetek többségében a felhasználó valószínűleg ki szeretné használni a titrálás 30 másodperces időtartamában rejlő előnyt, és azonnal a soronkövetkező mintával szeretne foglalkozni. Mégis, tekintettel a titrálás roncsolásmentes jellegére, lehetőség nyílik a titrálás azonnali megismétlésére a közömbösítési zóna keveréssel történő szétosztásával és az ezt

követő nyugalmi idő eltelte után. Jóllehet ez nem teljesen egyenértékű egy valódi második titrálás lefuttatásával (amelynek során a minta előkészítéséből és a hígításból adódó hibák is felbukkanhatnak), a titrálás megismétlése mégis javítja a mérés megbízhatóságát. A megbízhatóság a mérések számának (n) négyzetgyökével (\sqrt{n}) arányos. A *VILLÁM-titrálás*ok tipikus megbízhatósága kisebb 1%-nál. Ha egy 1% megbízhatóságú titrálást háromszor megismételünk ($n = 4$), akkor elvárhatjuk a 0.5%-os megbízhatóságot. Más szavakkal: azon az áron, hogy az egyetlen minta mérésére fordított 30 másodpercnyi idő helyett megengedünk 2 percet, a megbízhatóságot a kétszeresére növelhetjük. Ahogyan azt a továbbiakban még tárgyaljuk, a *VILLÁM-titráló* berendezéshez automata mintaváltó kapcsolható. Az automatikusan, kezelői beavatkozás nélkül lezajló titrálások elenyészővé teszik a hosszabb mintakezelési időből adódó hátrányt.

Bevezető az illesztés végrehajtásához és a háttérzavarás (mátrix-faktor) kiküszöböléséhez

A *VILLÁM-titráló* illesztési műveletei két szakaszra választhatók szét. Az elsőben az érzékelő illesztését hajtjuk végre, éppúgy, mint a pH-mérések előtt. A második az úgynevezett háttértényező-kiküszöbölés. Ez a művelet minden alkalmazás során más és más. A háttértényező kiküszöbölését egyfajta illesztési módszernek kell tekintenünk. Ezt a két folyamatot gyakran csatoljuk össze egyetlen eljárássá, de az egyszerű illesztést és a háttértényező-kiküszöbölést két külön fejezetben tárgyaljuk.

Illesztés

A *VILLÁM-titráló* illesztése lényegében két vagy több, savat (vagy bázist) ismert mennyiségben tartalmazó oldattal történő titrálás lefuttatásából áll, amelyeknek befejeztével a készülék saját maga meghatározza az illesztési válaszfüggvény ("kalibrációs egyenes") meredekségét és tengelymetszetét. A legegyszerűbb esetekben a minta elemzése előtt mindössze az érzékelő illesztését kell elvégezni. Vizsgáljunk meg egy ilyen nagyon egyszerű esetet: egy ismert minőségű gyenge savat tartalmazó oldat teljes savtartalmának ("összaciditásának") meghatározását.

A **7. ÁBRA** egy gyenge sav, a 2-hidroxi-2-metil-propionsav ("hydroxyisobutiric acid" : "HIBA") *VILLÁM-titrálási* görbét és azok első deriváltjait mutatja három, különböző koncentrációjú oldat használata esetén. A **8. ÁBRÁN** a végpont eléréséhez szükséges időt ("end-point time": "EP") ábrázoltuk a koncentráció függvényében. Nyilvánvaló linearitás figyelhető meg a 2 ... 20 mmol/l "HIBA"-koncentrációtartományon belül 20 mikroamper áram alkalmazása esetén (az áramerősség megválasztását a *Mérési tartomány és linearitás: a titráló áram erősségének beállítása* c. fejezetben tárgyaljuk) A **8. ÁBRA** görbéinek paramétereit – a készülék által kiszámított meredekség és tengelymetszet formájában – a *VILLÁM-titráló* készülék memóriája rögzíti. Az illesztés befejeztével minta gyanánt ismeretlen koncentrációjú "HIBA" oldatokkal futtatjuk le a titrálást: a készülék kiszámítja, kijelzi és az interfészen keresztül számítógéphez vagy nyomtatóhoz továbbítja a mérés eredményét. Ebben a nagyon egyszerű esetben az érzékelő illesztésén kívül más előkészítő műveletre nem volt szükség, mivel a minta és a standard oldatok háttér-összetétele azonos volt.

A háttér-zavarás kiküszöbölésének beállítása

Az összetett minták elemzése némileg (de nem nagyon) körülményesebb a fentebb vázolt "HIBA"-oldat teljes savtartalmának meghatározásánál. Annak érdekében, hogy megértsük ennek az okát, kissé mélyebbre hatóan vizsgáljuk meg, hogy mit határoz meg a végponthoz tartozó idő a *VILLÁM-titrálás* során.

A coulometriás titrálásról szóló fejezetben már beszéltünk az áramkihasználás és a mellékreakciók fogalmaköréről. Mi történik a *VILLÁM-titrálás* során, ha a mellékreakciók eredményeként az áramkihasználás inkább 90, mint 100%? A fentebb vázolt esetben ez nem

jelenthet problémát. Ha minden "HIBA" oldatban 90% az áramkihasználás, és ha az illesztést ugyancsak "HIBA"-oldatokkal hajtjuk végre, akkor az illesztés már figyelembe veszi a kisebb áramkihasználást. Viszont, ha nem ismerjük a minta anyagára vonatkozóan az áramkihasználási tényező nagyságát, akkor hogyan tudjuk kompenzálni? Vessünk egy pillantást egy másik, a bonyolult összetételű mintákban felmerülő problémára, mielőtt megkísérelnénk a válaszadást.

A *VILLÁM-titrálás* a diffúzió által irányított folyamat. A generátor elektródtól kiinduló semlegesítési zóna terjedési sebessége a kifelé diffundáló elektrolízis-termékeknek, valamint a mintában jelenlévő, a semlegesítési zóna belseje felé diffundáló savaknak vagy bázisoknak diffúziós együtthatójától függ. Éppen ezért a különböző savak vagy bázisok azonos koncentrációjú oldataikhoz valamelyest különböző végpont-elérési idők tartozhatnak: felléphet a mintában a háttérzavarás ("matrix effect") jelensége. Például, mivel a viszkozitás hatással van a diffúzió sebességére, a viszkózus minták a kevésbé viszkózusakétól eltérő eredményeket szolgáltathatnak, még akkor is, ha azok összes sav- (vagy bázis-) tartalma azonos. A hőmérséklet is befolyásolhatja a diffúziósebességet, ám ennek a *VILLÁM-titrálásra* gyakorolt hatása nem túl számottevő. Ennek ellenére az a helyes, ha az ionszelektív méréseknél megszokottakhoz hasonlóan az illesztést és a mérést megközelítőleg azonos hőmérsékleten végezzük.

Az összes fentemlített tényező (áramkihasználás, a diffúziós együttható különbözősége, a minta viszkozitása) hatását figyelembe veszi a háttér-zavarás kiküszöbölésére irányuló eljárás, a *háttértényező beállítása*. A háttértényező beállítása nem más, mint egy nagyon egyszerű illesztési lépés, amely minden egyes alkalmazás esetén éppen a szóbanforgó alkalmazásra jellemzően más és más. Végrehajtásához csupán egyetlen, a vizsgálandó termékből vett olyan mintára van szükség, amelynek ismerjük az összes sav- vagy bázistartalmát. Általában ez egy térfogatos titrálással már megtitrált és a felhasználó által "jó"-nak minősített, teljes sav- vagy bázistartalmával felcímkézett minta szokott lenni. A 8. ÁBRÁN a háttérzavarás kiküszöbölését beállító tényező grafikus megjelenítését, mint az illesztési egyenes eltolódását ("offset") láthatjuk – az egyenes lefelé vagy felfelé irányuló elmozdulásaként, amely a *VILLÁM-titrálás* eredményeit a szóbanforgó mintára vonatkozóan összhangba hozza a térfogatos titrálások eredményeivel.

A háttértényező beállítása első pillantásra kényelmetlennek tűnhet, de a gyakorlatban ez nagyon egyszerű és gyorsan célravezető eljárás. A *VILLÁM-titrálás* módszerét majdan elsajátító analitikusok nagy többsége jelenleg folyamatosan végez hagyományos titrálásokat abból a célból, hogy egy termék állagát vagy egy eljárás megfelelőségét biztosítsa. A *VILLÁM-titrálás* során a felhasználónak – a legrosszabb esetben – végre kell hajtania egyetlen illesztést (pl. "HIBA" oldatokkal) az illesztési egyenes meredekségének és körülbelüli tengelymetszetének megállapítása céljából. Ezt követően – a szóbanforgó standard felhasználói módszernek megfelelően – a háttértényező beállítására hivatott, ismert sav- vagy bázistartalmú oldat segítségével le kell futtatni a titrálást. A továbbiakban ezt az oldatot ellenőrző- vagy egy pontos illesztő oldat gyanánt rutinszerűen alkalmazhatjuk.

