

WPROWADZENIE DO ANALIZY INSTRUMENTALNEJ

POTENCJOMETRIA

Metody potencjometryczne wykorzystują zależność między stężeniem (a ściślej aktywnością) oznaczanego jonu w roztworze i potencjałem elektrycznym odpowiedniej elektrody. Ponieważ potencjał elektrody względem roztworu nie jest dostępny bezpośrednim pomiarem, wykonuje się pomiar siły elektromotorycznej (SEM) ogniwa, którego jednym półogniwem jest **elektroda wskaźnikowa**, której potencjał jej zależy od stężenia oznaczanego jonu), a drugim – elektroda porównawcza, której potencjał ma wartość stałą. Obie elektrody są w kontakcie z badanym roztworem. Metody potencjometryczne polegają więc na pomiarze siły elektromotorycznej (SEM) ogniwa złożonego z dwu elektrod zanurzonych do badanego roztworu. Mierzona SEM zależy w określony sposób od stężenia w roztworze oznaczanego składnika. Za zmianę SEM odpowiedzialna jest jedna z elektrod, **elektroda wskaźnikowa**.

Metody potencjometryczne dzielą się na dwie grupy:

1. Metody bezpośrednie polegające na wyznaczeniu stężenia oznaczanego składnika na podstawie wartości SEM ogniwa, którego kalibracji dokonano za pomocą próbek wzorcowych. Należą tu pomiary pH roztworów oraz oznaczenia za pomocą elektrod jonoselektywnych.
2. Metody pośrednie czyli miareczkowe stosowane są do wyznaczania punktu końcowego miareczkowania – jest to tzw. miareczkowanie potencjometryczne. W miareczkowaniu tym wyznacza się zmiany SEM odpowiedniego ogniwa spowodowane dodawaniem mianowanego roztworu odczynnika miareczkującego.

Rodzaje elektrod

W pomiarach potencjometrycznych bardzo ważną rolę odgrywają elektrody, które ze względu na mechanizm działania można podzielić na cztery grupy:

1. *Elektrody pierwszego rodzaju*, czyli elektrody odwracalne w stosunku do kationu; są to elektrody składające się z metalu lub gazu w równowadze z roztworem zawierającym jony tego metalu.
2. *Elektrody drugiego rodzaju*, są to elektrody odwracalne w stosunku do anionu tworzącego z metalem elektrody trudno rozpuszczalny związek.
3. *Elektrody trzeciego rodzaju*, elektrody te tworzą metale w równowadze z roztworem nasyconym dwoma trudno rozpuszczalnymi elektrolitami o tym samym anionie. Kation jednego z elektrolitów jest kationem metalu elektrody, drugi kation znajduje się w roztworze w nadmiarze.
4. *Elektrody utleniająco-redukujące*, w elektrodach tych obojętny chemicznie metal (Pt, Au) jest zanurzony w roztworze zawierającym substancje zarówno w formie utlenionej, jak i zredukowanej.

Ponadto osobną grupę stanowią *elektrody jonoselektywne* (ISE) zwane *membranowymi*. Wspólną ich cechą jest to, że:

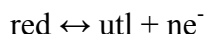
- elektrodowo czynną częścią elektrody jest membrana,
- różnica potencjałów na granicy faz membrana/roztwór spowodowana jest reakcją wymiany jonowej między jonami z roztworu a jonami z membrany.

Potencjał elektrod pierwszego rodzaju ustala się zgodnie z następującym rozumowaniem. Metal M zanurzony do roztworu jego soli wykazuje tendencję przechodzenia

do roztworu w postaci jonów M^{n+} . Tendencji tej przeciwstawia się dążenie jonów M^{n+} do wydzielania się z roztworu w postaci zredukowanej M . W rezultacie ustala się równowaga między metalem zanurzonym w roztworze zawierającym jony tego metalu a tymi jonami. Równowagę tę można zapisać równaniem:



lub w postaci ogólnej:



przy czym „red” oznacza postać zredukowaną, „utl” – postać utlenioną, n – liczbę elektronów biorących udział w reakcji.

Zjawiska zachodzące na granicy faz metal – roztwór są źródłem potencjału, którego wielkość określa równanie Nernsta:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{utl}]}{[\text{red}]} \quad (1)$$

w którym E^0 oznacza potencjał normalny elektrody, R – stałą gazową, T – temperaturę bezwzględną roztworu, n – liczbę elektronów biorących udział w reakcji, F – stałą Faradaya. (nawiasy kwadratowe oznaczają stężenia molowe).

