

## WYZNACZANIE STAŁEJ DYSOCJACJI WSKAŹNIKA KWASOWO-ZASADOWEGO.

Jako wskaźniki kwasowo-zasadowe stosuje się zwykle rozpuszczalne w wodzie słabe kwasy organiczne o dużych cząsteczkach, zawierających ugrupowania absorbujące promieniowanie z zakresu widzialnego. W roztworze wodnym ustala się równowaga pomiędzy formą kwasową (HIn) i zasadową (In<sup>-</sup>) wskaźnika



Zakładając, że w roztworze rozcieńczonym aktywność wody jest równa jedności oraz, że aktywności pozostałych składników układu można zastąpić stężeniami, stałą równowagi wyrażamy jako

$$K = \frac{[H_3O^+][In^-]}{[HIn]}$$

Po obustronnym logarytmowaniu powyższe równanie przyjmuje postać

$$\log K = \log[H_3O^+] + \log[In^-] - \log[HIn]$$

Wiedząc, że

$$pH = -\log[H_3O^+]$$

oraz

$$pK = \log K$$

otrzymujemy po przekształceniach wyrażenie:

$$pH - pK = \log \frac{[In^-]}{[HIn]}$$

Z równania tego wynika, że gdy obie formy wskaźnika występują w równych ilościach, czyli:

$$[In^-] = [HIn]$$

to

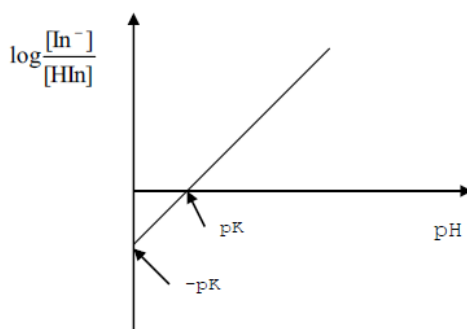
$$\log \frac{[In^-]}{[HIn]} = 0$$

i

$$pK = pH$$

Gdy wartość pH jest mniejsza od pK, wskaźnik występuje głównie w formie kwasowej i ma charakterystyczne dla tej formy zabarwienie. Gdy natomiast pH jest większe od pK, w roztworze przeważa forma zasadowa (o innym zabarwieniu). Końcowy punkt miareczkowania przy pomocy wskaźnika odpowiada wartości pH roztworu równej pK, przy której następuje wyraźna zmiana barwy roztworu.

Wykres zależności  $\log \frac{[In^-]}{[HIn]} = f(pH)$  jest rosnącą linią prostą o nachyleniu jednostkowym. Punkt przecięcia z osią rzędnych dla  $pH = 0$  odpowiada wartości  $-pK$  oraz punkt przecięcia z osią odciętych (oś pH) daje nam wartość pK wskaźnika (Rysunek 1).



Rysunek 1. Graficzny sposób wyznaczania pK dla wskaźnika.

W celu wyznaczenia stosunku stężeń formy kwasowej i zasadowej wskaźnika stosujemy metodę absorpcyjometryczną.

### Elektronowe widma absorpcyjne

Przejścia między stanami energetycznym w cząsteczkach mogą być związane z absorpcją lub emisją kwantów promieniowania o energii odpowiadającej różnicy między tymi poziomami. O intensywności danego pasma decydują tzw. reguły wyboru, które określają prawdopodobieństwo przejścia między dwoma stanami energetycznymi. Jeśli przejście jest bardzo mało prawdopodobne, mówimy, że jest ono wzbronione.

Prawdopodobieństwo przejścia jest tym większe im większe jest nakładanie się chmur elektronowych obrazujących rozkład ładunku w obu stanach. Wzbronione są przejścia między stanami o różnej multipletowości. Multipletowość stanu określa się jako  $2S + 1$ , gdzie  $S$  jest sumarycznym spinem. W związkach organicznych stan podstawowy jest z reguły stanem singletowym ( $S = 0$ ), toteż w widmach absorpcyjnych obserwujemy najczęściej przejścia singlet - singlet.

Energie potrzebne do zmiany rozkładu elektronów w cząsteczce wynoszą kilka elektronowoltów ( $1 \text{ eV} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ J} = 8065 \text{ cm}^{-1}$ ). Promieniowanie elektromagnetyczne charakteryzuje długość fali  $\lambda$  (wyrażana najczęściej w nm), częstość  $\nu$  (Hz) lub liczba falowa  $\tilde{\nu} = 1/\lambda$  (wyrażana zazwyczaj w  $\text{cm}^{-1}$ ). Pomiedzy długością fali a częstością istnieje relacja:

$$c = \nu\lambda$$

gdzie  $c$  jest prędkością rozchodzenia się światła w próżni.

