

# Amperometriás titrálás végpontjának kiértékelése számítás útján, SH-csoportot tartalmazó vegyületek meghatározásánál

KEVEI JÁNOSNÉ ÉS BLAZOVICH MÁRTA

Központi Élelmiszeripari Kutatóintézet, Budapest.

Érkezett: 1964. február 15.

SH-csoportot tartalmazó vegyületek (pl. cisztein, glutation) meghatározására – model oldatokban, de növényi kivonatokban is – az irodalomban ismertetett számos módszer közül (1, 2, 3, 4, 5, 6) az ezüstnitrátos amperometriás titrálást találtuk legalkalmasabbnak.

Ez az eljárás az amperometriás titrálások ismert elve alapján egy könnyen polarizálódó, forgó platina elektród és a  $K_2(HgJ_4)$  vonatkozási elektród között folyó áramerősség változását méri az ezüstnitrátos titrálás alatt.

Ez a vonatkozási elektród telített kalomel elektróddal szemben mérve – 0,23 V feszültségű. Az elektród külső és belső üvegedényében a következő oldat található: 4,2 g káliumjodidot és 1,3 g merkurijodidot 100 ml tel. kaliumkloridban oldunk. Ezzel töltjük meg a belső üvegedényt, melynek alján 1–2 mm vastagságban higány van, s melybe rézdrót merül, ami az áramvezetést végzi az amperométerhez. Az edény oldalán nyílás van, melyen keresztül az az ugyan-csak előbb említett oldattal megtöltött külső üvegedény tartalmával érintkezik. Ez a külső üvegedény 4 mm-es belső átmérőjű 20–25 cm hosszúra kihúzott üvegcsőben végződik, melyet előzőleg 3% agar és 30% kaliumkloridból készült géllal töltöttünk meg. Ez az üvegcső merül a mérendő oldatba a forgó platina elektróddal együtt (1. ábra).

A titrálás elve a következő:



Amíg az oldatban szabad SH-csoportot tartalmazó vegyület van, az adagolt Ag-ionok oldhatatlan Ag-merkaptid alakjában megkötődnek és a rendszerben – az elektródok között – diffúziós áram gyakorlatilag nem halad keresztül. Tehát az ezüstnitrát oldat adagolásnál először nem tapasztalunk áramerősség változást. Ha azonban elérjük az ekvivalencia pontot, további ezüstnitrát oldat adagolással a rendszerben szabad Ag-ionok is kerülnek, melyek a diffúziós áram jelentős növekedését idézik elő. Az elektródok között ily módon észlelt áram erőssége arányos az oldatban feleslegben levő Ag-ionok koncentrációjával.

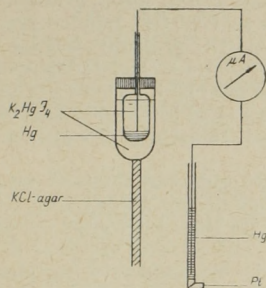
Az oldhatatlan, csak csekély mértékben disszociálódó Ag-S-R (ezüst-merkaptid) vegyület leválása csak alkoholos-ammóniás közegben folyik le tökéletesen. Ekkor ugyanis az esetleg jelenlevő klorid ionok zavaró hatása kiküszöbölődik.

A titrálásnál akkor a következő reakció játszódik le:



Az amperometriás SH-csoport meghatározást – irodalmi adatokra támaszkodva (1, 3, 4) – a következőképpen végeztük:

100 ml-es, alacsony főzőpohárba 1–5 ml  $10^{-3}$  m SH csoportot tartalmazó oldatot mérünk, s desztillált vízzel az oldat térfogatát 10 ml-re kiegészítjük. Ezután 25 ml hígított metanol oldatot (210 ml absz. metanolt 1000 ml-re hígítunk vízzel) és 1 ml ammóniás elektrolyt oldatot (30 g ammóniumnitrátot 125 ml cc. ammóniában oldunk és 100 ml vizet adunk hozzá) adagolunk bele. A poharat ezután mágneses keverőre állítjuk és a két elektródot a folyadékba mártva – a platina elektród és a mágneses keverő forgatása mellett –  $10^{-3}$  mólos  $AgNO_3$ -tal,



1. ábra

0,5 ml-ként megtitráljuk. A diffúziós áram intenzitásának növekedését fél  $\mu\text{A}$ -es skála beosztású – 25  $\mu\text{A}$  végkitérésű – amperméterrel mérjük. A  $10^{-3}$  m ezüst-nitrát oldatot pontosan beállított 0,1 m-es oldatból naponként frissen hígítjuk.