Równanie (1) wyraża potencjał dowolnej elektrody. Jest to wielkość, której absolutnej wartości nie można ani zmierzyć, ani obliczyć teoretycznie. Można natomiast wyrazić liczbowo wielkość potencjału danej elektrody w stosunku do potencjału innej elektrody, mierząc siłę elektromotoryczną (SEM) ogniwa utworzonego z badanej elektrody i elektrody porównawczej. Za równy zero został przyjęty umownie potencjał normalnej elektrody wodorowej i w stosunku do niego wyznacza się potencjały innych elektrod.

Równanie (1) można przekształcić, wprowadzając liczbowe wartości stałych R , T i F oraz zastępując logarytm naturalny logarytmem dziesiętnym:

$$E = E^0 + \frac{0.059}{n} \log \frac{[\text{utl}]}{[\text{red}]} \quad (2)$$

Bardziej ściśle równanie, wyrażające potencjał elektrody, powinno zawierać aktywności zamiast stężeń. Gdy postacią zredukowaną jest metal elektrody, zgodnie z zasadą, że faza stała ma aktywność równą 1, uproszczony wzór Nernsta (2) przyjmie postać:

$$E = E^0 + \frac{0.059}{n} \log [M^{n+}] \quad (3)$$

Jest to przypadek elektrody pierwszego rodzaju.

Powstawanie potencjału na granicy elektroda – roztwór dla elektrod pierwszego, drugiego, trzeciego i czwartego rodzaju jest wynikiem reakcji redoksowych. Powstawanie potencjału na granicy elektroda – roztwór w elektrodach jonoselektywnych, jak już wspomniano, jest wynikiem wymiany jonowej pomiędzy membraną a roztworem.

Aparatura potencjometryczna

Aparatura do pomiarów potencjometrycznych składa się z dwóch zasadniczych części:

- dwóch elektrod (wskaźnikowej i porównawczej) zanurzonych w badanym roztworze, co stanowi ogniwo o określonym SEM,
- przyrządu pomiarowego siły elektromotorycznej ogniwa (SEM) (woltomierza o dużym oporze wejściowym lub zestawu do pomiaru SEM metodą kompensacyjną).

Pomiary potencjometryczne polegają na określeniu potencjału lub zmian potencjału elektrody wskaźnikowej, której potencjał zależy od stężenia oznaczanego jonu. Potencjał elektrody porównawczej jest stały w warunkach prowadzenia pomiaru.

Elektrody wskaźnikowe

Pod pojęciem elektrody wskaźnikowej rozumiemy takie półogniwo, którego potencjał zależy zgodnie z równaniem Nernsta od stężenia (ściślej aktywności) oznaczanego jonu. Jako elektrody wskaźnikowe mogą być użyte wszystkie wymienione już elektrody, a więc elektrody I, II, III rodzaju, elektrody utleniająco-redukujące oraz elektrody jonoselektywne (ISE).

Elektrody porównawcze

Dobra elektroda porównawcza powinna posiadać następujące właściwości:

- stałość potencjału na przestrzeni długiego czasu w warunkach pomiaru;
- odtwarzalność potencjału i brak histerezy temperaturowej;
- łatwość sporządzenia z materiałów i odczynników dostępnych w każdym laboratorium;
- mały opór elektryczny;
- odporność mechaniczną niezbędną przy częstym użyciu.

Jako elektroda porównawcza największe znaczenie teoretyczne ma **normalna elektroda wodorowa (NEW)**. Jest to blaszka platynowa pokryta czernią platynową, omywana wodorem pod ciśnieniem 760 mm Hg i zanurzona w roztworze kwasu solnego o aktywności równej 1: Pt, H₂ (760 mm Hg) H⁺ | (a_{H⁺}). Reakcje zachodzące na tej elektrodzie można przedstawić równaniem analogicznym do równania opisującego procesy zachodzące na elektrodach metalowych.

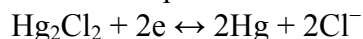


Nie jest ona jednak wygodna w użyciu i w praktyce stosuje się najczęściej **nasyconą elektrodę kalomelową (NEK) i chlorosrebrową**. Obie są elektrodami drugiego rodzaju.