Według teorii kwantowej wiązka promieniowania o częstości  $\nu$  stanowi strumień fotonów o energii, równej według Plancka

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = hc\tilde{\nu}$$

Gdzie:  $h$  jest stałą Plancka ( $h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$ ). W próżni fotony poruszają się z prędkością  $c$  ( $c = 2,998 \cdot 10^8 \text{ m/s}$ ).

Promieniowanie elektromagnetyczne, w zależności od energii dzieli się na: promieniowanie gamma, nadfioletowe, widzialne, podczerwone, mikrofalowe i radiowe.

Promieniowanie	Długość fali $\lambda$ [nm]
Roentgena i $\gamma$	< 3
Nadfiolet	3 – 300
Widzialne	300 – 800
▪ fioletowe	~ 420
▪ niebieskie	~ 470
▪ zielone	~ 530
▪ żółte	~ 580
▪ pomarańczowe	~ 620
▪ czerwone	~ 700

Podczerwień	1000 nm – 3 mm
Mikrofale	3 mm – 30 cm
Fale radiowe	> 30 cm

Barwa substancji zależy od zakresu promieniowania przez nią absorbowanego. Oko ludzkie reaguje na promieniowanie z zakresu widzialnego. Jeśli substancja absorbuje z wiązki światła białego światło niebieskie i czerwone, a nie absorbuje zielonego, to widzimy ją jako zabarwioną na zielono.

Zdolność do absorpcji promieniowania przez układ zależy od rodzaju substancji, długości drogi optycznej (grubości warstwy) i stężenia substancji. Zmiana natężenia promieniowania  $dI$  w wyniku przejścia absorpcyjnego przez warstwę roztworu o grubości  $dl$  i stężeniu  $c$  jest proporcjonalna do natężenia promieniowania padającego na tę warstwę, grubości warstwy i stężenia:

$$dI = -\kappa \cdot I \cdot c \cdot dl$$

gdzie:  $\kappa$  - jest współczynnikiem proporcjonalności (współczynnik absorpcji).

Równanie to można zapisać jako

$$\frac{dI}{I} = -\kappa \cdot c \cdot dl$$

Aby obliczyć natężenie promieniowania opuszczającego próbkę o grubości  $l$  musimy to wyrażenie scałkować, zakładając, że stężenie  $c$  jest jednakowe w całej próbce

$$\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = -\kappa \cdot c \cdot \int_0^l dl$$

Oznaczmy natężenie światła padającego na próbkę jako  $I_0$ . Po scałkowaniu równania otrzymamy wyrażenie zwane prawem Lamberta - Beera, zapisywane jako

$$\ln \frac{I}{I_0} = -\kappa \cdot c \cdot l$$

lub

$$\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

oraz

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon c l}$$

gdzie  $\varepsilon = \frac{\kappa}{2,303}$  to molowy współczynnik ekstynkcji, który zależy od rodzaju substancji, długości fali, a nie zależy natomiast od stężenia ani grubości warstwy,  $c$  - stężenie wyrażone w mol/dm<sup>3</sup>,  $l$  - grubość warstwy roztworu (kuwety) wyrażona w cm,  $I_0$  - natężenie promieniowania padającego,  $I$  - natężenie promieniowania opuszczającego próbkę (przechodzącego).

Wielkość  $\log \frac{I}{I_0}$  nosi nazwę absorbancji, ( $A$ ), natomiast stosunek natężenia promieniowania opuszczającego próbkę do natężenia padającego nosi nazwę transmitancji ( $T$ ); najczęściej transmitancję podaje się w procentach.

$$A = \log \frac{I}{I_0} = \varepsilon c l$$

Widmo absorpcyjne związku jest wykresem zależności absorbancji (molowego współczynnika ekstynkcji) lub transmitancji od długości fali (częstości lub liczby falowej).