Az illesztés és a háttértényező beállítása gyakran összeolvad egy egységes eljárássá, erre vonatkozóan bemutatunk egy megfelelő példát: Tételezzük fel, hogy valamely felhasználó üdítőital készítésére használandó szirup vízzel történő keverését szabályozza azáltal, hogy meghatározza a termék összes savtartalmát. Ahelyett, hogy három ismert standard oldattal (pl. "HIBA"-oldatokkal) illesztené a *VILLÁM-titráló* rendszert, majd pedig beállítaná a háttértényezőt egy térfogatos titrálásnak már alávetett üdítőital-mintával, a felhasználó a következőképpen jár el: Megfelelő eljárással hígított szirup-mintákat készít: egyet a szükséges vízmennyiség 50 %-ával, egy másikat 100%, egy harmadikat pedig 200% víz felhasználásával; majd a készítményeket rendre az "50", "100" és "200" címkékkel látja el, ezt követően pedig ezeket a számértékeket beírva három pontos illesztést hajt végre. A készülék ezután a szükséges mennyiség százalékában jelzi ki az ismeretlen mintákra vonatkozó eredményeket. A "95" és a "100" számértékek között az eredmények megfelelőek.

A 8. ÁBRÁN egy gyenge sav, a 2-hidroxi-2-metil-propionsav ("hidroxy-isobutyric acid" = "HIBA") illesztési függvényét ábrázoltuk. Erre a függvényre teljesen önkényesen, pusztán a könnyebb érthetőség céljából esett a választásunk. A függvény egy bizonyos sav behatárolt koncentrációtartományára vonatkozóan reprezentálja a *VILLÁM-titráló* rendszer viselkedését. Feltételeztük, hogy a *VILLÁM-titrálás* során a végpont eléréséhez szükséges időt némiképpen befolyásolja a mintában jelenlévő sav vagy bázis minősége. Nyilvánvaló, hogy ez az idő a titrálószert generálásának sebességétől is függ. A sebesség változtatásának vezérlését viszont lehetővé teszi a titrálószert elektrokémiai generálásának jólismert egyszerűsége és könnyed változtathatósága. A térfogatot titrálások során valamely analitikai módszer megváltoztatása megköveteli egy új titráló folyadék elkészítését és faktorozását. A *VILLÁM-titrálás* során viszont ezt a változtatást elektrokémiai úton végre lehet hajtani – egy egyszerű kezelői beavatkozással beállítható az új áramerősség. Amint azt az alábbiakban látni fogjuk, a titrálószert elektrokémiai úton történő előállításának ez az a leglényegesebb sajátossága, ami megkülönbözteti a térfogatot titrálásoktól.

A *VILLÁM-titrálás* során háromféle lehetőség kínálkozik a titráló áram vezérlésére. Változtathatjuk az áram irányát (vagyis a polaritást), nagyobbra vagy kisebbre állíthatjuk be az áramerősség nagyságát, és dönthetünk arról is, hogy az áramerősség állandó legyen-e, vagy fokozatosan változzék. Az áram polaritásának és erősségének megválasztása magától értetődő, az állandó vagy a fokozatosan változó áram melletti döntés már bonyolultabb.

A titráló áram polaritása nyilvánvalóan csak attól függhet, hogy savat vagy bázist kell-e titrálnunk. Savak titrálásához az 1. reakciónak megfelelően bázist generáló katódos áramot kell választanunk, lúgok titrálásához pedig a 2. reakciónak megfelelő anódos áram alkalmas.

A titráló áram nagysága az analizálandó minta sav- vagy bázis (várható) koncentrációtartományától függ. A leginkább értékelhető eredmények akkor adódnak, ha a végpont eléréséhez 0,5 s és 10 s közötti időtartam szükséges. 0,5 s-nál rövidebb időtartamok a pontosságra vannak kedvezőtlen hatással, míg a 10 s-nál hosszabb végponti időtartamok már számottevően függenek a hőmérséklettől. Annak érdekében, hogy a célszerű 0,5 – 10s végponti időtartamon belül széles koncentráció-tartományt felölelhessen, a *VILLÁM-titráló* rendszer felkínálja a felhasználó számára a 3; 20 és 100 μA állandó áramerősség értékek, valamint a 4, 8 vagy 12 $\mu\text{A/s}$ áramváltozási sebességek közötti választás lehetőségét.

Mikor válasszuk az állandó áramerősséget, és mikor a fokozatosan változót? A *VILLÁM-titrálást* a diffúzió vezérel, és a diffúzió nem szükségszerűen lineáris folyamat. A diffúziós folyamatokat leíró matematikai összefüggések meglehetősen bonyolultak, de kiválóan alkalmasak a *VILLÁM-titráláshoz* hasonló egyszerű rendszerek viselkedésének előrejelzésére. A diffúzió elméletével is alátámasztott gyakorlatból az adódik, hogy a végponthoz tartozó idő a koncentráció négyzetével arányosan változik. Ezzel szöges ellentétben viszont a 8. ÁBRÁN azt látjuk, hogy a HIBA-oldat illesztési függvénye szinte tökéletesen lineáris. Hogyan lehetséges ez? Úgy, hogy a HIBA nem más, mint egy gyenge sav (részletesen lásd a Függelékben), disszociációját a következő egyenlet írja le:



A folyamat egyensúlyi állandója:

1. egyenlet
$$K_a = \frac{[H^+] \cdot [IBA^-]}{[HIBA]}$$

Tudjuk, hogy tiszta HIBA oldatokban $[H^+] = [IBA^-]$, ezért $[IBA^-]$ helyére $[H^+]$ -t helyettesíthetünk:

2. egyenlet
$$[H^+]^2 = K_a \cdot [HIBA]$$

Rendezve az egyenletet azt kapjuk, hogy

3. egyenlet:
$$[H^+] = \sqrt{K_a \cdot [HIBA]}$$

Ezek szerint látható, hogy gyenge savak esetében a hidrogénion-koncentráció a sav összkoncentrációjának négyzetgyökével arányos. A HIBA oldat illesztési függvényének a **8. ÁBRÁN** bemutatott linearitása tehát egy szerencsés kompenzáció eredménye: a végponthoz tartozó idő a sav koncentrációjának a négyzetével változik, de az ISFET által érzékelt hidrogénion-koncentráció a savkoncentráció négyzetgyökével arányos.

A kompenzáció tehát annak a következménye, hogy a HIBA gyenge sav. Mi a helyzet az erős savakkal? A **9a. ÁBRA** egy erős savnak, a sósavnak (HCl) az illesztési függvényét mutatja. A meredekségnek a koncentráció függvényében történő növekedése jellegzetesen mutatja a végponti idő és a koncentráció közötti négyzetes összefüggést.

A lineáristól való eltérés az illesztés szempontjából önmagában is kényelmetlen, de a görbe meredekségének a változása az érzékenységet és a mérési tartományt is hátrányosan befolyásolja. A *VILLÁM-titráló* rendszer viszont – azáltal, hogy az erős savat vagy bázist tartalmazó minták esetében az állandó erősségű titráló áram helyett egyenletesen növekedő áramerősséget alkalmaz – kiküszöböli ezt a nehézséget. Elméletileg ugyan az idő négyzetgyökével arányosan növekedő áramerősség alkalmazása eredményez tökéletes kompenzálást, de tapasztalataink szerint az egyszerű, lineáris áramerősség-növekedés mind a mérési tartományra, mind a függvény linearitására vonatkozóan teljesen kielégítő eredményre vezet. A **9a. ÁBRA** az előzőével azonos HCl koncentráció-tartományban mutatja a függvény alkulását, de zérustól induló, 4 μ A/s sebességgel növekedő áramerősség alkalmazása esetén. Láthatjuk, hogy szép, lineáris illesztési függvényt kapunk.

Összegezve: a *VILLÁM-titráló* rendszerben az, hogy milyen áramerősséget kell alkalmaznunk, három tényezőtől függ: attól, hogy savat elemzünk-e, vagy bázist, attól, hogy milyen koncentrációjú az oldat, és attól, hogy erős vagy gyenge savról/bázisról van-e szó. Ezek után már elegendő háttérismerettel rendelkezünk ahhoz, hogy figyelmünket a valódi minták elemzésére alkalmas méréstechnikai módszerek felé fordítsuk.

VILLÁM-titrálási módszerek

Annak érdekében, hogy a *VILLÁM-titrálás* a lehető legkényelmesebb legyen, vagyis hogy ne okozzon gondot az “állandó” vagy az “állandóan változó” áramerősségre vonatkozó döntési kényszer, a *VILLÁM-titráló* készülék 30 egyedi módszert gyárilag előre beprogramozva tartalmaz. Ezeknek a módszereknek az alapját 12 különböző, *méréstechnikák*-nak elnevezett áramerősség-beállítás képezi, a méréstechnikák mindegyike savak vagy bázisok egy-egy csoportjának bizonyos koncentráció-tartományon (pl. 2 ... 20 mmol/l) belüli, kényelmesen végrehajtható meghatározását teszi lehetővé. Az erre irányuló tájékoztatást a Méréstechnikák felsorolása c. rész tartalmazza. Minden mérési módszer egy bizonyos méréstechnikából, a

kevertetés jellegéből és a titrálás időtartamából (másodpercekben) tevődik össze. Az 1 ... 12 sorszámú általános módszerek mintaként vagy vázként használhatók, átdolgozásuk révén további, egyedi felhasználói módszerek kialakítására nyílik lehetőség. A 13 ... 30 sorszámú módszerek kidolgozott, célirányos alkalmazásokat tartalmaznak.

Előreprogramozott minta-módszerek

A tizenkét előreprogramozott minta-módszer felsorolását és az azokban foglalt egyedi paramétereket az **I. TÁBLÁZAT** tartalmazza. A felhasználónak először azt kell megfontolnia, hogy melyik minta-módszer illeszkedik leginkább a mintája által meghatározott követelményekhez. (Az erős és gyenge savakkal és bázisokkal kapcsolatos fogalmak értelmezését lásd a **Függelék**-ben.) A készülék beállítási ("setup") menüjében bármely (vagy akár az összes) paraméter megváltoztatható. A megváltoztatott paramétert tartalmazó módszert új sorszámmal ellátva elmenthetjük. Eszerint tehát a különböző minták elemzésére kidolgozott egyedi mérési módszerek saját sorszámmal ellátva eltárolhatók, és szükség szerint bármikor előhívhatók.