A titrálás megkezdése előtt a  $\mu\text{A}$ -mérőt 0-ra, vagy ha ez nem lehetséges, legalább a lehető legkisebb áramerősségre állítjuk vissza. Az ezüstnitrát adagolást 0,5 percenként végezzük és minden 0,5 ml adagolása után addig várunk a  $\mu\text{A}$ -ek leolvasásával, amíg a műszer mutatója nyugalmi helyzetbe nem kerül.

A titrálás elején, amikor még szabad SH-csoportot is tartalmaz az oldat, elméletileg nem szabadna áramerősség változásnak bekövetkeznie, az elektródok között, vagyis műszerünk növekvő kitérést nem mutathatna. Gyakorlatban azonban nem ez a helyzet; az áramerősség nem állandó érték még az ekvivalencia pont elérése előtt sem, hanem az igen csekély – összesen 1–2  $\mu\text{A}$  – emelkedést mutathat. Ilyenkor is van ugyanis minimális mennyiségű Ag-ion is az oldatban, mert az Ag-merkaptid csapadék leválása lassan megy végbe. Azonkívül, mivel a csapadék mennyisége a titrálás előrehaladásával egyre növekszik – rossz disszociációs foka ellenére is – ez is okozhat némi Ag-ion koncentráció növekedést az oldatban. Ha azonban a titrálás végpontját (ekvivalencia pontot) már túlhaladtuk, igen erős áramerősség növekedést észlelünk, ami néhány ml  $\text{AgNO}_3$  adagolás után eléri a 20–25  $\mu\text{A}$  áramerősséget a műszer tanúsága szerint.

A titrálás végpontjának meghatározása amperometriás titrálásoknál általában grafikus kiértékelés alapján történik, amikor is koordináta rendszerben a felhasznált  $\text{AgNO}_3$  ml-ek számát (az abszcisszára mérve) az észlelt áramerősségnek ( $\mu\text{A}$ -ben az ordinátára felvéve) függvényében rajzoljuk fel. A mérési pontokon két egyenest fektethetünk át, melyek metszéspontját az abszcisszára levetítve megkapjuk a titrálás valódi végpontját, vagyis az összes SH-csoportok leköltésére szükséges  $10^{-3}$  m  $\text{AgNO}_3$  ml-ek számát.

A titrálás standardizálására  $10^{-3}$  m töménységű krist. cisztein hidroklorid (vagy  $10^{-3}$  m glutation) mérőoldatot használunk, melyet minden nap frissen készítünk  $10^{-2}$  m töménységű oldatból. Még a töményebb –  $10^{-2}$  m-cisztein oldatot is csak 2–3 napig tarthatjuk el jégszekrényben, de a híg oldatot naponta kell frissen hígítani.

A  $10^{-3}$  m cisztein oldatból 1–5 ml-t a fenti módon megtitrálva és az SH-csoportok leköltéséhez szükséges  $10^{-3}$  m  $\text{AgNO}_3$  oldat valódi ml-értékeinek grafikus kiértékelése után, felrajzolhatjuk a fogyott  $\text{AgNO}_3$  ml-ek és a cisztein koncentráció ( $\mu\text{g/ml}$ , ill.  $\mu\text{mol/ml}$  cisztein) közötti kalibrációs egyenest.

A kalibrációs egyenes szerint 88–1050  $\mu\text{g/ml}$ , ill. 0,5–6,0  $\mu\text{mol/ml}$  ciszteinben kifejezett SH-koncentrációt mérhetünk a fenti körülmények között.

Az amperometriás titrálás előbb vazolt grafikus kiértékelése igen hosszadalmas és sokszor pontatlan is. Egyrészt minden egyes minta titrálási eredményét külön-külön kell mm-papírra felrajzolni, hogy a titrálás végpontját kiértékelhessük. Másrészt a titrálásánál a részleteredmények grafikus ábrázolása esetén különösen az ekvivalencia pont előtt és néha utána is a felrajzolt pontok nem esnek egy egyenesbe, tehát a helyes kiértékelés sokszor lehetetlen.