Wiązka promieniowania padająca na kuwetę napełnioną roztworem ulega osłabieniu nie tylko na skutek absorpcji promieniowania, lecz także z powodu odbicia i rozproszenia na powierzchniach oddzielających poszczególne fazy (gaz szkło, szkło ciecz) i na cząstkach zawieszin. Prowadząc pomiary absorbancji dąży się do eliminacji lub standaryzacji strat wywołanych przez odbicie i rozproszenie. Można tego dokonać mierząc natężenie wiązki promieniowania przechodzącego na przemian przez kuwetę z badanym roztworem i kuwetę z odnośnikiem, którym jest zwykle użyty do przygotowania roztworu rozpuszczalnik.

Absorbancja jest wielkością addytywną, to znaczy, że jeśli można zaniedbać oddziaływania między składnikami układu, to absorbancja układu jest sumą absorbancji poszczególnych składników:

$$A = l \sum_i c_i \varepsilon_i$$

Absorbencję fotonu można często przypisać wzbudzeniu elektronów o małych energiach wzbudzenia, zlokalizowanych w obrębie niewielkiej grupy atomów. Grupy takie nazywane są

chromoforami. Zwykle zawierają one wiązania podwójne, na przykład C=C, N=N, =C=O, -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. Inne grupy, tzw. auksochromy, wzmacniają działanie chromoforów. Do auksochromów zalicza się batochromy (-NH<sub>2</sub>, -NR<sub>2</sub>, -OH, -OR) przesuujące maksimum absorpcji w stronę fal dłuższych oraz hipsochromy (CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sup>-</sup>) przesuujące maksimum absorpcji w stronę fal krótszych.

Na skutek dysocjacji wskaźnika kwasowo-zasadowego, jakim jest błękit bromotymolowy, w zależności od pH roztworu możemy spotkać formę kwasową lub zasadową, bądź też obie formy równocześnie. Na ogół widma absorpcyjne formy kwasowej i zasadowej są różne.

Dla pH = 1 wskaźnik, którego całkowite stężenie wynosi  $c_0$  występować będzie w formie kwasowej i absorbanca tego roztworu będzie równa

$$A_1 = \varepsilon_k c_0 l$$

gdzie  $\varepsilon_k$  jest molowym współczynnikiem ekstynkcji formy kwasowej (HIn).

Dla pH = 13 wskaźnik występuje w formie zasadowej i absorbanca roztworu można zapisać jako

$$A_{13} = \varepsilon_z c_0 l$$

gdzie  $\varepsilon_z$  jest molowym współczynnikiem ekstynkcji formy zasadowej (In<sup>-</sup>).

W roztworze o pośrednich wartościach pH (pH = x) współistnieć będą obie formy i absorbanca wyrażymy jako

$$A_x = \varepsilon_k c_k l + \varepsilon_z c_z l$$

gdzie:  $c_k$  jest stężeniem formy kwasowej, a  $c_z$  stężeniem formy zasadowej. Suma tych stężeń jest równa stężeniu całkowitemu:

$$c_0 = c_k + c_z$$

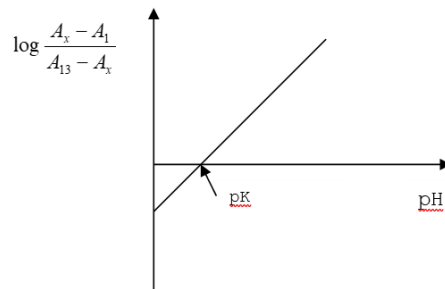
Na podstawie podanego wyżej układu czterech równań można wyznaczyć stosunek  $\frac{c_z}{c_k}$ , który dany jest wzorem

$$\frac{c_z}{c_k} = \frac{A_x - A_1}{A_{13} - A_x}$$

Widma absorpcyjne błękitu bromotymolowego zarejestrowane dla roztworów o różnych wartościach pH przecinają się w jednym punkcie, zwanym punktem izoabsorpcyjnym. Punkt izoabsorpcyjny jest charakterystyczny dla układu zawierającego dwie formy o różnych chromoforach, przy czym formy te mogą przechodzić jedna w drugą, zaś ich sumaryczna ilość pozostaje stała.

Biorąc pod uwagę równania powyższe równości możemy stwierdzić, że wykres zależności  $\log \frac{A_x - A_1}{A_{13} - A_x} = f(pH)$  roztworu powinien być linią prostą o nachyleniu jednostkowym, a punkt przecięcia wykresu z osią pH odpowiada wartości pK:

$$\log \frac{A_x - A_1}{A_{13} - A_x} = -pK + pH$$



Rysunek 2. Graficzny sposób wyznaczania pK wskaźnika z pomiarów absorbancji roztworów o różnym pH.