Előreprogramozott egyedi ("speciális") módszerek

A 12 előreprogramozott minta-módszer kiegészítéseként a készülék 18 előreprogramozott, az élelmiszeripar és az üdítőital-gyártás területén alkalmazható speciális felhasználói módszert tartalmaz, ezeket a módszereket a **2. TÁBLÁZAT** sorolja fel. A táblázatból egy dolog azonnal nyilvánvalóvá válik: a minták túlnyomó többsége gyenge sav!

Minden módszerhez hozzátartoznak az illesztés jellemző paraméterei és a háttértényező. Amennyiben a felhasználó nem módosítja a módszer előreprogramozott és alapértelmezésként felkínált működési paramétereit, hanem azokat változatlanul hagyva hajtja végre az illesztést vagy a háttértényező beállítását, a készülék akkor is megköveteli egy új módszer-szám megadását. Ez biztosítja, hogy az előreprogramozott módszerek mindenképpen érintetlenül maradjanak meg.

A módszerek letöltése

A egyedi módszerek kifejlesztése mellett a felhasználónak arra is megvan a lehetősége, hogy a **VILLÁM-titrálás** web-oldaláról a Thermo Orion felhasználói laboratóriuma, vagy más felhasználók által kidolgozott új módszert közvetlenül a saját készülékébe letöltsön.

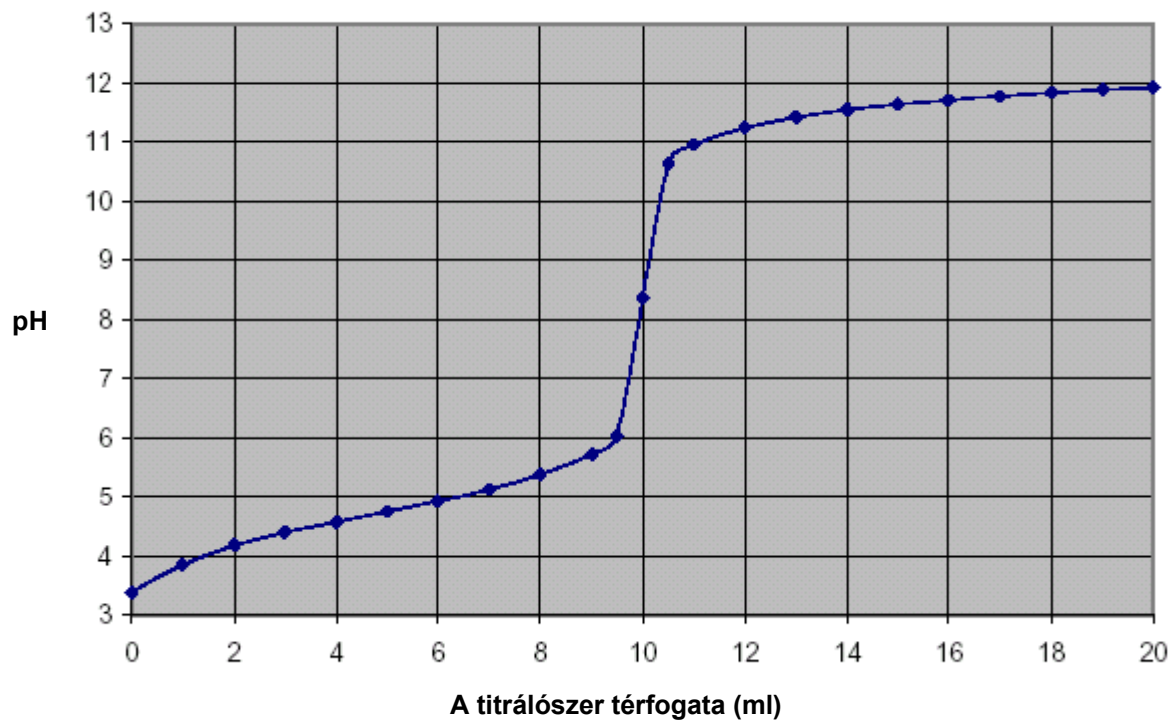
Nagyteljesítményű sorozattitrálás

Mivel a **VILLÁM-titrálás** összehasonlíthatatlanul gyorsabb a hagyományos titrálásoknál, a felhasználók sokkal több mintát elemezhetnek, mint korábban bármikor. A **VILLÁM-titráló**hoz intelligens XY mintaváltó csatlakoztatható, lehetővé téve a kezelői beavatkozást nem igénylő mintakezelést. Figyelembe véve azt az időt, ami az érzékelő és a keverő egyik mintából a másikba történő mozgatásához szükséges, a berendezés kevesebb, mint egy óra alatt több, mint 60 minta elemzését teszi lehetővé.

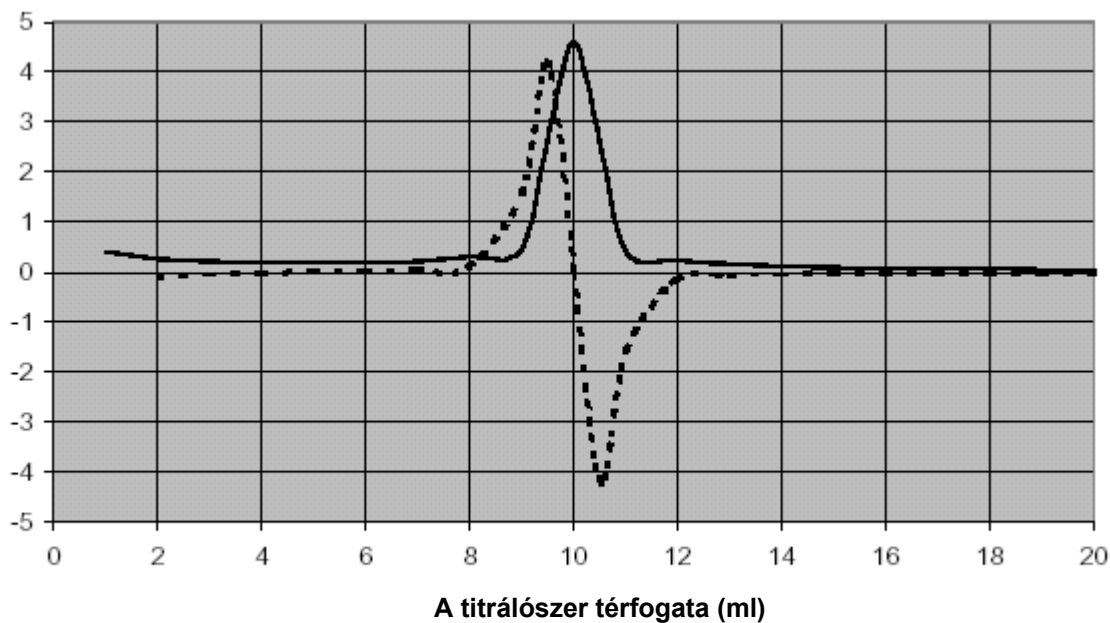
A *VILLÁM*-titrálás jövője

Az ebben a közleményben ismertetett *VILLÁM*-titráló készülék csupán a legelső változatok egyike, csupán felvázolja a mérés technikában rejlő lehetőségeket. A jelenlegi rendszer alkalmazási területe a minták összes sav- (vagy bázis-) tartalmának egyenértékponthoz (az első derivált meghatározásán alapuló) titrálására korlátozódik. A jövőben előtérbe kerülnek a többszörös egyenértékponthoz és a rögzített végponthoz ("fixvégponthoz") redox, argentometriás és konduktometriás *VILLÁM*-titrálások is. A felhasználási lehetőségek túlmutatnak a laboratóriumok falain. A titráló folyadék szükségtelensége a *VILLÁM*-titrálásokat ideálissá teszi a folyamatok működés közbeni ("on-line") és helyi ("on-site") ellenőrzésére. Az átfolyós rendszerű vagy a különleges mintakezelést igénylő berendezések esetén is gyorsabbá tehető a titrálás. A vállalkozó szellemű felhasználók rá fognak jönni arra, hogy a minta egyetlen cseppje, vagy egy gél felszíne is megtitrálható. Gyors, roncsolásmentes titrálások válnak lehetővé parányi felületeken. Egyre inkább nyilvánvaló, hogy az érzékelő elemek mikroméretekben történő gyártásának és a titrálószert elektrokémiai úton történő előállításának az összekapcsolása új, soha nem látott távlatokat nyit a titrálások történetében.