E hibák elkerülése és a titrálási végpont gyorsabb megállapítása a következő módon történhetik.

1. Azonos alapösszetételű oldatban (hígított metanol + elektrolit + víz, lásd 2 old.) megállapítjuk, hogy azonos áramerősség eléréséhez – jelen esetben a tetszőlegesen választott 20,0  $\mu\text{A}$  skála kitéréshez – hány ml  $10^{-3}$  m  $\text{AgNO}_3$  oldat szükséges (a).

2. Ezután a vizsgálandó SH csoportot tartalmazó oldat meghatározott (1 – 5 ml) mennyiségét titráljuk meg a szokásos módon és feljegyezzük azokat az ezüstnitrát ml számokat, melyek a kiindulási műszállástól számítva pontosan 20,0  $\mu\text{A}$  skálarész elmozdulást eredményeznek a mintáknál (b)\*. *E két érték különbsége (b – a) adja meg a minták összes SH-csoportjának leválasztásához szükséges  $10^{-3}$  m  $\text{AgNO}_3$  ml-ek számát, mely számot a titrálás grafikus kiértékelésénél csak a rajzból olvashattuk le. A kalibrációs görbét ciszteinre és glutationra is, mind a grafikus kiértékeléssel, mind a számítási módszerrel azonosnak találtuk.*

\* Ha titrálás előtt műszerünket nem tudjuk pontosan 0-ra állítani, csak pl. 0,5  $\mu\text{A}$  értékre, akkor a titrálást 0,5 + 20,0 = 20,5  $\mu\text{A}$  kitérésig végezzük.

3. Ha a fogyott ezüstnitrát ml-ek számát 0,83-mal (a kalibrációs egyenesből számított faktor) megszorozzuk, megkapjuk a titrálásra került minta térfogatában található SH-csoportok  $\mu\text{mol}$  ciszteinben kifejezett mennyiségét.

Ha ezt az értéket 1 ml vizsgálandó mintára akarjuk megadni, képletünk a következő lesz:

$$SH_{\mu\text{mol/ml}} = \frac{(b - a) \cdot 0,83}{V}$$

ahol

a az alapoldatban 20,0  $\mu\text{A}$  kitérését okozó  $10^{-3}$  m  $\text{AgNO}_3$  oldat mennyisége (ml)

b a vizsgálandó V térfogatú minta titrálásánál 20,0  $\mu\text{A}$  kitérését okozó  $10^{-3}$  m  $\text{AgNO}_3$  oldat mennyisége (ml)

V a vizsgált oldat mennyisége (ml).

Ha az SH-csoportok mennyiségét nem  $\mu\text{mol}$ -ban, hanem  $\mu\text{g}$ -ban akarjuk kifejezni, az előbbi képlet alapján kapott értékeket 175-tel kell beszorozni.

Hangsúlyoznunk kell azonban még egyszer, hogy ez a számítási kiértékelés csak az amperometriás titrálás olyan esetében lehetséges, ahol csak a reakcióban résztvevő ionok feleslege – jelen esetben az  $\text{Ag}^+$ -ionok – okoznak áramerősség növekedést.

Ez a számítási eljárás kiküszöböli a grafikus értékelés hosszadalmasságát és pontatlanságát, mert minden ezüstnitrát hígításnál – tehát minden vizsgálati napon – csak azt kell a tényleges mérések előtt megállapítanunk, hogy hány ml ezüstnitrát oldat szükséges a 20,0  $\mu\text{A}$  áramerősség növekedés eléréséhez műszerünkön. Ha még ciszteinre, vagy glutationra érvényes kalibrációs egyenessel is rendelkezünk, melyből a kalibrációs faktort

$$f = \frac{\mu\text{mol, ill. } \mu\text{g cisztein}}{\text{ml } 10^{-3} \text{ mAgNO}_3} = 0,83 \text{ (a mi vizsgálataink szerint)}$$

is megállapítottuk, akkor az SH-csoportok mennyiségének kiszámítása igen egyszerűen elvégezhető.