Elektroda kalomelowa

Elektrodę kalomelową stanowi drut platynowy będący w kontakcie z rtęcią metaliczną pokrytą warstwą chlorku rtęci(I) Hg₂Cl₂ (kalomelu), zanurzoną w nasyconym roztworze chlorku potasu. Półogniwo takie można zapisać: Hg, Hg₂Cl_{2(s)} | nas. KCl.

Przemiany zachodzące na elektrodzie można przedstawić równaniem:



Elektroda chlorosrebrowa

Elektrodę chlorosrebrową stanowi drut srebrny pokryty warstewką chlorku srebra zanurzony w roztworze zawierającym jony Cl⁻, pochodzące z chlorku potasu lub kwasu solnego. Schemat takiego półogniwa można zapisać: Ag, AgCl_(s) | KCl.

Przemiany zachodzące na elektrodzie można przedstawić równaniem: Ag + Cl⁻ ↔ AgCl + e.

Elektrody jonoselektywne

Elektrodami jonoselektywnymi (ISE – Ion Selective Electrode) nazywa się elektrody, których potencjał zależy liniowo od logarytmu aktywności danego jonu w roztworze (w określonym przedziale stężeń). Zależność prostoliniowa utrzymuje się na ogół w zakresie kilku rzędów stężenia (3 – 4). Wspólną ich cechą jest to, że na ich potencjał ma wpływ nie tylko stężenie jonu oznaczanego, lecz także stężenia innych jonów. Elektrody te są zaopatrzone w membranę jonowymienną, która oddziela odpowiednie półogniwo od roztworu badanego. Na potencjał elektrody membranowej składa się potencjał międzyfazowy na granicy faz membrana-roztwór, uwarunkowany wymianą jonową między roztworem i membraną, oraz potencjał dyfuzyjny, wynikający z procesów zachodzących wewnątrz membrany, szczególnie w jej warstwie przylegającej do roztworu.

Elektrody jonoselektywne różnią się szczegółami konstrukcyjnymi, m.in. stanem skupienia fazy tworzącej membranę. Elektrody te dzielimy na:

- elektrody ze szklanymi membranami – elektrody szklane,
- elektrody ze stałymi membranami, (membrany homogeniczne – monokrystaliczne i heterogeniczne – polikrystaliczne),
- elektrody z membranami ciekłymi,
- elektrody z podwójnymi membranami – elektrody czułe na gazy i elektrody enzymatyczne.

Elektroda szklana

Elektroda szklana – jonoselektywna elektroda czuła na jony wodorowe, jest to półogniwo w którym membrana jest wykonana ze specjalnego gatunku szkła sodowego. Zwykle jest to wąska rurka szklana zakończona cienkościenną membraną w kształcie bańki. Wewnątrz znajduje się roztwór buforowy o dokładnie znanym pH, zawierający chlorki. W roztworze tym jest zanurzona porównawcza (wyprowadzająca) elektroda wewnętrzna o stałym potencjale, zwykle chlorosrebrowa, która posiada wyprowadzenie na zewnątrz. W przypadku elektrody szklanej różnica potencjałów między szkłem i roztworem stykającym się z nim, zależy od pH tego roztworu. Zależność ta daje się wyrazić wzorem słusznym dla odwracalnej elektrody wodorowej (równanie 4).

$$E = E_{sz}^0 + \frac{RT}{nF} \ln a_H \quad (4)$$

gdzie: E_{sz}^0 – potencjał normalny charakterystyczny dla danego rodzaju szkła.

Elektroda szklana zawiera dwie powierzchnie graniczne szkło – roztwór i gdyby E_{sz}^0 było jednakowe dla obu tych powierzchni, to różnica potencjałów między roztworami po obu stronach szklanej membrany zależna byłaby tylko od stosunku aktywności jonów wodorowych w tych roztworach.

$$E = \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{HI}}{a_{HII}} \quad (5)$$