1. ÁBRA 100 ml 0,01 mol/l koncentrációjú ecetsav (HAc) titrálása 0.1 mol/l koncentrációjú nátrium-hidroxiddal (NaOH)

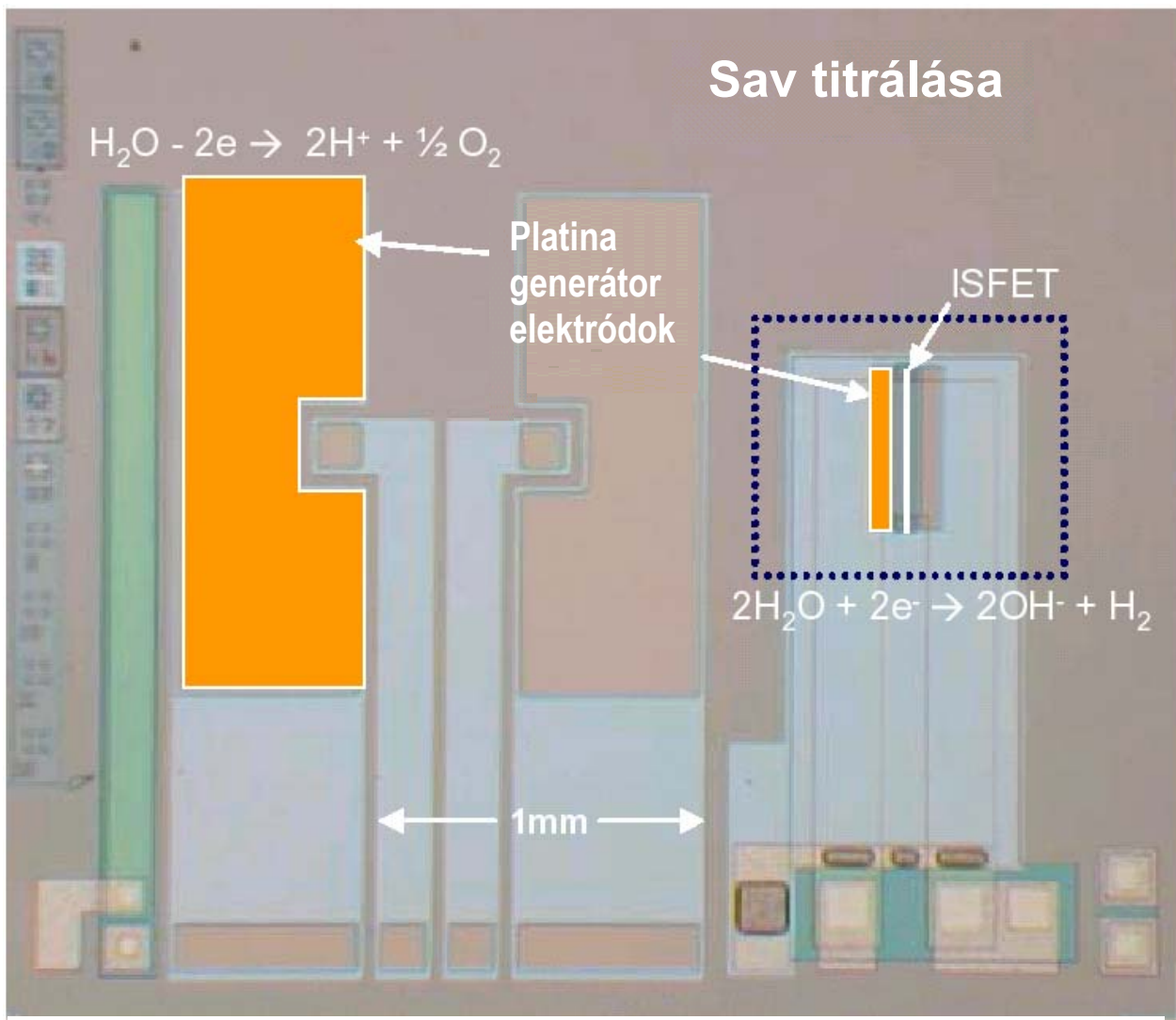


2. ÁBRA A titrálási görbe első és második deriváltja



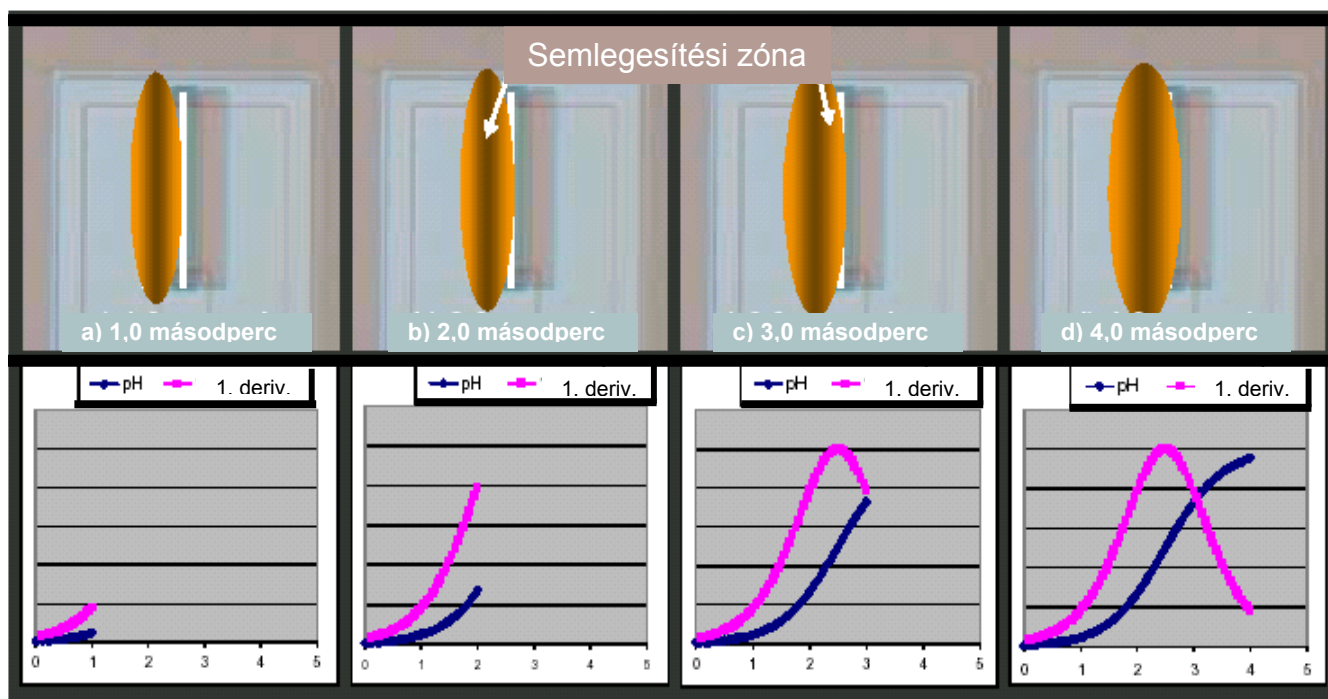
—— első derivált - - - - - második derivált

3. ÁBRA A *VILLÁM*-titráló mikrocship vázlatos felépítése



A szaggatott keret a mikrocshipnek a **4a – 4d** **ÁBRÁK**on bemutatott részletét ábrázolja

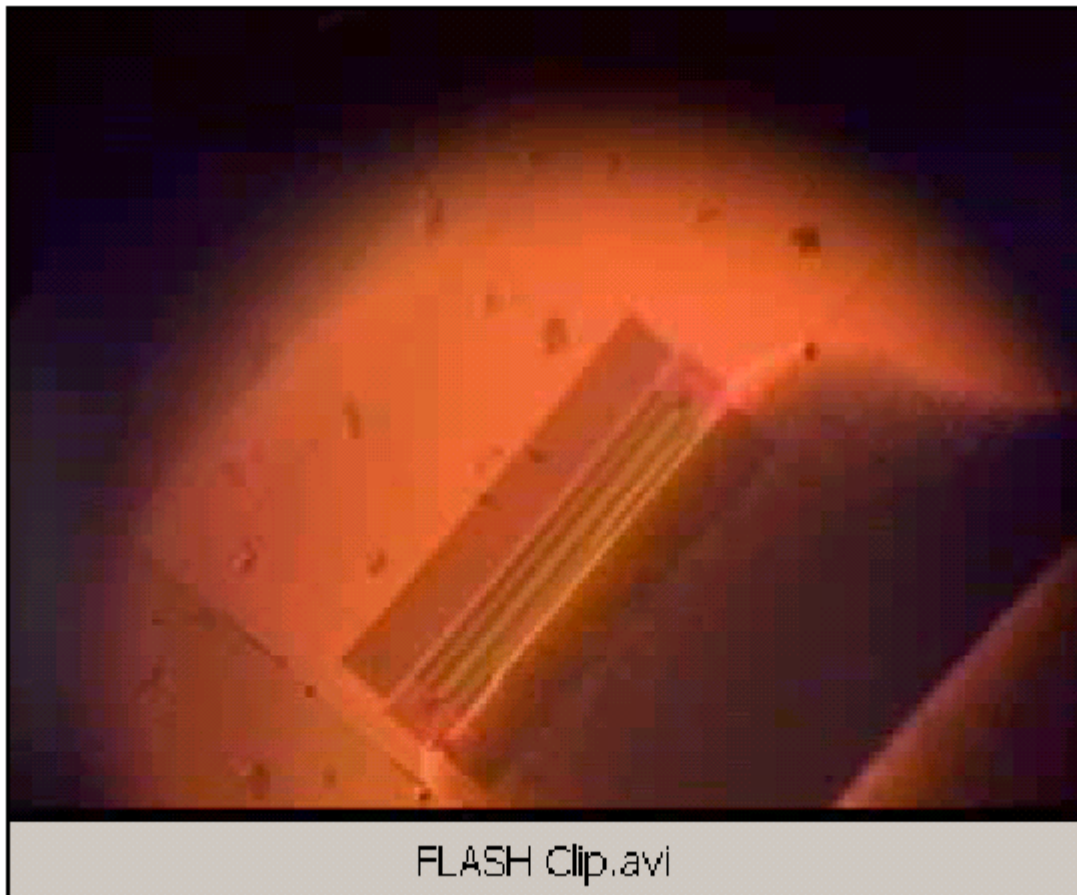
4. ÁBRA A *VILLÁM*-titrálás folyamatának dinamikai ábrázolása