- [1] Heide, K.: Behringwerke Mitt. 30 97 (1956).  
 [2] Kiermeier, F. Hamed, M. G. E.: Nahrung 6. 637 (1962).  
 [3] Huttan, J. T., Patton, S.: J. Dairy Sci. 35. 699 (1952).  
 [4] Zweig G., Block, R. J.: Dairy Sci. 36. 427 (1953).  
 [5] Brenner, M. W. Jakab, G. Öwades, J. L.: J. Inst. Brewing 63. 408 (1957).  
 [6] Wronski, M.: Analyst 83. 314 (1958) Analyst 85. 526 (1960) Analyst 88. 562 (1963).

## РАСЧЕТНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЕЧНОЙ ТОЧКИ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРИРОВАНИЯ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ВЕЩЕСТВ С СОДЕРЖАНИЕМ ГРУПП Н

Я. Уевеи и М. Цлазович

Конечную точку титрования при амперометрическом  $\text{AgNO}_3$ -ом измерении веществ с содержанием групп SH можно установить расчетом вместо кропотливого графического определения. Определяем расход  $10^{-3}$  мл-а раствора  $\text{AgNO}_3$ -а в растворе с тождественным составом, необходимый для достижения тока 20,0 БА. (а). Другим титрованием определяем расход раствора  $\text{AgNO}_3$  в растворе с содержанием групп SH необходимый также для достижения тока 20,0  $\mu\text{A}$  (б). Разница (а-б) дает конечную точку амперометрического титрования без графического определения.

## AUSWERTUNG DES ENDPUNKTES DER AMPEROMETRISCHEN TITRATION DURCH BERECHNUNG, BEI BESTIMMUNG DER SH-GRUPPEN ENTHALTENDEN VERBINDUNGEN

J. Kevei und M. Blazovich

Bei der amperometrischen Messung vermittels Silbernitrat von SH-Gruppen enthaltenden Proben, kann der Endpunkt der Titration anstatt der langwierigen graphischen Auswertung auch berechnet werden. In einer Lösung von identischer Grundzusammensetzung messen wir denjenigen Verbrauch an  $10^{-3}$  ml  $\text{AgNO}_3$ , welcher zur Erreichung der beliebig gewählten 20,0 uA Stromstärke notwendig ist. (a) Hernach stellen wir vermittels einer anderen Titrierung fest wieviel ml Silbernitratlösung unserer, die SH-Gruppe enthaltender Probe zugefügt werden muss, um dieselbe Stromstärke, 20,0 uA zu erreichen. (b)

Die Differenz der beiden Werte (b-a) gibt bei dieser Titrationsmethode den Endpunkt der amperometrischen Titrierung ohne graphische Auswertung an.

## EVALUATION OF THE END POINT OF AMPEROMETRIC TITRATIONS IN THE DETERMINATION BY CALCULATION OF COMPOUNDS CONTAINING SH-GROUP

J. Kevei and M. Blazovich

In the amperometric titration of samples which contain SH-groups, the end point of the titration with silver nitrate can also be determined by calculation instead of the cumbersome graphic evaluation. In solutions of identical ground composition, first the consumption of  $10^{-3}$  ml of silver nitrate solution is established which is necessary to attain an arbitrarily chosen current density (20,0  $\mu\text{A}$ ) (a). Then it is established by a second titration how many ml of silver nitrate solution are required in the case of samples containing SH-groups for

attaining the same current density ( $b$ ). In this method of determination, the difference of both titration values ( $b - a$ ) indicates the end point of the amperometric titration without any graphical evaluation.

## ÉVALUATION PAR CALCUL DU POINT FINAL DE LA TITRATION AMPÉROMÉTRIQUE DANS L'ANALYSE DES COMPOSÉS COMPRENANT LA FONCTION SH

*J. Kevei et M. Blazovich*

Dans l'analyse ampérométrique avec de l'azotate d'argent des échantillons contenant la fonction SH l'on peut déterminer le point final de la titration aussi par le calcul au lieu de la longue évaluation graphique. L'en mesure dans une solution de base de la même composition la quantité de la solution de  $\text{AgNO}_3$  à  $10^{-3}$  ml employée pour obtenir une intensité du courant de 20 mA, valeur choisie arbitrairement ( $a$ ). Puis par une seconde titration l'on établit le nombre de ml de  $\text{AgNO}_3$  nécessaire pour obtenir dans notre échantillon renfermant la fonction SH la même intensité du courant de 20,0 mA ( $b$ ). La différence des deux valeurs donne la point final de la titration ampérométrique, sans évaluation graphique.