Potencjał elektrody szklanej zależy jedynie od aktywności jonów wodorowych w roztworze, do którego elektroda została zanurzona. Zależność tę wyraża wzór analogiczny do wzoru (4), w którym E_{sz}^0 jest stałą zależną od rodzaju elektrody wewnętrznej i pH elektrolitu wewnętrznego. Jeżeli elektrodę szklaną zanurzyć do roztworu takiego jaki znajduje się wewnątrz elektrody i jako elektrodę porównawczą zastosować elektrodę taką samą jak we wnętrzu bańki, to SEM utworzonego ogniwa zgodnie ze wzorem (5) powinna równać się

zeru. Praktycznie okazuje się jednak, że występuje pewna niewielka SEM równa ± 2 mV. Wielkość ta jest nazwana potencjałem asymetrii, który spowodowany jest nieidentycznością powierzchni zewnętrznej i wewnętrznej szklanej membrany (E_{sz}^0 różne dla obu powierzchni). Potencjał asymetrii ulega zmianom w okresie eksploatacji elektrody i dlatego elektrodę szklaną należy kalibrować we wzorcowych roztworach buforowych o znanych wartościach pH, sporządzając krzywą kalibracyjną, która jest charakterystyką elektrody.

Wyznaczenie charakterystyki elektrody szklanej polega na ustaleniu dla niej zależności SEM od pH szeregu wzorcowych roztworów buforowych tj. **określeniu zakresu jej stosowności i nachylenia**. Jeżeli zależność ta przebiegałaby w myśl równania (4), to charakterystyka elektrody byłaby linią prostą w całym zakresie pH. Faktycznie dla najczęściej stosowanych elektrod prostoliniowość występuje w zakresie pH 1 – 9 a często do 12 pod warunkiem, że roztwór nie zawiera zbyt dużo soli metali alkalicznych. Odchylenie od prostoliniowości w roztworach silnie kwaśnych i silnie alkalicznych wynika z niesłuszności wzoru (4) w tych warunkach. Odstępstwa od tego wzoru związane są ze zmianą aktywności wody jako rozpuszczalnika w stężonych roztworach oraz z dochodzenia do głosu innych mechanizmów ustalania się różnicy potencjałów między szkłem i roztworem niż za pośrednictwem samych tylko jonów wodorowych.

Nachylenie charakterystyki elektrody określa zmianę potencjału danej elektrody spowodowaną dziesięciokrotną zmianą aktywności (stężenia) jonu na który czuła jest dana elektroda. Dla elektrody szklanej jest to zmiana jej potencjału na jednostkę pH [mV/pH]. Dla elektrod czułych na jony jednowartościowe teoretyczne nachylenie charakterystyki, tzw. nernstowskie nachylenie wynosi 59,15 mV na dekadę zmiany aktywności (stężenia) tych jonów w temperaturze 25⁰ C (298 K).

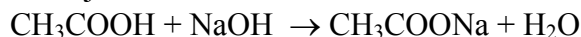
MIARECZKOWANIE POTENCJOMETRYCZNE

Miareczkowanie potencjometryczne polega na mierzeniu różnicy potencjałów między elektrodą wskaźnikową i elektrodą porównawczą po dodaniu każdej porcji odczynnika miareczkującego. Jest ono możliwe do wykonania wówczas, gdy dobierze się elektrodę wskaźnikową, która będzie reagowała na zmiany stężenia składnika oznaczanego lub odczynnika miareczkującego, zachodzące podczas miareczkowania. Dodawanie odczynnika miareczkującego powoduje zmiany stężenia składnika oznaczanego. Początkowo względne zmiany stężenia oznaczanych jonów są niewielkie i zmiany potencjału również są niewielkie. Natomiast w pobliżu punktu równoważności następuje skok potencjału. Krzywa miareczkowania, przedstawiająca zależność potencjału od objętości titranta, jest analogiczna do krzywej miareczkowania w alkacymetrii, redoksometrii i kompleksometrii. Różnica między miareczkowaniem prowadzonym metodą klasyczną i miareczkowaniem potencjometrycznym polega na wyznaczeniu punktu końcowego miareczkowania (PK). Miareczkowanie potencjometryczne jest sposobem detekcji punktu końcowego. W metodach wizualnych, każdy typ reakcji, a nawet każda analiza, wymagała zastosowania odpowiedniego wskaźnika. Miareczkowanie potencjometryczne ma bardziej ogólne zastosowanie, można je zastosować do oznaczania roztworów zabarwionych, mętnych oraz do oznaczania kilku składników obok siebie w jednym miareczkowaniu.