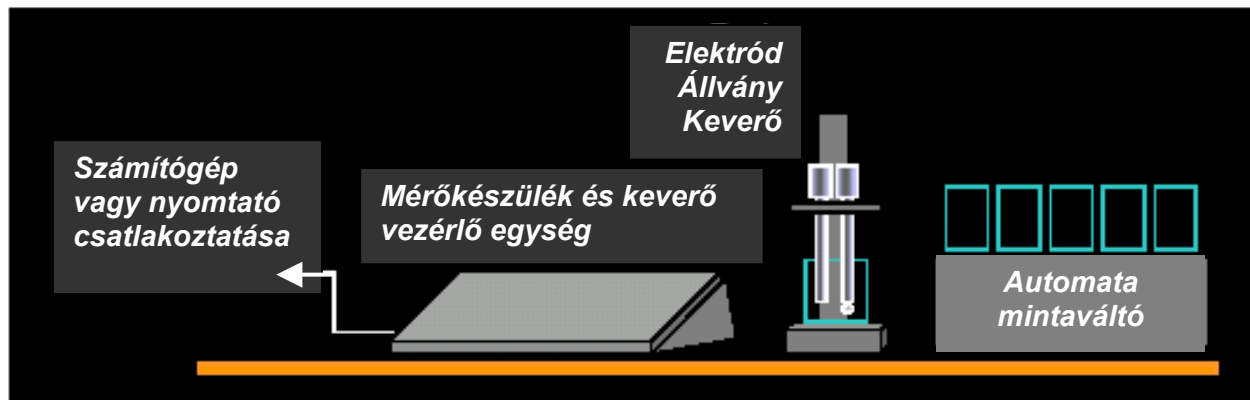
A felső négy keretben a mikrocipnek a **3. ÁBRÁN** bekeretezve bemutatott részlete látható. A titrálás előrehaladtával a diffúziós folyamat kiterjeszti a "semlegesítési zónát" az ISFET érzékelőt tartalmazó térfogatelemre. A pH-t az idő függvényében ábrázoló görbén az inflexiós ponthoz tartozó időtartam arányos a mintában lévő összes sav koncentrációjával ("titrálható aciditásával").

VILLÁM-Video

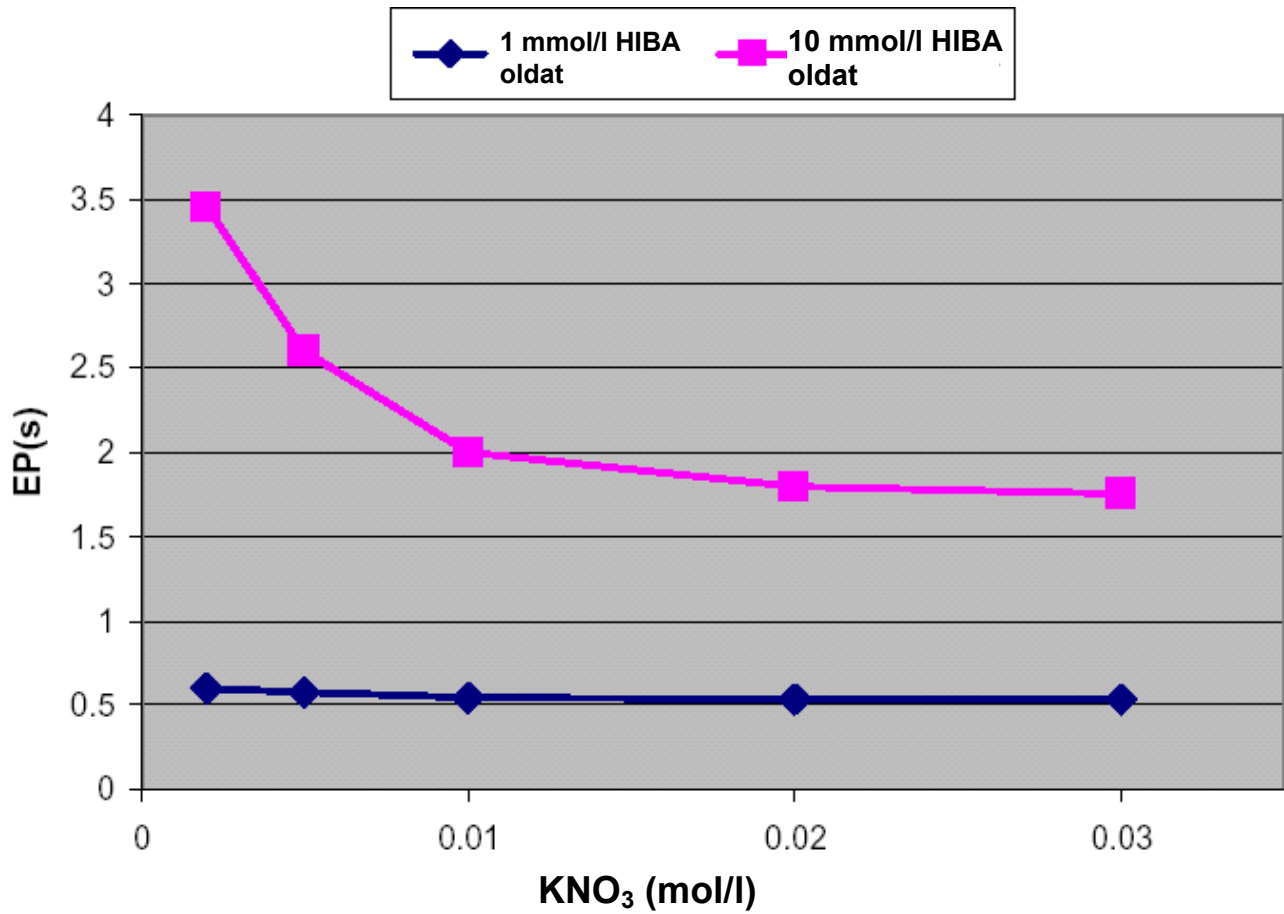
A **VILLÁM**-Video klipben a videomikroszkóp objektívje alulról felfelé, az üvegpháron át irányul az érzékelő alsó végére, és az oldatba merülő mikrocsipet és környékét kinagyítva mutatja. A világosabból sötétebb vörössé alakuló színnel jelzett “semlegesítési zóna” az áram megindulását követően néhány másodperc alatt szétterjed, és elborítja a közelében fekvő ISFET érzékelőt. Az áram kikapcsolása után – annak megfelelően, hogy az elektrokémiai úton előállított titrálószer és az oldat (világosabb vörössel jelzett) főtömege egymásba diffundálnak – a sötétvörös folt szertefoszlik.