Oznaczanie procentowej zawartości CH₃COOH w handlowym occie metodą miareczkową, z wizualną i potencjometryczną detekcją PK

Oznaczenie procentowej zawartości kwasu octowego w occie handlowym wykonuje się alkalimetrycznie (titrantem jest NaOH) wyznaczając punkt końcowy wizualnie wobec fenoloftaleiny (miareczkowanie słabego kwasu mocną zasadą) oraz potencjometrycznie.

Oznaczenie opiera się na reakcji:



Na zadanie należy przygotować kolbę o pojemności 250 mL (ćwiczenie wykonuje się parami).

Miareczkowanie wizualne

Odczynniki: mianowany 0,1M NaOH;
fenoloftaleina.

Wykonanie:

Z otrzymanej próbki (rozcieńczonej uprzednio do 250 mL) roztworu pobrać skalibrowaną pipetą 3 porcje po 25 mL do kolb stożkowych, rozcieńczyć wodą destylowaną do ok. 50 mL, dodać kilka kropli wskaźnika – fenoloftaleiny i miareczkować mianowanym roztworem ok. 0,1 mol/L NaOH do jasno różowej barwy.

Zawartość kwasu obliczyć ze wzoru:

$$m_{\text{CH}_3\text{COOH}} = \frac{v \cdot c \cdot 60,053}{1000} \quad [\text{g}]$$

gdzie: v – objętość roztworu NaOH zużytego do miareczkowania [mL],
 c – stężenie roztworu NaOH [mol/L],
60,053 – masa molowa CH₃COOH [g/mol].

Z podanego wzoru oblicza się zawartość kwasu octowego [g] w objętości „ v_p ” mL próbki (objętość pipety o wyznaczonej objętości) pobranej do miareczkowania. Zawartość tę należy przeliczyć na 100 mL próbki i wynik podać w procentach wagowo-objętościowych (masa substancji na 100 mL roztworu).

Miareczkowanie potencjometryczne

Odczynniki: mianowany 0,1M NaOH;

Aparatura:

pH-metr, na przykład N-517 z odczytem cyfrowym lub N-512 – wychyleniowy;
elektroda szklana (elektroda wskaźnikowa) i nasycona elektroda kalomelowa (elektroda porównawcza), lub elektroda kombinowana (wskaźnikowa i porównawcza jako ogniwo zespolone);
mieszadło magnetyczne, mieszadło.

Wykonanie:

Miareczkowanie z potencjometryczną detekcją PK wykonać 3 razy w następujący sposób. Z otrzymanej próbki roztworu (tej samej, w której oznaczano kwas octowy metodą wizualną) pobrać pipetą (o sprawdzonej objętości) 25 mL roztworu do zlewki o pojemności 100 mL. Zanurzyć w roztworze elektrodę kombinowaną. Jest to ogniwo zespolone złożone z elektrody wskaźnikowej – szklanej (czulej na jony wodorowe) i elektrody porównawczej, elektrody chlorosrebrowej. Podłączyć elektrodę do odpowiedniego gniazda pH-metru. W tym przypadku pH-metr będzie stosowany jako miliwoltomierz. Elektrodę należy umocować w odpowiednim uchwycie i zanurzyć do roztworu tak aby klucz elektrody porównawczej był zanurzony. Zainstalować mieszadło magnetyczne, sprawdzić czy mieszający magnes nie uderza o elektrodę lub ściany zlewki. Nad zlewką ustawić biuretę z roztworem NaOH (mianowanym ok. 0,1 mol/L). Po włączeniu mieszadła magnetycznego dodawać po 0,5 mL roztworu NaOH, notując każdorazowo stan biurety i odpowiadające mu wskazania pH-metru w mV. W miareczkowaniu tym dodawać cały czas tj. od początku do zakończenia miareczkowania po 0,5 mL titranta. Miareczkowanie przerwać po znacznym przekroczeniu PK, tak aby uzyskać „pełny” przebieg krzywej miareczkowania. Drugie i trzecie miareczkowanie wykonać tak aby w zakresie skoku potencjału uzyskać na krzywej miareczkowania dokładniejsze „wypunktowanie”. Należy więc dodawać, tak jak w pierwszym miareczkowaniu po 0,5 ml NaOH, z chwilą kiedy 0,5 mL porcja roztworu NaOH wywoła większą różnicę potencjału, następne porcje zmniejszyć do 0,1 mL, po czym przy małych różnicach potencjału zwiększyć dodawane porcje titranta z powrotem do 0,5 mL. Miareczkowanie przerwać gdy kolejne porcje NaOH wywołują niewielkie różnice potencjału. Zakres objętości, w której należy zagęścić punkty na krzywej ustala się na podstawie pierwszego miareczkowania oraz konsultacji z asystentem Po zakończeniu miareczkowania elektrodę opłukać starannie wodą i osuszyć bibułą.