5. ÁBRA A *VILLÁM*-titráló berendezés és a hozzá tartozó egységek



6. ÁBRA Az ionerősség hatása a végpont eléréséhez szükséges időtartamra

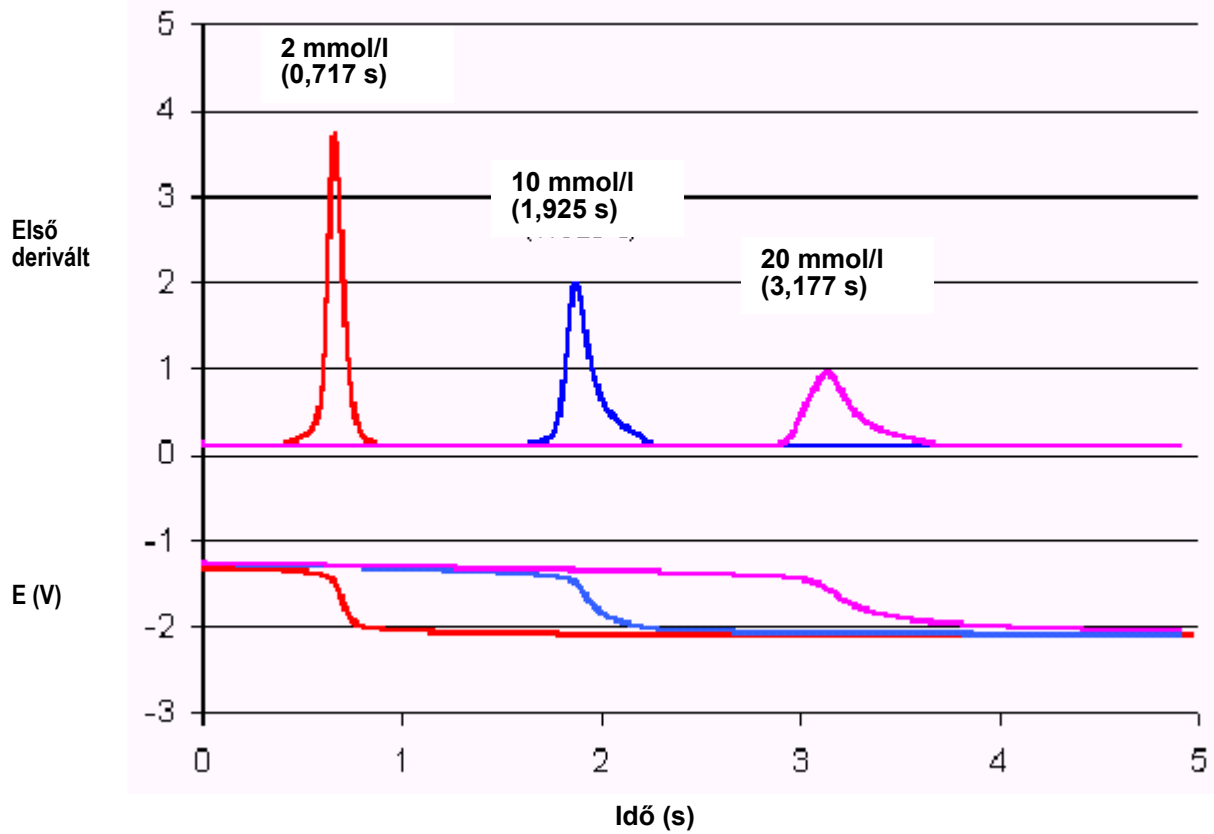


7. ÁBRA

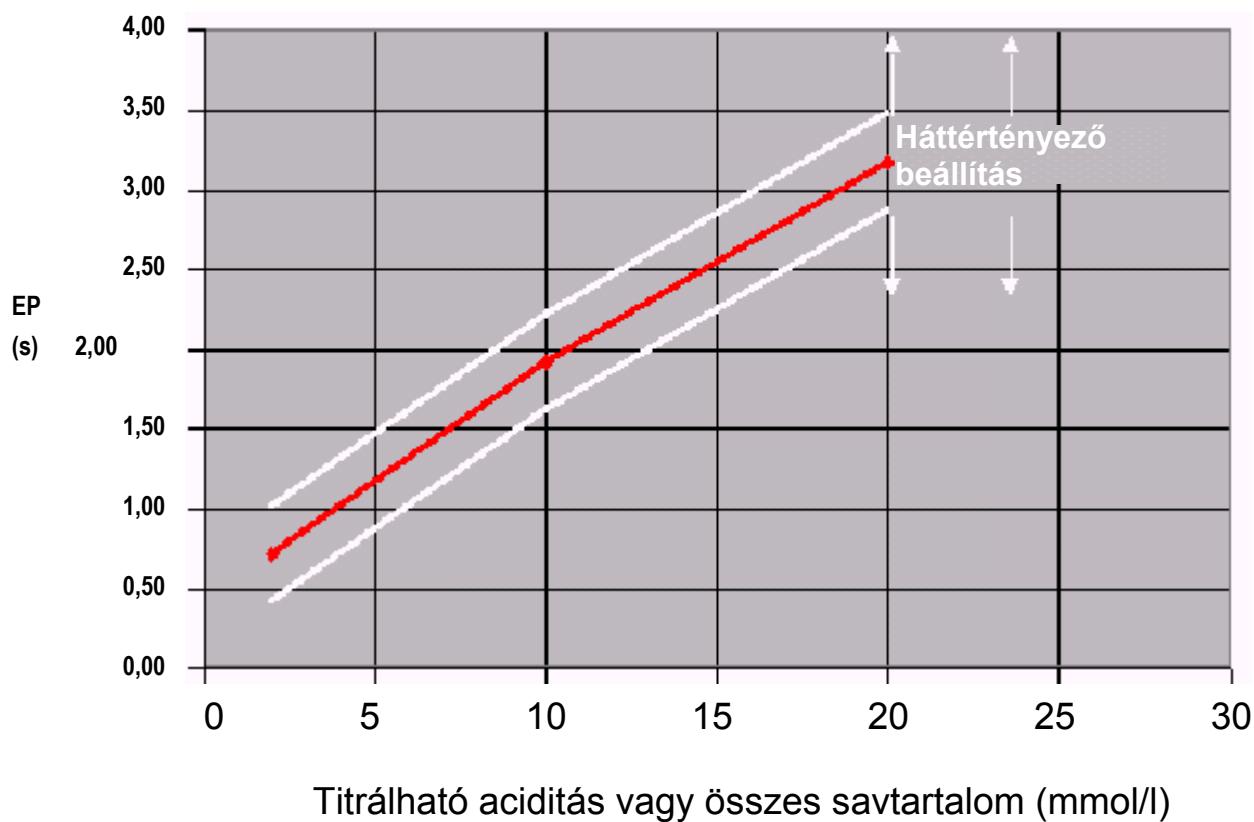
VILLÁM-titrálási görbék és azok első deriváltjai
2; 10 és 20 mmol/l koncentrációjú "HIBA"
oldatok esetén

A háttér elektrolit-koncentrációja: 1 mol/l KNO_3

Áramerősség: 20 μA

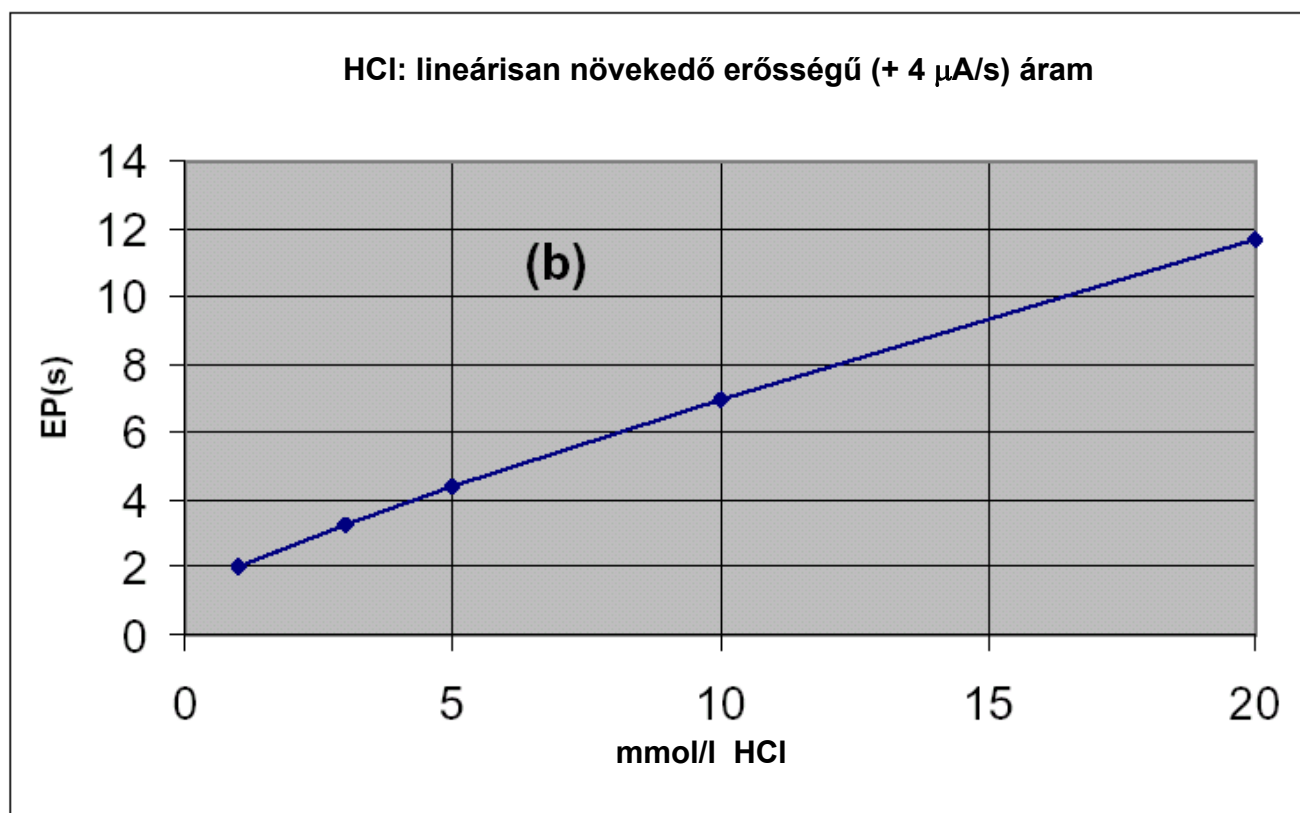
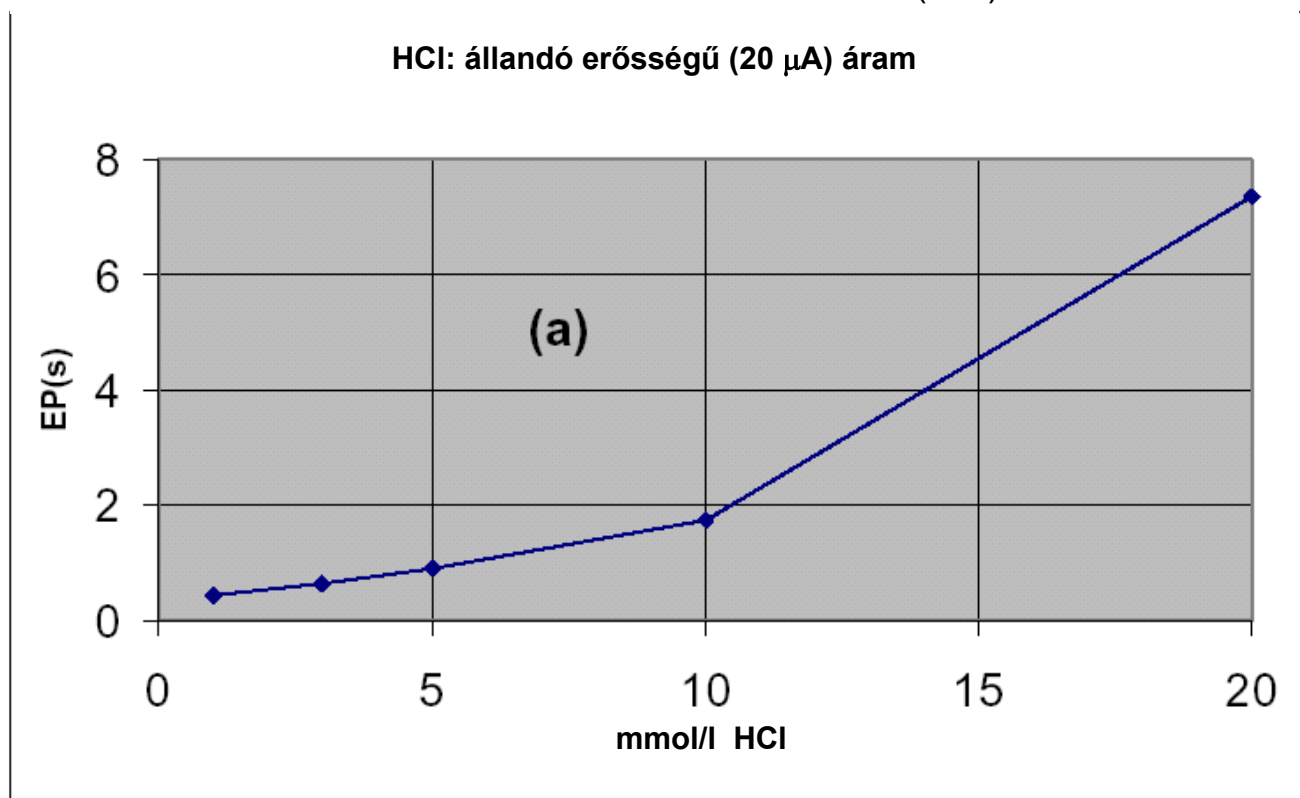