Wyniki pomiarów zestawić w tabelach zawierających kolumny z wartościami: v_{NaOH} [mL], SEM [mV], ΔSEM [mV], $\Delta\text{SEM}/\Delta v$ [mV/mL].

Z otrzymanych danych narysować wykresy zależności SEM[mV] – v [mL] oraz $\Delta\text{SEM}/\Delta v$ [mV/mL] – v [mL] (wykres pierwszej pochodnej) i z wykresów odczytać objętości NaOH odpowiadające PK miareczkowania. Wyznaczyć także objętości NaOH odpowiadające PK miareczkowania metodą rachunkową Hahna. Objętości wyznaczone trzema metodami z miareczkowania potencjometrycznego oraz z miareczkowania wobec fenoloftaleiny zestawić w tabeli 6 i dokonać interpretacji otrzymanych wyników.

Obliczyć %-ową zawartość kwasu octowego w otrzymanej próbce i porównać z wynikiem uzyskanym w miareczkowaniu wizualnym.

Tabela 6. Zestawienie otrzymanych wyników

Miareczkowanie potencjometryczne				miareczkowanie wobec fenoloftaleiny	
Metoda wyznaczenia v_{PK}	metoda graficzna stycznych v_{PK} [mL]	metoda graficzna I pochodnej v_{PK} [mL]	metoda Hahna v_{PK} [mL]	nr próbki	v_{PK} [mL]
Nr próbki					

1				1	
2				2	
3				3	

Zasada metody Hahna

Metoda Hahna jest jedną z najlepszych i najprostszych metod wyznaczania PK. Dodając w czasie miareczkowania stałe porcje titranta i notując odpowiadające im wartości potencjału oraz ich różnice ustala się największy przyrost potencjału, ΔE_{\max} oraz dwa kolejne co do wielkości przyrosty potencjału ΔE_1 i ΔE_2 , leżące po obu stronach ΔE_{\max} ($\Delta E_{\max} > \Delta E_1 > \Delta E_2$). Na podstawie tych wartości oblicza się poprawkę a [mL] określoną wzorem:

$$a = \Delta v \cdot q_a$$

w którym Δv oznacza objętość odczynnika dodawanego w jednej porcji ($\Delta v = \text{const}$),
 q_a – mnożnik obliczany ze wzoru:

$$q = \frac{\Delta E_2}{2\Delta E_1}$$

Poprawkę a należy dodać do liczby mililitrów v odpowiadającej ΔE_1 , jeżeli ΔE_1 znajduje się przed ΔE_{\max} , lub odjąć od v mililitrów odpowiadającej ΔE_{\max} , jeżeli ΔE_1 występuje po ΔE_{\max} .

Metodą Hahna można wyznaczyć PK miareczkowania z dobrą dokładnością, jeżeli wartości przyrostów, ΔE_{\max} , ΔE_1 , i ΔE_2 , spełniają następujące warunki:

$$Q = \frac{\Delta E_{\max}}{\Delta E_1} \geq 2.5 \quad \text{ i } \quad q = \frac{\Delta E_2}{2\Delta E_1} \geq 0.25 \quad (\text{najlepiej jak wynosi } 0.5)$$

Jeżeli warunki te nie są spełnione dla wartości odczytanych, można łączyć ze sobą wyniki odpowiadające kolejnym Δv , np. po dwa, lub trzy (a nawet więcej), tak aby otrzymać wartości ΔE_{\max} , ΔE_1 i ΔE_2 spełniające powyższe warunki. Wartość współczynnika q_a ma większe znaczenie niż wartość Q .

Zaletą metody Hahna jest to, że pozwala wyznaczyć dokładnie PK miareczkowania nawet przy zastosowaniu stosunkowo dużych porcji odczynnika, np. 0,5 mL.