8. ÁBRA Illesztési függvény és a háttértényező beállítása



A háttértényező beállítása az illesztési függvény offset-jének módosítását jelenti

9. ÁBRA Állandó és lineárisan növekedő áram sósav (HCl) titrálása esetén



Függelék

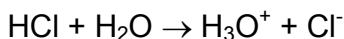
Mikor mérjük pH-t, és mikor titráljunk?

Gyakran hallunk ilyenfajta kérdéseket: “Miért van szükség a titrálásra?” “Miért nem jó az, ha közvetlenül mérjük a pH-t?” “Mi a különbség a pH és a savasság között?” Meglehetősen bonyolult kérdések ezek, a megválaszolásukhoz szükség van a savak és a bázisok fogalmkörének értelmezésére.

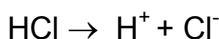
Erős és gyenge savak, bázisok

Az erős és a gyenge kifejezések nem csupán egyszerű melléknevek, amelyekkel a savakat és a bázisokat jellemezzük – segítségükkel ezeket az anyagokat két nagy csoportra oszthatjuk. Nézzük például a savakat!

A sósav (HCl) erős sav. Általánosabb megfogalmazással élve: a sósav oldatában teljes a disszociáció, a sósav teljes egészében “ionos” elektrolit, disszociációja a vízben a következő reakció szerint megy végbe:

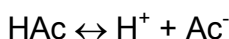


Ez a reakció teljes egészében lezajlik. Ha pl. 0,1 mol/l koncentrációjú sósavoldatunk van, akkor abban 0,1 mol/l koncentrációban vannak jelen a hidroxónium (H_3O^+) és ugyancsak 0,1 mol/l koncentrációban a klorid (Cl^-) ionok is. A szokásos rövidített írásmód elhagyja a vízmolekula feltüntetését, és eszerint azt írhatjuk, hogy:



Fogadjuk el ezt a rövidítést, és használjuk a H^+ jelölést a hidroxónium-ion jelölése helyett.

A HAc formulával jelölhető ecetsav gyenge sav, vagyis “rosszul disszociáló” elektrolit. A 0,1 mol/l koncentrációjú ecetsav oldat nagyrészt disszociálatlan, semleges HAc molekulákat tartalmaz, amelyek egyensúlyban vannak a jóval kisebb koncentrációban jelen lévő hidrogén- és acetát (Ac^-) ionokkal. A gyenge savnak minősülő HAc disszociációját a következőképpen írhatjuk fel:



Az a tény, hogy ez a reakció mennyire tolódik el a jobbra mutató nyíl irányába, vagyis hogy milyen mértékű a disszociáció, kifejezhető a következő összefüggéssel:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{Ac}^-]}{[\text{HAc}]}$$

A zárójeleken belüli szimbólumok az anyagfajták (hidrogén- és acetátionok, valamint disszociálatlan ecetsav molekulák) mol/l-ben kifejezett koncentráció³ értékeit jelentik. A K_a disszociációs állandó a gyenge savak mindegyikét egyedileg jellemző állandó, számértéke az ecetsav esetében kb. $10^{-4.7}$. Ennek tízes alapú negatív logaritmusá definíció szerint az

³Szigorúan véve az “aktivitás”-nak nevezett mennyiséggel kellene számolnunk. A legtöbb esetben azonban a koncentráció és az aktivitás jó közelítéssel azonosnak tekinthető.

úgynevezett pK_a , szokásos szóhasználattal “péká” vagy “péká-a” érték. Eszerint az ecetsav pK_a értéke ~ 4.7 .

K_a gyanánt a $10^{-4.7}$ számértéket használva kiszámíthatjuk mindhárom anyagfajta egyensúlyi koncentráció-értékét. Ha pl. 0.1 mol ecetsavat oldunk fel vízzel egy liter térfogatra, akkor a következő eredményeket kapjuk:

$$\begin{aligned} [H^+] &= 0,0014 \\ [Ac^-] &= 0,0014 \\ [HAc] &= 0,986 \end{aligned}$$

A 0,1 mol/l koncentrációjú ecetsav hozzávetőlegesen csak századrészét tartalmazza annak a hidrogénion-mennyiségnek, ami az erős savnak minősített sósav ugyancsak 0,1 mol/l koncentrációjú oldatában van jelen. Az ecetsav molekuláinak csaknem 99%-a disszociálatlanul marad ebben az ecetsavoldatban. Teljesen hasonló a helyzet az erős és a gyenge bázisok esetében is. Az erős bázisnak minősíthető nátrium-hidroxid 0,1 mol/l koncentrációjú vizes oldatában kb. százszor annyi hidroxidion van, mint a gyenge bázisként számontartott ammónia hasonló koncentrációjú oldatában. Mit jelent ez a pH-mérés és a sav/bázis titrálás szempontjából? Az alábbiakban, a [Savasság és pH](#) c. részben ezt a kérdést fogjuk megvizsgálni.

A Függelék 1. táblázata néhány közismert erős és gyenge savat és bázist sorol fel. Az erős savak és bázisok mellett nem szerepel pK_a érték: a teljes disszociáltság következtében ennek a fogalomnak nincs értelme. A többértékű savaknak és bázisoknak egynél több pK_a értéke van. Hasznos, ha az emlékezetünkbe véssük: az **1. táblázat** lényegében az összes ismert erős savat és bázist felsorolja. Nagyon kevés van belőlük! Másrészt viszont száz- és ezerszámra találkozhatunk gyenge savakkal és bázisokkal. Ha egy itt fel nem sorolt savról vagy bázisról tudni szeretnénk, hogy az erős-e, vagy gyenge, akkor csaknem bizonyosak lehetünk abban, hogy gyenge.

Függelék 1. táblázat

Erős savak	Gyenge savak	pKa érték(ek)
Sósav (HCl)	Hangyasav (CH ₂ O ₂)	3.75
Hidrogén-jodid (HI)	Ecetsav (C ₂ H ₄ O ₂)	4.76
Hidrogén-bromid (HBr)	Aszkorbinsav (C ₆ H ₈ O ₆)	4.10, 11.79
Salétromsav (HNO ₃)	Foszforsav (H ₃ PO ₄)	2.16, 7.21, 12.32
Kénsav (H ₂ SO ₄)	Citromsav (C ₆ H ₈ O ₇)	3.14, 4.77, 6.39
Perklórsav (HClO ₄)	Hidrogén-fluorid (HF)	3.20
Szelénsav (H ₂ SeO ₄)	Borkősav (C ₄ H ₆ O ₆)	2.98, 4.34
Tiociansav (HSCN)	Tejsav (C ₃ H ₆ O ₃)	3.08
	Szalcilsav (C ₇ H ₆ O ₃)	2.97, 13.40
	Almasav (C ₄ H ₆ O ₅)	3.4, 5.11

Erős bázisok	Gyenge bázisok	
Nátrium-hidroxid (NaOH)	Ammónia (NH ₃)	9.25
Kálium-hidroxid (KOH)	Borax (Na ₂ B ₄ O ₇)	9.27, >14
Lítium-hidroxid (LiOH)	Nátrium-hidrogén-karbonát (NaHCO ₃) Calcium Carbonate (CaCO ₃)	6.35, 10.33
	Hidrazin (N ₂ H ₄)	8.1
	Etanolamin (C ₂ H ₇ NO)	9.50
	Hisztamin (C ₅ H ₉ N ₃)	6.04, 9.75
	Magnézium-hidroxid Mg(OH) ₂	11.4

Savasság és pH

A savasság és a pH nem azonos fogalmak. Tekintsük először is a pH-t! A pH-érték a hidrogénion-aktivitás tízes alapú negatív logaritmus. Az aktivitás a legtöbb gyakorlati esetben a mol/l-ben kifejezett koncentrációval azonosnak tekinthető (lásd a lábjegyzetet). Ezek szerint:

$$pH = -\log [H^+]$$

Egy oldat pH-ját csaknem kizárólag pH-érzékeny üvegelektóddal mérik, bár az ISFET alapú érzékelők használata is kezd elterjedni. A savasság fogalma nem egyértelmű. Mondhatja ugyan valaki, hogy pl. az 1.0 pH-jú oldat savasabb, mint az, amelyiknek a pH-ja 3.0, de – amint azt az alábbiakban látni fogjuk – két ilyen oldat azonos mennyiségű bázist semlegesíthet. Az oldat összes savtartalma vagy titrálható aciditása (TA) az a mennyiség, amelyik a kétértelműség kizárásával alkalmas a bázisokat semlegesítő képesség jellemzésére. Ez a szakkifejezés az oldatban jelenlévő összes sav mennyiségét (koncentrációját) jelenti. A titrálható aciditás (TA) lényegében kizárólag titrálás útján határozható meg, vagyis annak meghatározásával, hogy milyen mennyiségű bázis (általában NaOH) szükséges a minta semlegesítéséhez, vagy egy megadott magas pH-érték beállításához.

Foglaljuk össze táblázatosan a sósavról és az ecetsavról szerzett ismereteinket!

Függelék 2. táblázat

A sav jellege	Példa	Koncentráció (mol/l)	Teljes (vagy titrálható) aciditás (TA) (mg/l CaCO ₃ -ban kifejezve)	Hozzávetőleges pH-érték
Gyenge	HAc	0.1	5000	3
Erős	HCl	0.1	5000	1

A **2. táblázat** alapján nyilvánvaló, hogy a pH és TA értékek a mintáról más-más információt szolgáltatnak. Itt van két oldat, tökéletesen azonos TA értékekkel, de a pH értékük 2 egységgel eltér egymástól. Ne feledjük, hogy a pH logaritmusos léptékben változik, tehát két egységnyi pH-különbség százszoros eltérést jelent a hidrogénion-koncentrációra vonatkozóan. Feltehetjük a kérdést: mikor kell tehát a pH-t használnunk, és mikor a titrálható aciditást vagy "bázicitást"? A **3. táblázat** felvázolja az egyik vagy a másik alkalmazás szükségességét.

Függelék 3. táblázat

pH-mérés szükséges, ha információt szeretnénk nyerni az alábbiakról:	Titrálás szükséges, ha információt szeretnénk nyerni az alábbiakról:
<ul style="list-style-type: none"> • Kémiai reakció sebessége • Korróziósebesség • Oldhatóság • Kémiai tulajdonságok • Mérgező hatás • Illat/szag • A titrálható aciditás vagy bázicitás hozzávetőleges értéke, ha a sav vagy a bázis minősége ismert 	<ul style="list-style-type: none"> • Mennyi sav vagy bázis szükséges a semlegesítéshez vagy egy adott pH érték beállításához • Pufferkapacitás — az oldat pH-jának stabilitása • Tömeg (súly) vagy koncentráció, és nem "aktivitás"

Gyakran van szükség a titrálható aciditás vagy bázicitás és a pH együttes ismeretére. Ennek legegyszerűbb, közismert példája a szennyvízelvezetés. A rendszabályok általában megkövetelik, hogy a környezetbe kiöntött szennyvíz pH-ja adott határok (pl. pH=5 és pH=9) közé essék. Nyilvánvaló, hogy ennek a követelménynek pH-mérés útján lehet eleget tenni. Ha azonban a mégly pontosan ismert pH-érték kívül esik a megengedett tartományon, akkor ennek alapján a kezelő személy még nem tudja meghatározni azt a sav- vagy bázismennyiséget, ami a szennyvíz pH-értékének a kívánt határok közé történő beállításához szükséges. Csak a titrálható aciditás vagy bázicitás (az összes sav- vagy bázistartalom) meghatározása adhatja meg az erre vonatkozó információt. Szükség van tehát mind pH-mérésre, mind pedig titrálásra.

Titrálható aciditás és bázicitás (összes savtartalom és bázistartalom): mértékegységek és azok átszámítása

A titrálható aciditás és bázicitás jellemzésére többféle mértékegység használatos. A legfontosabbakat a **4. táblázat**ban foglaltuk össze. Annak érdekében, hogy a mol/l-ben kifejezett molaritás és a "grammekvivalens per liter"-ben kifejezett normalitás közötti különbséget érzékeltessük, megadtuk mind a HCl-re, mind pedig a H₂SO₄-re vonatkozó adatokat. Néhány mértékegység speciális ipari szakterületen használatos, pl. a "% borkősav" a borászatban, a "g/l citromsav" az élelmiszeriparban. Az iparban és a környezetvédelemben dolgozó vegyészek gyakran használják a "kalcium-karbonát egyenérték"-nek nevezett mennyiséget.

A koncentráció értékek egyszerűen átszámíthatók az egyik mértékegységből a másikba. Pl. a normalitásban (N) megadott koncentráció a következő egyenlet szerint alakítható át vegyesszázalékká % (w/v; tömeg/térfogat) vagy ppm(w/v) értéké:

koncentráció vegyesszázalékban: $\% (w/v) = (\text{koncentráció N-ban}) * FW / 10$

koncentráció ppm-ben: $\text{ppm (w/v)} = (\text{koncentráció N-ban}) * FW * 1000$

ahol FW ("formula weight") annak a savnak vagy bázisnak a képlet szerinti egyenérték-tömegét jelenti, amelyike vonatkoztatva kívánjuk megadni az eredményt. (lásd: [Függelék 5. táblázat](#)). Ne feledjük, hogy az egyértékű savak (pl. HCl, HIBA, HOAC) és bázisok (NaOH, NH₄OH) esetében a normalitás (ekv/l vagy N) és a molaritás (mol/l) azonos.

A Thermo Orion a különböző standard oldatok elkészítéséhez négyféle alap-standard oldatot forgalmaz, ezek koncentráció értékeit az oldatok címkéje molaritásban (mol/l, a címkéken angolul: M) adja meg. A [6. táblázat](#) a más koncentráció-egységekre történő átszámítást tartalmazza.

FÜGGELÉK 4. táblázat Titrálható aciditás és bázicitás

	mol/l HCl	mol/l H ₂ SO ₄	mmol/l HCl	N	mekv/L	g/l CaCO ₃	ppm CaCO ₃	% borkósav	g/l citromsav
1.0 mol/l HCl =	1.00	0.500	1000	1.00	1000	50.0	50,000	7.50	64.1
1.0 mol/l H ₂ SO ₄ =	2.00	1.00	2000	2.00	2000	100	100,000	15.0	128
1.0 mmol/l HCl =	0.00100	0.000500	1.00	0.00100	1.00	0.0500	50.0	0.00750	0.0641
1.0 N =	1.00	0.500	1000	1.00	1000	50.0	50,000	7.50	64.1
1.0 mekv/l =	0.00100	0.000500	1.00	0.00100	1.00	0.0500	50.0	0.00750	0.0641
1.0 g/l CaCO ₃ =	0.0200	0.0100	20.0	0.0200	20.0	1.00	1,000	0.150	1.28
1.0 ppm CaCO ₃ =	0.000020 0	0.000010 0	0.0200	0.000020 0	0.0200	0.00100	1.00	0.000150	0.00128
1.0 % borkósav =	0.133	0.0667	133	0.133	133	6.67	6,667	1.00	8.54
1.0 g/l citrom- sav =	0.0156	0.00781	15.6	0.0156	15.6	0.781	781	0.117	1.00

Függelék 5. táblázat Néhány közismert sav és bázis képlet szerinti ("formula"-) egyenérték-tömege (FW) :

Anyag	FW
Ecetsav (HOAC)	60
Citromsav-monohidrát	70
Borkósav	75
Tejsav	90
Sósav (HCl)	36.5
Kénsav (H ₂ SO ₄)	49
Nátrium-hidrogén-karbonát (NaHCO ₃)	48
Kalcium-karbonát (CaCO ₃)	50
Nátrium-hidroxid (NaOH)	40

6. TÁBLÁZAT A Thermo Orion alap-standard oldatok koncentráció-egységeinek átszámítása

Az alap-standard oldat megnevezése	Thermo Orion katalógus-szám	Az anyag jellege	Molaritás (M)	Normalitás (N) (mekv/l)	Egyenérték más egységhez és más savhoz/bázishoz	Citromsav (vízmentes) (FW 64)	Citromsav (monohidrát) (FW 70)	Borkósav (FW 75)	CaCO ₃ (FW 50)	Ecetsav (FW 60)
HIBA Standard	092521	Gyenge sav	0.50	0.50	M	0.17	0.17	0.25	0.25	0.50
					N	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
					% (w/v)	3.2	3.5	3.75	2.5	3.0
					% (w/w)	3.18	3.48	3.73	2.48	2.98
					ppm(w/v)	32000	35000	37500	25000	30000
Ecetsav standard	092524	Gyenge sav	1.00	1.00	M	0.333	0.333	0.500	0.500	1.00
					N	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
					% (w/v)	6.40	7.00	7.50	5.00	6.00
					% (w/w)	6.35	6.94	7.44	4.96	5.95
					ppm(w/v)	64000	70000	75000	50000	60000
					ppm (w/w)	63492	69444	74405	49603	59524
Bikarbonát standard	092522	Gyenge bázis	1.00	1.00	M	–	–	–	0.500	–
					N				1.00	
					% (w/v)	–	–	–	5.00	–
					% (w/w)	–	–	–	4.73	–
					ppm(w/v)	–	–	–	50000	–
					ppm (w/w)	–	–	–	47317	–
Sósav (HCl) standard	092523	Erős sav	1.00	1.00	M	0.333	0.333	0.500	0.500	1.00
					N	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
					% (w/v)	6.4	7.0	7.5	5.0	6.0
					% (w/w)	6.27	6.86	7.35	4.90	5.88
					ppm(w/v)	64000	70000	75000	50000	60000
					ppm (w/w)	62745	68627	73529	49020	58824